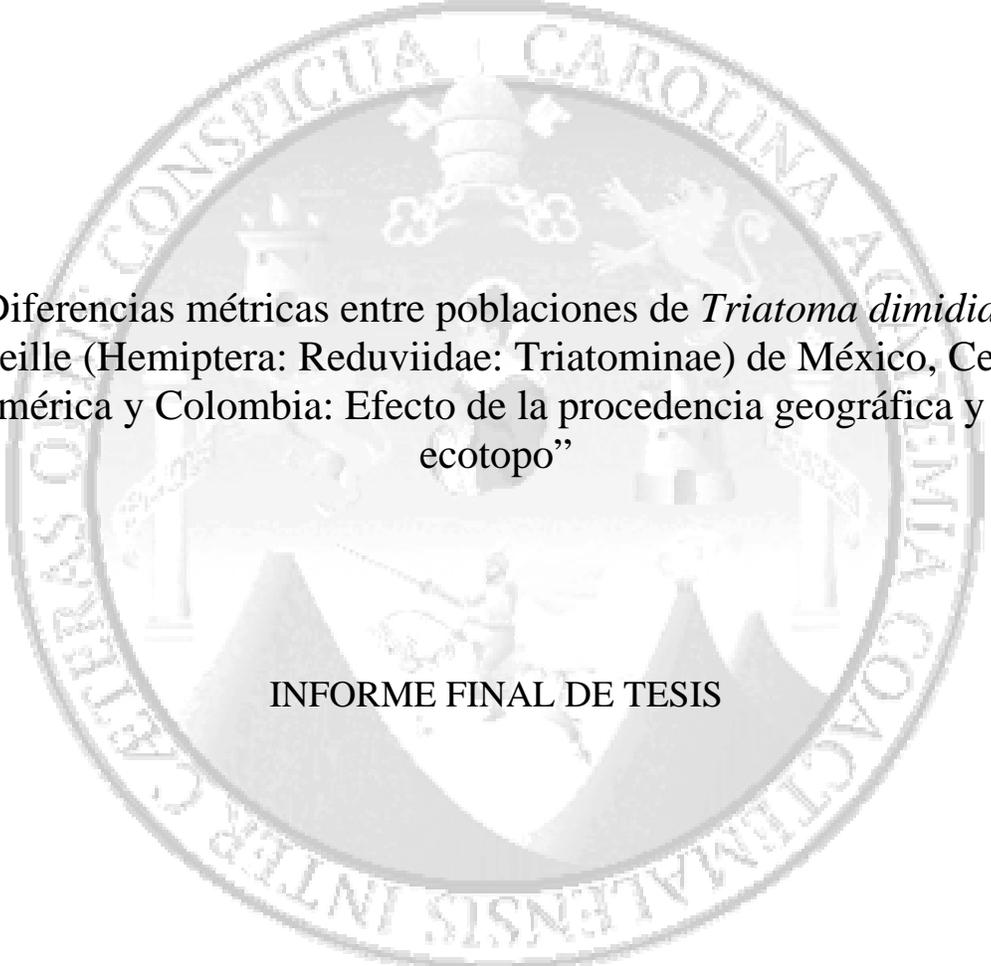


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



“Diferencias métricas entre poblaciones de *Triatoma dimidiata*
Latreille (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) de México, Centro
América y Colombia: Efecto de la procedencia geográfica y el
ecotopo”

INFORME FINAL DE TESIS

PRESENTADO POR
MARIANELA MENES MENES HERNÁNDEZ

ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE
BIOLOGIA

GUATEMALA, NOVIEMBRE DEL 2004

INDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	4
3. ANTECEDENTES	
3.1 La Enfermedad de Chagas	5
3.2 Vectores	6
3.3 El <i>Triatoma dimidiata</i> (Latreille)	8
3.3.1 Clasificación	8
3.3.2 Morfología	9
3.3.3 Distribución Geográfica	9
3.3.4 Biología, Importancia Epidemiológica y Retos de Control	10
3.4 Morfometría	12
3.4.1 Aplicaciones en Entomología	13
3.4.2 Morfometría Tradicional	14
3.4.2.1 Consideraciones sobre el crecimiento, su representación y remoción en los estudios de Morfometría Tradicional	15
3.4.2.1.1 Crecimiento Alométrico	16
3.4.2.1.2 Crecimiento Isométrico	16
3.4.2.2 Cuantificación del Tamaño y su importancia en estudios morfométricos	17
3.4.2.3 Tipos de Análisis en Morfometría Tradicional	18
3.4.2.3.1 Variables libres de alometría	18
3.4.2.3.2 Variables libres de isometría	20
3.4.3 La Morfometría en el estudio de variación intraespecífica: Poblaciones Geográficas y Ecológicas	20
3.4.4 Morfometría Aplicada a Triatomos	22
3.5 Asimetría	23
3.5.1 Tipos de Asimetría	24
3.5.2 Estudios de Asimetría Aplicados a Triatomos	35

4. JUSTIFICACIÓN	27
5. OBJETIVOS	29
5.1 General	29
5.2 Específicos	29
6. HIPÓTESIS	30
7. MATERIALES Y MÉTODOS	31
7.1 Definición operacional de las variables	31
7.2 Tipo de estudio y diseño general	31
7.3 Universo de estudio, selección y tamaño de muestra	31
7.4 Preparación de material	33
7.5 Datos Morfométricos	33
7.6 Plan de Análisis de los resultados de Morfometría Tradicional	34
7.7 Plan de Análisis de los resultados de Asimetría	37
7.8 Presentación de Resultados	39
7.9 Programas de computadora	39
8. RESULTADOS	40
8.1 Morfometría Tradicional	40
8.1.1. Análisis Libres de Isometría	40
8.1.2. Análisis Libres de Alometría	52
8.2 Asimetrías Morfométricas	58
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	64
9.1 Selección de las poblaciones estudiadas	64
9.2 Morfometría Tradicional	64
9.2.1 Análisis Libres se Isometría	65
9.2.2 Análisis Libres de Alometría	69
9.2 Asimetrías Morfométricas	71
10. CONCLUSIONES	75
11. RECOMENDACIONES	77
12. REFERENCIAS	78

13. ANEXOS	87
13.1 Glosario	87
13.2 Análisis Multivariados	90
13.3 Índices de asimetría Fluctuante y Estadísticos de los análisis de las Asimetrías en 36 caracteres alares de Hembras y machos de <i>Triatoma dimidita</i> .	91

1. RESUMEN

El objetivo del trabajo fue estudiar la variación métrica intraespecie de 14 poblaciones, domésticas y silvestres, de *Triatoma dimidiata* de México, Centro América y Colombia; utilizando técnicas morfométricas que permitieran analizar la influencia de la procedencia geográfica y el ecotopo, así como la estabilidad del desarrollo de las alas como un medio de analizar la capacidad de dispersión de los individuos. El trabajo fue realizado con el fin de ampliar los conocimientos sobre la biología de esta especie y contribuir de esta manera con las actuales campañas de control que se están llevando a cabo en la región Mesoamericana y especialmente en Centro América, en la que es el principal vector en 4 de los países que la conforman.

Para analizar la influencia de la procedencia geográfica y el ecotopo, se utilizaron caracteres métricos de la cabeza de insectos provenientes de 4 poblaciones silvestres (cuevas, selva y volcán) y 8 poblaciones domésticas, utilizándose un total de 225 hembras y 324 machos colectados en 6 países. La técnica utilizada fue la Morfometría Tradicional, aplicándose análisis libres de isometría y libres de alometría. En el caso de los primeros, estos mostraron una clara diferenciación métrica, tanto en hembras como en machos, del grupo silvestre de Lanquín, Guatemala y el doméstico de Boyacá, Colombia, con respecto a las demás poblaciones de *Triatoma dimidiata* estudiadas. Ambas poblaciones comparten el mismo tipo de hábitat (Lanquín vive en cuevas y Boyacá, de acuerdo a observaciones de Néstor Pinto, posiblemente proviene de cuevas cercanas a las viviendas o al menos son muy similares genéticamente a las poblaciones de cuevas cercanas).

Las poblaciones silvestres provenientes de la península de Yucatán, Yucatán y Yaxjá, así como la población doméstica de Tuxpan, México; mostraron una tendencia a separarse del grupo de poblaciones centroamericanas que incluye la población silvestre de Nindiri, Nicaragua. Al realizar análisis más específicos utilizando únicamente poblaciones domésticas, la población de Tuxpan se separó claramente de las poblaciones centroamericanas, demostrando una importante influencia de la procedencia geográfica en la forma de las cabezas de los insectos. Todos los análisis realizados presentaron valores estadísticos significativos (Wilk's Lambda cercanos a cero, valores de $p=0.00 \leq 0.05$).

Los resultados libres de alometría para las hembras mostraron resultados similares a los obtenidos en los análisis libres de isometría, sin embargo estos no fueron reproducibles en los

machos, ya que únicamente las poblaciones silvestres de éstos siguieron el modelo de crecimiento común necesario ($p \geq 0.05$).

Para el estudio de la estabilidad del desarrollo, se trabajó con las alas (hemelitra) de los insectos, pero en este caso no se contó con material de Yoro, Honduras y Boyacá, Colombia, por lo que se trabajó con las 12 poblaciones restantes. En este caso la técnica utilizada fue el estudio de la Simetría alar o Asimetrías Morfométricas, para esto era necesario tomar en cuenta el error de medición de las muestras, por lo que fue necesario realizar al menos dos mediciones a cada ala y tres en los casos en que los números de muestra de la población fueran menores de 15 individuos. Se ingresaron un total de 1,610 imágenes que correspondieron a 149 hembras y 190 machos.

Los resultados mostraron que en general para la especie, los machos presentaban un mayor número de caracteres simétricos que las hembras (51 y 42 respectivamente), indicando que estos son más móviles; la antisimetría fue la menos importante, estando presente únicamente en dos caracteres de la población de machos de Jutiapa, Guatemala; La Asimetría Direccional estuvo presente en una cantidad parecida en ambos sexos (54 en hembras y 57 en machos); y la asimetría Fluctuante fue la más importante, estando presente en todas las poblaciones estudiadas.

Las pruebas no paramétricas utilizadas para estudiar si había diferencias significativas entre los índices de Asimetría Fluctuante entre machos y hembras dentro de los grupos, mostraron que 27 de las 36 variables utilizadas eran diferentes ($\text{significancia} \leq 0.05$) y que en los 36 casos, los machos presentaron un mayor número de poblaciones con índices de Asimetría Fluctuante mayores que en las hembras. En las comparaciones entre ecotopos silvestre-doméstico, únicamente 2 caracteres fueron diferentes en hembras y 1 en machos, sin embargo, en ambos casos las poblaciones silvestres mostraron una tendencia a presentar valores de índices mayores que las domésticas.

Las poblaciones de Quiché y Tuxpan, presentaron la mayor cantidad de caracteres simétricos en machos (15 y 13 respectivamente), lo cual debe ser tomado en cuenta para el planteamiento de estrategias de control en estos lugares.

En el trabajo se concluyó que, las poblaciones de Lanquín y Boyacá, por presentar marcadas diferencias con respecto a los demás grupos de la especie, y por compartir características y adaptaciones propias del hábitat de donde provienen (cuevas) podrían encontrarse ya, en un avanzado proceso de especiación, que las estaría guiando a una evolución convergente. Se concluyó

que la procedencia geográfica tiene una mayor importancia que el hábitat en la forma de las cabezas de esta especie.

Por otro lado, se concluyó que en los machos por presentar un mayor número de caracteres simétricos, este podría utilizarse como un indicador de movilidad; y que debe darse seguimiento a las poblaciones de Quiché y Tuxpan, por presentar un alto número de caracteres simétricos.

2. INTRODUCCIÓN

La Enfermedad de Chagas es una enfermedad parasitaria crónica causada por un protozoo flagelado, el *Trypanosoma cruzi*. Esta enfermedad ataca a gran parte de la población rural de los países Latinoamericanos, mayoritariamente se transmite al ser humano a través de insectos hematófagos, los triatomíneos de la familia Reduviidae. Por su amplia distribución geográfica y las numerosas personas que corren el riesgo de ser infectadas, esta Enfermedad puede considerarse como una de las más importantes de las enfermedades tropicales. En 1991, la OMS estimó que de un total de 360 millones de personas que habitan los países endémicos, al menos 90 millones (25% de la población) están expuestas al riesgo de infección y 16-18 millones están infectados.

Dentro de los triatominos, las especies de mayor importancia epidemiológica son las que colonizan fácilmente las viviendas de los humanos, habitando las grietas y hendiduras de las paredes o los techos de material vegetal en las casas rurales. Tres especies son reconocidas por su importancia vectorial en América Central: *Rhodnius prolixus*, *Rhodnius pallescens* y *Triatoma dimidiata*, esta última está muy dispersa a lo largo de América Central y es una especie nativa de la región. *T. dimidiata* es considerado como el principal vector en Guatemala, El Salvador, Nicaragua y Costa Rica. En esta región, la abundancia y diversidad de poblaciones de *Triatoma dimidiata* representa el mayor reto para el control vectorial, sin embargo la presencia de poblaciones selváticas puede representar uno de los mayores obstáculos para el control de la especie.

Datos disponibles, parecen sugerir que *Triatoma dimidiata* puede representar una serie de sub-poblaciones relativamente aisladas, con un pequeño flujo de genes entre ellas. De ser esto verificado, podría ser posible alcanzar altos niveles de control en localidades específicas y realizar monitoreos, por medio de marcadores genéticos y fenéticos apropiados, del origen de potenciales reinfestaciones. Es por esto, que se considera como una prioridad urgente el estudio de la estructura genética de poblaciones de *Triatoma dimidiata* (Schofield, 2000).

En el presente trabajo se aplicaron técnicas de morfometría tradicional para estudiar el efecto de la procedencia geográfica y el ecotopo en las poblaciones de *Triatoma dimidiata* de México, Centro América y Colombia, así como asimetrías morfométricas con el fin de estudiar la estabilidad del desarrollo y la capacidad de movimiento de la especie y contribuir con información para el planteamiento de estrategias de control.

3. ANTECEDENTES

3.1 La Enfermedad de Chagas

La Enfermedad de Chagas, o Tripanosomiasis americana, es una enfermedad parasitaria crónica causada por un protozoo flagelado, el *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*, el cual puede afectar diversos órganos y llegar a ser mortal. Esta enfermedad ataca a gran parte de la población rural de los países Latinoamericanos. El parásito, normal y mayoritariamente, se transmite al ser humano a través de insectos, hematófagos, triatomíneos de la familia Reduviidae (80% de la transmisión total del parásito), aunque también puede transmitirse por transfusiones sanguíneas, congénitamente, oralmente ó por trasplante de órganos. (OMS, 1991; Guhl, 2000; Schofield, 1994)

Por su amplia distribución geográfica y las numerosas personas que corren el riesgo de ser infectadas, la Enfermedad de Chagas puede considerarse como una de las más importantes de las enfermedades tropicales (WHO, 1990, 1991; World Bank, 1993). A escala global, las estimaciones del Banco Mundial (1993) sitúan a la Enfermedad de Chagas en tercer lugar entre las causas más importantes de discapacidad atribuible a las enfermedades parasíticas (después de la malaria y esquistosomiasis). Para Latinoamérica la Enfermedad actualmente se encuentra en cuarto lugar de importancia por discapacidad, después de enfermedades respiratorias, diarreas y SIDA.

En 1960, WHO estimó que aproximadamente 7 millones de personas estaban infectadas con la enfermedad de Chagas en América Latina. Posteriormente, Zeledón & Rabinovich (1981) estimaron que de 13-14 millones de personas estaban infectadas con *Trypanosoma cruzi*.

Datos disponible de WHO indicaban unos 16 millones de infectados o por lo menos con serología positiva para *T. cruzi* y 65 millones de personas expuestas al riesgo de infección (PAHO, 1984). Más recientemente hay datos que del total de 360 millones de personas que habitan los países endémicos, al menos 90 millones (25% de la población) se consideran expuestas al riesgo de infección y 16-18 millones están infectados (OMS, 1991). Schofield (2000) estima una prevalencia de alrededor de 2.3 millones de personas infectadas en América Central y México, lo cual puede indicar, según el modelo de Hayes & Schofield (1990) una incidencia que sobrepase las 70,000 nuevas infecciones al año en ausencia de medidas de control.

Tabla No. 1. Prevalencia estimada e incidencia anual de la infección Chagásica en México y Centro América (Tomada de Schofield, 2000)

País	Seroprevalencia	Incidencia anual ¹	Vector principal
México	540,000	10,854	Varios
Belice	600	26	<i>T. dimidiata</i>
Guatemala	730,000	28,387	<i>T. dimidiata</i> y <i>R. prolixus</i>
Honduras	300,000	11,490	<i>R. prolixus</i> y <i>T. dimidiata</i>
El Salvador	322,000	10,594	<i>T. dimidiata</i>
Nicaragua	67,000	2,660	<i>T. dimidiata</i> y <i>R. prolixus</i>
Costa Rica	130,000	3,320	<i>T. dimidiata</i>
Panamá	220,000	5,346	<i>R. pallescens</i> y <i>T. dimidiata</i>
Total	2,309,600	72,677	

1 Incidencia calculada de acuerdo al modelo de Hayes & Schofield (1990)

En el caso de la Enfermedad de Chagas, el control ha llegado a ser una prioridad de la Salud Pública en muchos países latinoamericanos, no sólo por su significación social y epidemiológica, sino también debido a su fuerte impacto económico y los beneficios que resultan del control eficaz. A nivel de la Salud Pública, raras veces resulta factible tratar la Enfermedad de Chagas. Por otro lado, *T. cruzi* es antigénicamente complejo y puede provocar reacciones autoinmunitarias, por lo tanto la posibilidad de elaborar una vacuna segura y eficaz se considera hoy como muy remota. Por estos motivos, el control de la Enfermedad de Chagas se funda principalmente en la interrupción de la transmisión mediante la eliminación de las poblaciones de vectores domésticos y la disminución del riesgo de transmisión por transfusión de sangre de donantes infectados (WHO, 1991)

3.2 Vectores

Los Triatominos son una subfamilia de Hemípteros (Chinches verdaderas) caracterizados en base de su hábito hematófago obligado (Schofield, 1994).

Los insectos del Orden Hemiptera se caracterizan por poseer alas delanteras con la porción basal engrosada y coriácea, y la apical membranosa (se denominan Hemelitra). Las alas traseras son membranosas. Las partes bucales son del tipo picador chupador y la probóscide está segmentada; presentan ojos compuestos bien desarrollados. Estos insectos tienen una metamorfosis simple y por lo general cinco estadíos ninfales. (Borror *et. al*, 1989)

La importancia principal de los Triatominos reside en su capacidad de transmitir el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi* (Schofield, 1994). En el presente se conocen 128 especies agrupadas en 17 géneros y 5 tribus (Schofield *et. al*, 1999). Estas están distribuidas en regiones tropicales y subtropicales, y más de la mitad ha sido natural o experimentalmente infectadas con *T. cruzi*. Probablemente deben considerarse todas las especies de Triatominae como vectores potenciales. Sin embargo, no hay ninguna duda de que algunas especies son más eficaces que otras. Para esta eficacia del vector, hay tres factores que son de mucha importancia:

- (1) el grado de susceptibilidad a la infección con *T. cruzi*,
 - (2) el intervalo de tiempo entre la alimentación y defecación de la chinche,
 - (3) el grado de contacto con humanos.
- (Schofield, 2000; Lent & Wygodzinsky, 1979)

Los triatominos ingieren los parásitos cuando se alimentan de un animal ó persona infectada. En el caso de los humanos, la transmisión del parásito se da a través de las deyecciones de las chinches ya que en estas, el parásito se desarrolla en el intestino (OMS, 1991).

La infección por *Trypanosoma cruzi* existe en muchas áreas como un ciclo entre el Triatomo silvestre y los mamíferos pequeños como roedores y marsupiales. En muchos lugares no hay ningún contacto humano con la chinche silvestre; la infección humana sólo ocurre a través del contacto accidental con ésta, o por iniciación de un ciclo doméstico de transmisión cuando invaden y colonizan casas. (Schofield, 1994; Schofield, 2000).

Las especies de mayor significación epidemiológica son las que colonizan fácilmente las viviendas de los humanos, viviendo en las grietas y hendiduras de las casas rurales, estas permanecen inmóviles durante el día y emergen de noche para alimentarse de los ocupantes humanos. Sin embargo, muchas de las especies principalmente selváticas invaden ocasionalmente las casas (por ejemplo atraídas por la luz) y pueden contribuir a la transmisión de *T. cruzi* a los humanos (Schofield, 1994; Lent & Wygodzinsky, 1979).

Los Triatominos ocupan distintos ecotopos tales como madrigueras de mamíferos, nidos de aves, cuevas de murciélagos, troncos, bromelias, pilas de rocas y palmeras. Muchos se han vuelto peridomésticos y varias especies se domesticado lo cual significa que se han adaptado a la vivienda humana, principalmente en las de adobe. (Lent & Wygodzinsky, 1979; Guhl, 2000; Schofield, 2000).

En la región de América Central, relativamente pocas especies de Triatominos han sido encontradas, solamente 15 han sido confirmadas comparadas con las 28 especies de México, y 84 especies de Sur América.

Tres especies son reconocidas por su importancia vectorial en América Central (Schofield, 2000):

- (1) *Rhodnius prolixus*, que ahora se encuentra confinada en áreas restringidas de Guatemala y Honduras y en unas pocas localidades del Sur de México y partes de El Salvador y Nicaragua cercanas a los bordes de Honduras.
- (2) *Rhodnius pallescens*, que es un vector importante en partes de Panamá y se encuentra en partes del sur de Costa Rica y en Colombia
- (3) *Triatoma dimidiata*, el cual está muy disperso a lo largo de América Central (también en el Sur de México, Colombia, Ecuador y Norte de Perú)

3.3 El *Triatoma dimidiata* (Latreille)

3.3.1 Clasificación

Clase	Insecta
Orden	Hemiptera
Suborden	Gynocerata
Familia	Reduviidae
Subfamilia	Triatominae
Tribu	Triatomini
Complejo	Phyllosoma
Subgrupo	Rubrofasciata
Género	<i>Triatoma</i>
Especie	<i>Triatoma dimidiata</i>

(Dujardin, Schofield & Panzera, 2000; Sherlock, 2000)

Carcavallo *et al* (2000), opinan que en México hay tres especies relacionadas con *T. dimidiata*, las cuales son *T. hegneri*, *T. gomeznunezi* y *T. brailovskyi*; las cuales forman un complejo específico, con caracteres plesiomórficos muy similares a los de las Triatomas de Sur América y completamente diferentes a las de México y Estados Unidos, sin embargo recomiendan que deben realizarse estudios genéticos para clarificar esta hipótesis.

3.3.2 Morfología

Triatoma dimidiata es una especie bastante grande y con un colorido distintivo en el cuerpo, que generalmente va desde píceo a negro, y en el conexivo y corium desde amarillo pálido hasta amarillo naranja. El macho mide entre 24.5 a 32.0 mm, mientras que la hembra mide entre 24.5 a 35.0 mm (Lent & Wygodzinsky, 1979; Lent & Jurberg, 1985).

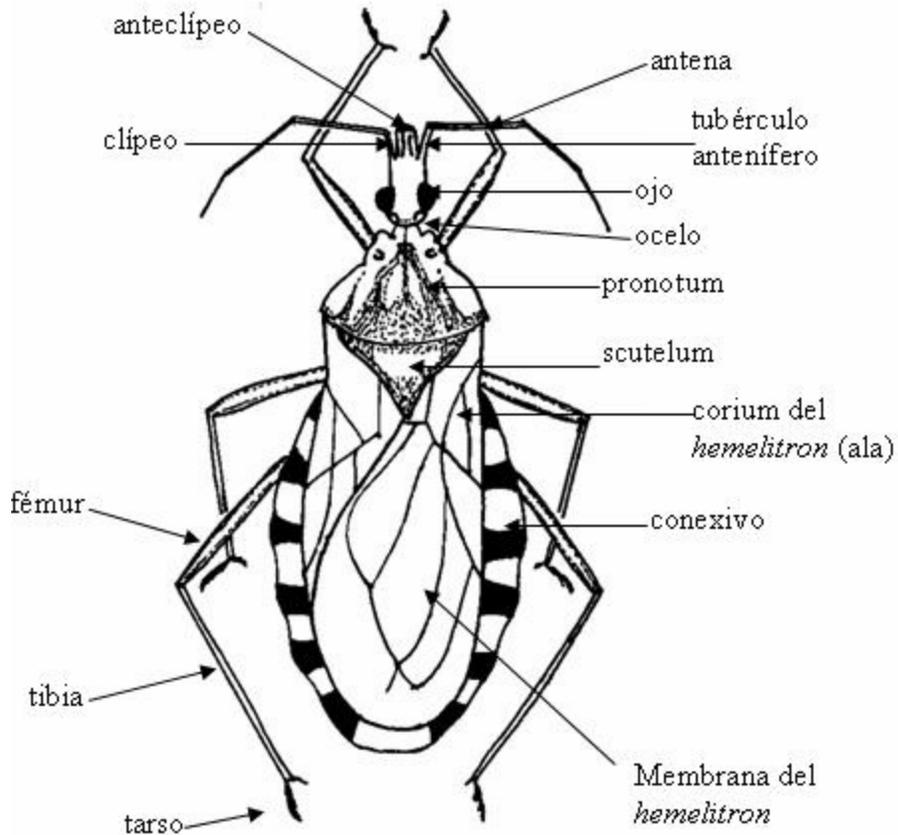


Figura # 1. Morfología de *Triatoma dimidiata*. (Tomado de Bustamante 2001)

3.3.3 Distribución Geográfica

Esta especie se distribuye en Belice, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Perú y Venezuela (OMS, 1991; Zeledón, 1981). La importancia de *Triatoma dimidiata* como vector de la enfermedad de Chagas se debe a su dispersión geográfica, abundancia y grado de infección (Galvão *et al.*, 1995).

Triatoma dimidiata es de amplia distribución, se ha encontrado desde el nivel del mar hasta altitudes de 2,000 mts, desde la orilla del océano Atlántico hasta las costas del pacífico (Monroy, 1994).

3.3.4 Biología, Importancia Epidemiológica y Retos de Control

Triatoma dimidiata es una especie completamente nativa de la región de América Central (Schofield, 2000). Está considerada como uno de los vectores más importantes en Centro América y partes de México. Es reconocida como una de las tres principales especies vectoras de *Tripanosoma cruzi* (Dujardin *et al.* 2000). En Guatemala, El Salvador, Nicaragua y Costa Rica es el principal vector de la Enfermedad de Chagas y en Honduras el segundo (Monroy, 1992; OPS, 2000). Sin embargo, se considera también importante en las regiones costeras húmedas de Colombia, Ecuador y el norte de Perú.

Triatoma dimidiata Latreille se encuentra entre los vectores más importantes, presenta poblaciones domésticas que tienden a ser relativamente pequeñas (Monroy *et al.*, 1994), son muy susceptibles a la infección con *T. cruzi* (Según Monroy *et al.* 2003a, el 19.1% de los insectos se encuentra infectado en Guatemala, mientras que Cedillos *et al.* (2001) reporta una infección similar de 17.8% en El Salvador, ambos son datos generales para cada país, aunque esto varía dentro de ellos dependiendo de la región), y su habilidad para defecar durante o inmediatamente después de una comida sanguínea, es de mucha importancia en la transmisión del parásito ya que es en general de tres a cuatro veces mayor que en otras especies (Zeledón 1981). Esta especie es capaz de colonizar viviendas humanas, especialmente aquellas de adobe o bajareque, en las cuales se esconden en las grietas de las paredes. Se cree que el transporte pasivo de leña del campo a las viviendas representa un medio importante para la entrada de la chinche al ambiente humano; otro medio es la atracción por la luz artificial, ya que esta especie tiene gran capacidad de vuelo. (Monroy 1992, Schofield 1994)

Según la clasificación de Guhl (2000), *Triatoma dimidiata* se encuentra dentro de las especies adaptadas de manera relativamente estable a la vivienda, pero que también conservan importantes ecotopos silvestres. Dentro de estos últimos, se le ha encontrado sobre todo en montones de rocas y cuevas ocupadas por murciélagos. A veces las chinches se encuentran en árboles huecos. (Schofield 1994).

En América Central, la abundancia y diversidad de poblaciones de *Triatoma dimidiata* representa el mayor reto para el control vectorial, donde la presencia de poblaciones selváticas puede representar uno de los mayores obstáculos para el control de la especie (Schofield 2000).

Es una especie altamente variable especialmente en las mediciones relativas de la cabeza y ojos, además es muy variable en sus aspectos cromáticos, proporciones corporales y estructuras genitales (Lent y Jurberg 1985), al igual que en su comportamiento intradomiciliar (Schofield 2000).

El tamaño total incrementa gradualmente de norte a sur dentro del rango de la especie pero con muchas excepciones. La cabeza comienza a alargarse relativamente (y los ojos a acortarse) de norte a sur, siendo más corta en algunos especímenes mexicanos y más larga en los especímenes colombianos (Lent y Wygodzinsky 1979). Esta variabilidad llevó a Usinger en 1941 a crear una nueva especie, *Triatoma capitata*, para ejemplares procedentes de Colombia, alegando poseer una cabeza más larga y delgada, ojos menores y ángulos humerales más aguzados que *Triatoma dimidiata* (Zeledón, 1982). Posteriormente, Usinger (1944) describió tres subespecies denominadas *capitata* (para la forma colombiana), *dimidiata* (para las formas Centro Americanas) y *macullipennis* (para la forma mexicana). No obstante, después de una revisión de 160 individuos que correspondían a todo el rango de la especie se encontró que hay una alta variabilidad y este conocimiento actual es el que no permite hoy en día la separación en subespecies por lo que Lent y Wygodzinsky (1979) recomiendan que se mantengan las formas conocidas de una sola especie: *Triatoma dimidiata* (Zeledón, 1985).

Marcilla, *et al.* (2001) realizó estudios moleculares utilizando ITS-2 de rDNA nuclear como marcador, los cuales sugieren que esta especie incluye varias poblaciones en proceso de evolución divergente, con aislamiento geográfico como posible causa. Recientemente, Bustamante *et al.* (2004) realizaron una comparación morfométrica entre ocho poblaciones de *Triatoma dimidiata* provenientes de regiones geográficas diferentes (México, Guatemala, Honduras y Colombia) y dos ecotopos, doméstico y silvestre. La comparación mostró diferencias en la forma de la cabeza, relacionadas con la geografía, mostrando una separación entre las poblaciones del norte, centro y sur. Únicamente la posición de un grupo silvestre de Guatemala, de las cuevas de Lanquín, no se correlacionó con la geografía; este grupo ya había sido previamente descrito por Lent & Wygodzinsky (1979) con características propias de adaptación de los artrópodos a cuevas. Esta población se mostró cercanamente relacionada con la población de Colombia, la cual a pesar de

haber sido colectada en casas podría provenir de cuevas cercanas, esta similitud entre las dos poblaciones podría deberse a influencias evolucionarias o ecológicas.

La alta variabilidad de la especie se refleja también en los diferentes ecotopos en que puede encontrarse: cuevas ocupadas por murciélagos, montículos de piedra, montículos de adobe, ruinas, nidos de roedores o marsupiales, árboles huecos, palmeras (Zeledón 1981, Monroy 1992, Schofield 1994, Monroy *et al.* 2003c).

En la actualidad, las poblaciones silvestres no se consideran candidatos factibles para su eliminación de la región, implicando que el control debe estar basado mayoritariamente en la eliminación de poblaciones domésticas, seguida de vigilancia e intervenciones designadas a impedir la recolonización desde focos silvestres. La eliminación local podría ser posible en áreas donde las poblaciones silvestres sean raras o estén ausentes (Schofield 2000).

Datos disponibles, entre ellos estudios moleculares (Marcilla *et al.* 2001) y Morfométricos (Bustamante *et al.* 2004), parecen sugerir que *Triatoma dimidiata* puede representar una serie de subpoblaciones relativamente aisladas, con un pequeño flujo de genes entre ellas. De ser esto verificado, podría alcanzarse altos niveles de control en localidades específicas y realizarse monitoreos -por medio de marcadores genéticos y fenéticos apropiados- del origen de potenciales reinfestaciones. Es por lo anterior, que se considera como una prioridad urgente el estudio de la estructura genética de poblaciones de *Triatoma dimidiata* (Schofield, 2000). Ibáñez-Bernal & Paz Rodríguez (1998) también recomiendan realizar estudios para la caracterización genética de las poblaciones y análisis moleculares para aportar, en conjunto con otros tipos de estudio, datos necesarios para confirmar o modificar los esquemas clasificatorios al interior del género *Triatoma*; y los cuales, en nuestro caso, también pueden servir para contribuir al conocimiento del estatus específico de las diferentes poblaciones, para dilucidar si estamos lidiando con una sola especie o un complejo de especies.

3.4. Morfometría

La morfometría es la descripción cuantitativa, análisis e interpretación de la forma y la variación de esta en biología (Rohlf, 1990). La Morfometría se usa en estudios taxonómicos, genéticos y ecológicos, ha sido utilizada en muchos campos: citología, antropología, geología, paleobiología, nematología y entomología. (Daly, 1985; Rohlf, 1990)

Tradicionalmente las variables usadas en los análisis morfométricos son las coordenadas de los puntos o distancias entre puntos, procedimiento que se facilita al contar con sistemas de captura y análisis de datos. Una meta de la selección de variables en la Morfometría, es reducir el volumen de datos tanto como sea posible, pero sin perder la habilidad de representar la forma de las estructuras adecuadamente (Rohlf, 1990). Se ha mostrado que la discriminación entre grupos es mejor con el uso de distancias (Strauss & Bookstein, citados por Rohlf, 1990)

Hay varias estrategias para analizar datos. Una de estas es el uso de métodos estadísticos multivariados convencionales para analizar juegos de variables morfométricas. (Rohlf, 1990). Estos métodos representan el medio más común de análisis de los conjuntos de variables representando formas biológicas.

Podemos encontrar dos tipos de Morfometría, la Tradicional y la Geométrica. La Morfometría Geométrica es una técnica que preserva la información de la geometría del organismo, para esto no se utilizan distancias sino coordenadas, las cuales se grafican en un espacio cartesiano el cual permite visualizar diferencias de conformación entre grupos e individuos, variación muestral, y otros resultados en el espacio de los especímenes originales. Por otra parte, la Morfometría Tradicional es una aplicación de métodos estadísticos multivariados a colecciones arbitrarias de variables de tamaño o conformación. La diferencia entre estos dos tipos, consiste en que en la Morfometría Tradicional se definen las longitudes o mediciones con el fin de registrar aspectos biológicos significativos del organismo, pero no se toman en cuenta las relaciones geométricas entre estas mediciones (Jaramillo & Dujardin, 2002).

Para el presente estudio se va a aplicar Morfometría Tradicional o Multivariada. (Rohlf & Marcus, 1993), la cual se describe ampliamente más adelante.

3.4.1 Aplicaciones en Entomología

Las estructuras externas de los insectos son susceptibles de medición y han sido aplicadas para describir ciclos de vida, estudios ecológicos, sistemática, genética, variación intraespecífica, etc. Se reconoce que en las formas y dimensiones del exoesqueleto de un insecto se refleja su forma de vida. (Daly, 1985)

Según Daly (1985), las aplicaciones más ampliamente dadas a la morfometría en la entomología son:

- Identificar y determinar el número de estados inmaduros,
- Investigar la correspondencia entre variación morfométrica y genética,
- Investigar la influencia de la variación ambiental en la forma y el tamaño,
- Sistemática y clasificación.

3.4.2 Morfometría Tradicional

La Morfometría Tradicional es una aplicación de métodos estadísticos multivariados a colecciones arbitrarias de distancias entre puntos sobre el organismo. En Morfometría Tradicional se definen las longitudes o mediciones con el objetivo de registrar aspectos biológicos significativos del organismo.

La Morfometría Tradicional provee al investigador de un conjunto de técnicas analíticas muy poderosas para cuantificar la variación morfométrica y tentativamente disecar los componentes genético y ambiental de los rasgos examinados. El objetivo de los análisis es estudiar por separado la conformación y el tamaño, relacionando estos componentes morfométricos con el entorno interno y externo de las poblaciones, suponiendo que ambos son modificados por razones biológicas diferentes. (Jaramillo & Dujardin, 2002)

La Morfometría Tradicional parte de medir distancias entre puntos de referencia. A partir de matrices de varianza-covarianza construidas con distancias convertidas a logaritmos naturales, utiliza los análisis multivariados para hacer combinaciones lineales de todas las variables originales en unas pocas no relacionadas entre sí, cada una de las cuales da cuenta de una porción de la variación original. Los análisis convencionales se dividen en: los utilizados para el análisis de muestras únicas, sin una asignación “a priori” de los individuos en grupos previamente definidos (Análisis de Componentes Principales, ACP) y los utilizados para el análisis de dos o más muestras (Análisis de Componentes Principales Comunes, ACPC, y Análisis de la Función Discriminante, AFD). (Jaramillo & Dujardin, 2002)

Las nuevas variables derivadas de la Morfometría Tradicional corresponden a componentes principales o a factores, con una serie de propiedades útiles:

1. Son ortogonales; es decir, que los valores de cada componente no se correlacionan con los valores de los otros componentes.

2. Los componentes se organizan en orden decreciente de acuerdo al porcentaje de varianza original por el que cada uno responde, es decir que el primer componente será el que dará cuenta del mayor porcentaje de variación original.
3. La suma de las varianzas explicadas por cada componente igualará la suma de las varianzas originales. (Jaramillo & Dujardin, 20002)

Estas propiedades significan que al resumir los datos iniciales en unas pocas dimensiones, pero sin perder la información original, podemos representar de la mejor manera los objetos de estudio y sus relaciones en función de los caracteres estudiados (Pimentel, 1992).

En Morfometría, la ordenación puede definirse como la representación de las Unidades Taxonómicas Operacionales (OTUs) en un carácter reducido en el espacio que es definido por los ejes de mayor variación. Estos métodos de ordenación son usados principalmente para formas exploratorias, reducción dimensional de sets de datos y calculo de patrones de variación mayores. (Foottit ,1992, Jaramillo & Dujardin, 2002)

Los métodos de ordenación se pueden agrupar en dos categorías: Los que se utilizan para el análisis de muestras solas (ACP) y los que se utilizan para el análisis de dos o más muestras (AFD, ACPC)

3.4.2.1 Consideraciones sobre el Crecimiento, su representación y remoción, en los estudios de Morfometría Tradicional

En el presente estudio, el objetivo de los análisis de Morfometría Tradicional es estudiar por separado la conformación y el tamaño. Para esto existen ciertas interpretaciones matemáticas de los conceptos de tamaño y crecimiento, en base a las cuales se puede llegar a separar cuantitativamente, el tamaño y la conformación. Esta separación ha sido importante en estudios de variación cuantitativa intraespecífica, ya que en teoría permite reducir la influencia que la variación por crecimiento (o tamaño, ya sea este crecimiento representado de forma alométrica o isométrica), tiene sobre la conformación. En este contexto se describen a continuación los tipos de crecimiento, cómo se representan estos tipos a través de las variables de tamaño, y el por qué es importante la remoción de este tamaño de los datos cuantitativos.

De acuerdo a Dujardin (2000) se pueden definir matemáticamente dos tipos de crecimiento:

3.4.2.1.1 Crecimiento Alométrico

La alometría es cualquier cambio de conformación con el tamaño, es decir, cambios de forma en función del tamaño.

Cuando se tienen dos distancias medidas sobre un grupo de organismos, estas distancias son los ejes de un espacio multivariado y la nube de puntos que forman sigue una línea curva, y al transformar estas distancias en logaritmos, la relación se vuelve lineal. Este es el fundamento de la alometría simple de Huxley:

$$y = bx^{\alpha}$$

$$\log y = \log b + \alpha \log x$$

donde x y y son las distancias, b y α son constantes. La constante α es la pendiente y se denomina coeficiente alométrico (Klingenberg, 1996).

Este tipo de crecimiento es el comportamiento común en la naturaleza. El crecimiento alométrico se da cuando la velocidad de crecimiento de una parte del organismo es diferente a la de otra parte o a la del cuerpo como un todo. (Jaramillo & Dujardin, 2002). Es decir que el cambio alométrico resulta de la multiplicación de cada carácter por un coeficiente diferente cuando crece el conjunto, lo que resulta en un individuo más grande pero con otro aspecto, una silueta diferente. (ver figura # 2).

Si $\alpha > 1$ existe una alometría positiva, es decir que una estructura crece respecto a otra, y si $\alpha < 1$ existe una alometría negativa, es decir que una estructura decrece con respecto a otra (Klingenberg, 1996).

3.4.2.1.2 Crecimiento Isométrico

En el caso de $\alpha = 1$ se dice que existe Isometría, proporcionalidad directa entre x y y (Klingenberg, 1996). El crecimiento isométrico es un caso particular de la alometría y se presenta cuando la velocidad de crecimiento es la misma que la del crecimiento global. Este tipo de crecimiento es una excepción en la naturaleza. En Morfometría tradicional es el cambio de tamaño

global que se puede estimar con un vector que tiene todos sus coeficientes idénticos. (Jaramillo & Dujardin, 2002)

El cambio isométrico resulta de la multiplicación de todas las dimensiones de un organismo por un mismo coeficiente, por lo que al aumentar el tamaño la forma permanece constante. (Ver figura # 2)

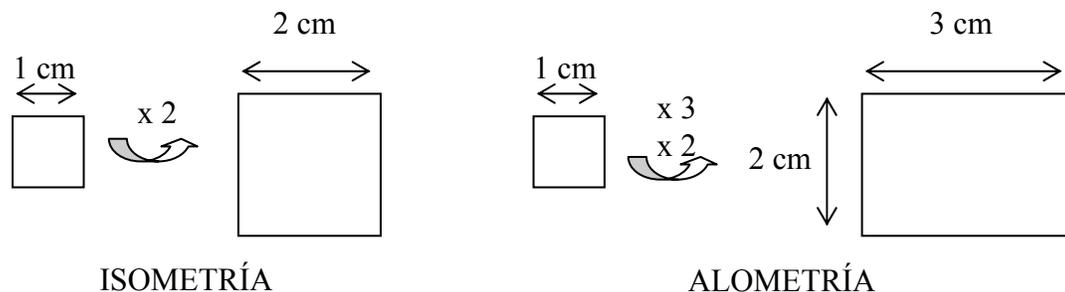


Figura # 2. Representaciones matemáticas del crecimiento (Jaramillo & Dujardin 2002).

3.4.2.2 Cuantificación del Tamaño y su importancia en estudios morfométricos

Para la representación del tamaño isométrico (TAISO), Darroch & Mosimann (1985) proponen utilizar el promedio de todas las distancias medidas para un individuo. Por otro lado, en el caso del crecimiento alométrico, Klingenberg (1996) propone que la variable de tamaño global o vector de crecimiento corresponde al Primer Componente Principal Común (CPC1) derivado de un Análisis de Componentes Principales Comunes (ACPC); el término global se refiere a que no se hace distinción entre diferencias de tamaño debidas a diferencias de crecimiento o a diferencias genéticas. Es decir que el CPC1 indica la dirección de crecimiento de los individuos por lo cual es un estimador del cambio alométrico del tamaño (Dujardin, 2000).

La causa más frecuente de diferencias de tamaño entre individuos de la misma especie es fisiológica: el crecimiento desigual. Pero las diferencias de tamaño resultan tanto de causas ambientales como genéticas: la divergencia causada por el aislamiento geográfico (diferenciación geográfica) y la selección natural de genotipos que expresan un fenotipo de tamaño ligado a caracteres con mayor eficacia biológica (“fitness”). (Dujardin, 2000)

Debido a que en morfometría se utilizan métodos matemáticos para definir fenómenos biológicos, se asignan propiedades biológicas a construcciones matemáticas. Pero los objetos matemáticos producidos son sólo aproximaciones de los principales conceptos biológicos que se

consideran en morfometría. Tales conceptos son: El cambio de tamaño isométrico, el cambio de tamaño alométrico, y la variación métrica libre de cambios isométricos (la conformación, “*shape*” en inglés) o libre de cambios alométricos (Dujardin, 2000; Jaramillo & Dujardin, 2002).

Una vez se han identificado los vectores de crecimiento, CPC1 y TAISO, los cuales dan cuenta del cambio de tamaño se pueden definir matemáticamente variables de “forma” (“*allometry-free variables*”, en inglés) y “conformación” (“*shape*”, o “*isometry-free variables*” en inglés) (Jaramillo & Dujardin, 2002).

3.4.2.3 Tipos de Análisis en Morfometría Tradicional

A partir de los vectores de crecimiento arriba descritos, podemos realizar los análisis de Morfometría Tradicional, los cuales corresponden a análisis libres de tamaño alométrico y análisis libres de tamaño isométrico, los cuales persiguen reducir los efectos ambientales y enfatizar el estudio del trasfondo genético responsable de la variación métrica.

3.4.2.3.1 Variables libres de alometría

La “*forma*” es la variación que permanece cuando se elimina la influencia del crecimiento sobre el cambio de conformación.

Algunas propiedades de la “*forma*” son:

1. La “*forma*” es libre de los cambios de conformación inducidos por el crecimiento (alometría)
2. Cambios alométricos inducidos por el crecimiento no modifican la “*forma*”
3. Cambios isométricos pueden modificar la “*forma*”, así como cambios alométricos de origen genético. (Jaramillo & Dujardin, 2002)

La “*forma*” es la variación métrica residual después de remover la alometría de crecimiento. Las variables de forma, llamadas correctamente variables libres de alometría, necesitan aplicarse en un contexto claro: misma especie, mismo lugar. Los análisis de componentes principales proveen de un estimador de la dirección del cambio de tamaño global: el primer componente principal (PC-1). La exclusión de este cambio deja una variación que no se puede explicar por causas fisiológicas y que se denomina forma (variables libres de alometría). (Dujardin, 2000; Jaramillo & Dujardin, 2002)

La variable de “forma” (variable libre de alometría) representa un enfoque metodológico particular tratando de remover el cambio atribuible al crecimiento fisiológico, y, matemáticamente, representa el residuo después de remover el cambio alométrico. En otras palabras, la “forma” se puede definir como el conjunto de variables remanentes después de extraer el componente de tamaño alométrico, o como la variación libre de alometría – pero la inducida por el crecimiento. Klingenberg (1996) propone utilizar como variables libres de alometría los componentes que siguen al primero en un ACPC.

Encontrar diferencias de “forma”, significa que el crecimiento no es capaz de explicar por sí solo toda la variación métrica observada. Entonces, se deben considerar otras causas; probablemente de origen genético (Dujardin, 2000).

En caso de encontrar que dos estructuras no comparten la misma manera de crecer podemos suponer cambios evolutivos o adaptativos, responsables de la divergencia observada. El concepto forma se aplica entonces a estructuras biológicas que crecen de manera alométrica. Un estudio de la conformación libre de alometría es válido al nivel infraespecífico, porque esperamos una misma manera de crecer (igual alometría) dentro de una especie (Dujardin, 2000; Jaramillo & Dujardin, 2002).

La variación métrica que sigue existiendo, aún después de remover los efectos del crecimiento es conformación y tamaño (Bookstein, 1989). Conformación, ya que la geometría de la estructura está siempre incluida dentro de las dimensiones o coordenadas usadas; y tamaño, porque la eliminación de los efectos del crecimiento podría no remover las otras causas de la variación de tamaño.

El análisis de la forma significa remover tentativamente los cambios alométricos debidos al crecimiento. La condición de este análisis es que no haya diferencia significativa en la manera de crecer de diferentes individuos. Si existen varios grupos con diferentes alometrías de crecimiento es lógicamente, poco probable encontrar un eje común de crecimiento entre todos (Dujardin, 2000).

Sin embargo, es posible encontrar diferentes maneras de crecer (alometrías divergentes) entre poblaciones geográficas y ecológicas de la misma especie, aunque no se sabe con que frecuencia y hasta qué niveles. La razón es que la separación alopátrida produce divergencia

genética que va aumentando de manera gradual a medida que la separación permanece en el tiempo (Dujardin, 2000; Jaramillo & Dujardin, 2002)

3.4.2.3.2 Variables libres de isometría

La conformación, cuando se especifica en oposición a la “forma”, se puede definir operacionalmente como el conjunto de variables remanentes después de eliminar las diferencias de tamaño isométrico.

La conformación tiene propiedades, las cuales son:

1. Cambios alométricos debidos al crecimiento modifican la conformación;
2. La conformación es libre de diferencias de tamaño isométrico y, por ende, cambios isométricos no la modifican
3. Cambios evolutivos y/o adaptativos pueden modificar la conformación (y/o la manera de crecer). (Jaramillo & Dujardin, 2002)

La conformación es la geometría del individuo o de una estructura anatómica. Es su configuración, su apariencia, su aspecto.

En morfometría tradicional, el uso de una proporción o de un ángulo puede lograr eliminar el cambio isométrico de tamaño. En los análisis convencionales se obtienen variables de conformación o libres de tamaño isométrico mediante tratamientos estadísticos simples; por ejemplo, sustrayendo una variable de tamaño global de las variables que definen a los organismos, transformadas a logaritmos naturales (Darroch & Mosimann, 1985).

Una manera indirecta de conocer si las variables de conformación están libres o casi libres de cambios causados por la alometría es hacer análisis de regresión multivariada de las variables de conformación en función del tamaño-centroide. Cuando la regresión es significativa se admite que los cambios alométricos no fueron completamente removidos (Jaramillo & Dujardin, 2002).

3.4.3 La Morfometría en el estudio de variación intraespecífica: Poblaciones Geográficas y Ecológicas

Para los estudios de la variación intraespecífica, es importante entender la definición de plasticidad fenotípica, la cual es la habilidad de un genotipo para producir más de una alternativa de

forma morfológica, estado fisiológico y/o comportamiento en respuesta a las condiciones ambientales. Es decir que los cambios morfológicos dentro de una misma especie se consideran plasticidad fenotípica la cual juega un papel determinante en los procesos de especiación (West-Eberhard, 1989).

La plasticidad fenotípica no ha sido considerada como un factor importante en la evolución ya que evolución en general se define como un cambio en las frecuencias génicas, por lo que las variaciones asociadas con las condiciones ambientales no se consideran evolución. Sin embargo, el ambiente no es un agente de selección sólo en el sentido de que es la “arena” donde diferentes fenotipos alcanzan diversos grados de sobrevivencia y éxito reproductivo. Es también un agente de desarrollo, el cual influencia el rango de fenotipos que serán producidos por un genotipo. Los cambios fenotípicos son los primeros que ocurren en el proceso de la llegada de una población a un nuevo hábitat o nicho. El significado evolutivo de estos cambios radica en que permiten la persistencia y modificación de formas intragenómicas divergentes; lo que significa que formas divergentes pueden volverse disociadas con poco o ningún cambio genético y sin aislamiento reproductivo (West-Eberhard, 1989, Tomado de Bustamante, 2001).

De acuerdo a lo anterior, debemos definir el significado de especie ecológica y poblaciones geográficas. Al hablar de especies ecológicas nos referimos a especies con diferencias morfológicas consistentes que pueden surgir a través de adaptación ecológica divergente. Esta visión encaja con el concepto de unidades evolutivas de Wiley, en donde dos poblaciones se convertirán en diferentes especies si siguen diferentes destinos evolutivos (Dujardin *et al.*, 1999b). En cuanto a las poblaciones geográficas, nos referimos a poblaciones separadas por factores o barreras geográficas.

A menudo, la respuesta de los organismos a las fuerzas selectivas se puede manifestar como la adaptación de un número de rasgos a muchos factores biológicos y ambientales interdependientes. Morfológicamente, las respuestas pueden ocurrir de una forma multidimensional, en lugar de un cambio en un solo carácter. Las poblaciones y las especies se pueden traslapar cuando los caracteres son estudiados individualmente, pero pueden volverse identidades distintas cuando muchos caracteres se consideran juntos (Footit, 1992). Es decir, que al comparar conjuntos de individuos pertenecientes a diferentes entornos espaciales o ecológicos, frecuentemente se detecta una variabilidad Morfométrica importante, que corresponde a los atributos biológicos del grupo de organismos bajo estudio, no de los individuos por separado, y se obtienen del análisis del conjunto de rasgos morfométricos (Jaramillo & Dujardin, 2002).

Las primeras modificaciones que resultan de la separación geográfica son cambios en los caracteres cuantitativos (Falconer, 1981), y las distancias entre dos puntos son caracteres cuantitativos continuos que se utilizan en genética cuantitativa para tratar de cuantificar estadísticamente su contribución al fenotipo (Dujardin, 2000).

3.4.4 Morfometría Aplicada a Triatominos

Hasta la fecha, la morfometría se ha utilizado como un marcador fenético en los triatominos, aplicándose a diferentes campos tales como filogenética, diferenciación de ecotopos, diferenciación geográfica, etc. (Dujardin *et al.*, 2000).

En *Triatoma infestans* (principal vector de *Trypanosoma cruzi* en Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay, Perú y Uruguay; Dujardin *et al.*, 1997a) la morfometría ha sido utilizada para detectar diferenciación geográfica de este triatomo, particularmente cuando la variabilidad en isoenzimas es muy baja como para revelar diferencias interpoblacionales (Schofield *et al.*, 1996). Casini *et al.* (1995) lograron por medio de la morfometría diferenciar geográficamente entre poblaciones de los departamentos de Rivera (norte) y Soriano (sur), del Uruguay. Para lo anterior se utilizaron 10 caracteres morfométricos de la cabeza y el tórax de los machos.

En Bolivia, se compararon especímenes de *Triatoma infestans* colectados en varias localidades y especímenes silvestres de Cochabamba. El análisis morfométrico reveló que los insectos silvestres y domésticos, que no presentaban diferenciación por isoenzimas, eran sin lugar a dudas diferentes basados en la morfometría de la cabeza, especialmente en la región postocular, la cual era más larga en los especímenes silvestres. (Dujardin *et al.*, 1997a)

En Guatemala, la morfometría se ha aplicado para determinar la existencia de diferencias métricas intra especie en *Triatoma dimidiata* con el fin de conocer la estructuración genética de las poblaciones de este insecto de importancia médica, como parte de la investigación biológica de los vectores de la enfermedad de Chagas, en apoyo a la campaña nacional de control. Se compararon cuatro poblaciones domésticas y dos silvestres, encontrándose en las poblaciones domésticas que en base a que los patrones encontrados en estudios morfométricos son capaces de revelar patrones genéticos, estas poblaciones podrían conformar una sola población continua, ya que no es posible diferenciarlos con técnicas morfométricas multivariadas. En el caso de las poblaciones silvestres, estas mostraron altos grados de diferenciación entre sí y respecto a los grupos domésticos. Finalmente se concluyó que las poblaciones domésticas y silvestres de *Triatoma dimidiata* en

Guatemala, podrían constituir especies ecológicas, ya que presentan diferencias morfológicas atribuibles a procesos evolutivos de especiación, principalmente, la adaptación a diferentes ambientes (Bustamante, 2001).

En Guatemala, la morfometría también se ha aplicado para estudiar la diferenciación morfométrica de *Triatoma nitida*, para esto se realizaron análisis a 47 machos de esta especie, provenientes de tres localidades, los resultados mostraron diferencias cuantitativas entre las poblaciones, las cuales indican que la distancia geográfica es un factor importante en la estructura de las poblaciones de esta especie (Monroy *et al.*, 2003b).

Recientemente, la morfometría se aplicó para estudiar la variación métrica entre poblaciones geográficas de *Triatoma dimidiata* provenientes de México, Guatemala, Honduras y Colombia; donde la comparación mostró diferencias significativas en la forma de la cabeza entre las poblaciones, mostrando una separación entre las colecciones del norte, centro y sur, y sosteniendo la idea de que esta especie incluye diversas poblaciones evolucionariamente divergentes (Bustamante *et al.*, 2004)

La aplicación de marcadores fenéticos de relativamente fácil aplicación resulta de utilidad para conocer diferencias entre poblaciones las cuales pueden ser tomadas en cuenta en casos como infestaciones de individuos de poblaciones distintas a las que se encuentran en un lugar (Como en el caso de darse un transporte pasivo de un lugar a otro). Si la morfometría permite en este caso diferenciar las distintas poblaciones provenientes de varios países, será también útil para estudios de ecotopos, reinfestaciones, diferenciación de poblaciones geográficas, etc. Los cuales son un aporte científico para conocer mejor el vector y buscar las estrategias más adecuadas para su control.

3.5 Asimetría

Los artrópodos y organismos superiores en general presentan una simetría bilateral, y es de observación común que generalmente estas estructuras bilaterales son de tamaño y de conformación idénticas. Cada lado está bajo el control de los mismos genes, las células de la derecha y las de la izquierda tienen el mismo genoma, de tal modo que la igualdad bilateral debería ser perfecta. De no ser así, las causas deberían buscarse probablemente en factores ambientales, no genéticos. (Dujardin, 2000)

Esta hipótesis es muy general, y las causas de asimetría no son obligatoriamente ambientales. Pero bajo ciertas condiciones ligadas al tipo particular de asimetría examinada, esta hipótesis da una posibilidad cómoda de estudiar el origen ambiental de una variación fenotípica. (Dujardin, 2000)

La desigualdad entre estructuras bilaterales es un indicador sensible, aunque débil, de la estabilidad de desarrollo. (Dujardin, 2000)

La obtención de una simetría sin defectos en el organismo maduro resulta de un desarrollo perfectamente canalizado desde los primeros estadios de vida. En la hipótesis de una ausencia de causas genéticas, el grado de asimetría nos informa sobre los problemas surgidos que pudieran haber perturbado el desarrollo perfecto del organismo. La información es doble, por una parte, la asimetría es el testigo de fenómeno de presiones (stress) ambientales actuando sobre la estabilidad del desarrollo, por otra parte también informa sobre la resistencia del organismo a las presiones ambientales, es decir sobre ciertos aspectos genéticos (Dujardin, 2000).

3.5.1 Tipos de Asimetría

Se han descrito dos tipos de asimetría, las cuales probablemente tienen causas diferentes: la simetría direccional y la asimetría no direccional, la cual se subdivide en asimetría fluctuante y antisimetría (Dujardin, 2000).

Se habla de asimetría direccional cuando un lado del cuerpo, siempre el mismo lado, tiene un tamaño promedio significativamente diferente del tamaño promedio del otro lado. Se supone que la asimetría direccional tiene causas genéticas, no ambientales. Una asimetría direccional externa, visible o medible sobre el fenotipo externo, es poco frecuente en la naturaleza. Sin embargo, el origen genético de la asimetría direccional no excluye posibles influencias ambientales (Dujardin, 2000).

Por otro lado, la asimetría fluctuante se define con dos criterios: la distribución de las diferencias bilaterales es una distribución normal y el promedio de esta distribución tiene un valor nulo (Dujardin, 2000). La asimetría fluctuante tiene típicamente causas ambientales, no genéticas. Sería entonces el grado de asimetría fluctuante la señal de problemas de desarrollo. Su ausencia, por consecuencia, indicaría un organismo capaz de resistir a los accidentes ambientales, o crecido en un ambiente al cual está perfectamente adaptado (Moller & Swaddle, 1997; Palmer & Strobeck, 1986).

La antisimetría resulta cuando los dos lados del cuerpo difieren siempre por un mismo valor, pero el lado más grande no siempre es el mismo (izquierdo o derecho). La diferencia con la asimetría direccional es que los promedios entre izquierda y derecha tienden a ser iguales o no significativamente diferentes (Dujardin, 2000).

3.5.2 Estudios de Asimetría Aplicados a Triatomíneos

La simetría es una característica importante para los órganos relacionados con la Locomoción, como las alas de los insectos. Se ha indicado que la simetría alar es de mucha importancia en la maniobrabilidad del vuelo (Moller y Swaddle, 1997).

En los Triatomíneos, el estudio de las asimetrías se aplicó para examinar la simetría alar de *Triatoma infestans* de hábitat doméstico y *Triatoma guasayana* silvestre. Los análisis fueron realizados por separado para cada sexo. Los resultados mostraron que *Triatoma infestans* no muestra diferencias significativas de asimetría fluctuante con *T. guasayana*, sin embargo en *T. infestans* abundan caracteres con valores significativos de este tipo de asimetría (14/16), mientras que en *T. guasayana* son raros (2/16). Estas diferencias pueden ser específicas de cada especie o pueden ser atribuidas a que el ambiente doméstico de *T. infestans* genera perturbaciones en su desarrollo. (Dujardin, 2000).

Por otro lado, se estudiaron también especímenes de *Triatoma sordida* silvestre y doméstica del Chaco Boliviano y *Triatoma infestans* de Cochabamba, Bolivia. En este caso los análisis revelaron que no había asimetría no direccional significativa en los especímenes silvestres de *Triatoma sordida*, mientras que para los individuos domésticos de ambas especies, la asimetría no direccional fue significativa y comprobada como asimetría fluctuante (Dujardin, 2000).

Jaramillo (2000) utilizó el análisis de asimetrías para estudiar cinco poblaciones de *Rhodnius pallescens* provenientes de colonias de laboratorio (cuatro silvestres de Colombia y una doméstica de Panamá), encontrando que la asimetría fluctuante fue importante en todas las localidades, pero contrario a un aumento en la presión ambiental, la población doméstica mostró una relajación causada por la no necesidad de usar un órgano determinado, las alas, ya que es una población con hábitos sedentarios y su capacidad de vuelo es muy poca ya que desarrollan sus actividades en un espacio reducido (contenedor de cristal), lo cual puede considerarse paralelo a lo que sucede en el ambiente doméstico.

Los estudios de asimetría alar también se han utilizado para determinar el tipo de asimetría presente en poblaciones silvestres y domésticas de *Triatoma dimidiata* y conocer si existen diferencias entre estas con el fin de conocer que poblaciones utilizan más sus alas y por lo tanto vuelan más y de esta forma proporcionar información para ser utilizada en el planteamiento de estrategias de control. Para los estudios se utilizaron cuatro poblaciones domésticas (Quiché, Jutiapa, Agua Zarca y Santa Rosa de Lima) y dos silvestres (Petén y Lanquín). Los resultados mostraron que los índices de asimetría fluctuante fueron en general más bajos para los machos que para las hembras, lo cual podría indicar que estos presentan mayor movilidad. En el caso de las poblaciones domésticas se encontró que la población de Jutiapa (una de las más importantes epidemiológicamente) era la más asimétrica y por lo tanto la más sedentaria, lo cual podría ser debido al alto grado de domesticación que tiene esta población. Por otro lado, en los resultados se encontró que la población silvestre de Lanquín mostró patrones diferentes de asimetría con respecto al resto de poblaciones estudiadas, resultados que podrían deberse a la poca movilidad de los individuos o a la endogamia (Díaz, 2003).

4. JUSTIFICACIÓN

La enfermedad de Chagas es una parasitemia causada por el flagelado *Trypanosoma cruzi*, el cual es transmitido al humano en las heces de los insectos Triatominos. Esta constituye uno de los principales problemas de salud pública en Latinoamérica. Datos recientes dan cuenta de que del total de 360 millones de personas que habitan los países endémicos, al menos 90 millones (25% de la población) se consideran expuestas al riesgo de infección y 16-18 millones están infectadas. (OMS, 1991). Schofield (2000) estima una prevalencia de alrededor de 2.3 millones de personas infectadas en América Central y México.

Actualmente dado el alto costo y poca accesibilidad para la detección a tiempo y el tratamiento de la enfermedad es eminentemente necesario realizar proyectos de investigación que conlleven a encontrar soluciones para evitar la infección de los humanos. Conocer la ecología poblacional de los triatominos vectores de la Enfermedad de Chagas es de fundamental importancia en los estudios epidemiológicos de este mal (Rabinovich, 1982).

T. dimidiata es una especie nativa que se distribuye desde el sur de México hasta Colombia, Venezuela, Ecuador y el norte de Perú. Es el principal vector en Guatemala, El Salvador, Nicaragua y Costa Rica; y un vector secundario en México, Honduras y Panamá. Es una especie muy heterogénea y variable. A lo largo de su distribución, presenta una alta variabilidad morfológica (Schofield, 2000; Zeledón, 1981).

El conocer la estructuración poblacional de esta especie es importante desde el punto de vista taxonómico y utilitario.

En la actualidad, los estudios de variación intraespecie utilizando marcadores genéticos y fenéticos, pueden aportar elementos importantes en la comprensión de diferentes patrones de transmisión de la enfermedad de Chagas por la misma especie, pero en diferentes condiciones y regiones geográficas.

Los estudios de asimetría, se están implementando recientemente en el Laboratorio de Entomología Aplicada y parasitología –LENAP- y se utilizan para investigar la estabilidad del desarrollo de las alas en poblaciones de Triatominos. Se utilizarán las alas, ya que son estructuras bilaterales que están relacionadas con la locomoción de estos insectos y pueden reflejar la capacidad de movimiento de las poblaciones, lo cual puede aportar información valiosa para el control, ya que

las poblaciones muy asimétricas serían fáciles de controlar pues no se mueven mucho y por el contrario, las poblaciones muy simétricas requerirán de mayor vigilancia por su alta capacidad de movimiento.

Se quiere estudiar la estructuración de diferentes poblaciones de *Triatoma dimidiata*, ya que si existen diferencias entre ellas, esto puede ayudar al planeamiento de estrategias de control, al igual que detectar poblaciones móviles que puedan representar un riesgo de infestación al ambiente doméstico, ya que datos disponibles actualmente sugieren que *Triatoma dimidiata* puede representar una serie de subpoblaciones relativamente aisladas, con un pequeño flujo de genes entre ellas; de ser esto verificado, podrían alcanzarse altos niveles de control en localidades específicas, pero para esto es necesario conocer las poblaciones para poder monitorear el origen de potenciales reinfestaciones, por lo cual se considera como una prioridad urgente el estudio de la estructura genética de poblaciones de *Triatoma dimidiata* por medio de marcadores tanto genéticos como fenéticos (Schofield, 2000). También se espera contribuir para determinar o proponer nuevos estudios, en caso de observar si el aislamiento geográfico o el ecotopo del que provienen las poblaciones pueden haber conducido a la especiación y no estemos tratando con una sino varias especies. Ibáñez-Bernal y Paz-Rodríguez (1998) recomiendan que es necesario realizar estudios para la caracterización genética de las poblaciones para aportar en conjunto, con otros tipos de estudio, los datos necesarios para confirmar o modificar los esquemas clasificatorios al interior del género *Triatoma*.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Estudiar la variación métrica intra especie de *Triatoma dimidiata* en poblaciones procedentes de diferentes regiones geográficas y ecotopos (silvestre, domiciliar) en México, Centro América y Colombia.

5.2 Específicos

Analizar la influencia de la procedencia geográfica y el ecotopo (cueva, selva, domicilio humano) en la variación métrica intra especie de *Triatoma dimidiata*.

Estudiar la estabilidad del desarrollo (simetría) de las alas dentro de las poblaciones estudiadas, como un medio de analizar la capacidad de dispersión por vuelo de los individuos.

6. HIPOTESIS

- La separación geográfica, no el ecotopo, permite diferenciar las poblaciones de *Triatoma dimidiata* de México, Centro América y Colombia.
- Las poblaciones silvestres difieren dependiendo del hábitat (o ecotopo) del que provienen.
- Las poblaciones domésticas, por presentar condiciones más estables, son más asimétricas que las poblaciones silvestres.
- La asimetría está relacionada con la importancia epidemiológica de las poblaciones (para detectar procesos de domesticación).

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Definición operacional de las variables.

Las variables que se utilizaron fueron mediciones realizadas en la cabeza y alas de especímenes de *Triatoma dimidiata*. Los datos donde se identifica la procedencia, hábito y fecha de colecta de los especímenes, se obtuvieron de la base de datos del Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología –LENAP, de la Escuela de Biología, USAC-. Las condiciones que no fueron manejadas pero sí seleccionadas por el investigador fueron: Localidad y ecotopo de donde provenían los individuos.

7.2 Tipo de estudio y diseño general.

Para los análisis de Morfometría Tradicional se analizaron 14 diferentes poblaciones de *Triatoma dimidiata* (4 silvestres y 10 domésticas) provenientes de México, Centro América y Colombia (Ver Tabla # 2). En el caso de las Asimetrías se trabajó únicamente con 12 poblaciones, debido a la disponibilidad del material (4 silvestres y 8 domésticas), las cuales se indican en la Tabla # 2. Se trabajó con especímenes de la colección de referencia del LENAP y con material procedente de intercambios con Laboratorios de otros países. A cada individuo se le asignó un código que permitió identificarlo y conocer su procedencia. La variación intraespecie se estudió en función de las mediciones realizadas en las cabezas de estos insectos, ya que son estructuras duras que se conservan en buen estado, además, en estudios morfométricos realizados tanto en el LENAP como a nivel internacional se ha encontrado que son un buen parámetro de diferenciación de poblaciones de chinches. Las asimetrías se analizaron en función de las mediciones realizadas en las alas, ya que estas son estructuras bilaterales utilizadas por estos insectos para su locomoción, por lo cual nos pueden dar información sobre la capacidad de movimiento de las poblaciones. Por ser una comparación, el presente estudio es descriptivo, y no está a prueba ninguna hipótesis estadística.

7.3 Universo de estudio, selección y tamaño de muestra.

El universo de estudio estuvo constituido por individuos de *Triatoma dimidiata* de México, Centro América y Colombia, según se indica en la Tabla # 2:

Tabla # 2. Procedencia y tamaño de las muestras.

País	Departamento	Localidad	Ecotopo	Cabezas		Alas	
				Hembras	Machos	Hembras	Machos
México	Veracruz	Tuxpan ¹	Domiciliar	24	25	20	20
México	Yucatán ¹		Silvestre	7	8	5	8
Guatemala	Jutiapa	Quezada y San José Acatempa ²	Domiciliar	25	49	13	18
Guatemala	Quiché	Varios Municipios ²	Domiciliar	14	29	14	17
Guatemala	Petén	Yaxjá ²	Silvestre	21	24	20	20
Guatemala	Alta Verapaz	Cahabón ²	Domiciliar	15	15	14	14
Guatemala	Alta Verapaz	Tucurú ²	Domiciliar	6	11	5	10
Guatemala	Alta Verapaz	Lanquín ²	Silvestre	7	7	6	6
El Salvador	Santa Ana	La Primavera ²		7	19	6	18
Honduras	Yoro	Varios Municipios ³	Domiciliar	14	24	xxx	xxx
Nicaragua	Matagalpa	San Ramón ⁴	Domiciliar	14	23	14	20
Nicaragua	Masaya	Masatepe ⁴	Domiciliar	39	48	20	20
Nicaragua	Masaya	Nindiri ⁴	Silvestre	12	19	12	19
Colombia	Boyacá	Boavita ⁵	Domiciliar	20	23	xxx	xxx

¹ Paz María Salazar-Schettino y Gloria Rojas, Laboratorio de Biología de Parásitos, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de México.

² Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología, Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

³ Médicos Sin Fronteras, Honduras.

⁴ Dra. Francisca Marín, Ministerio de Salud de Nicaragua.

⁵ Dr. Néstor Pinto, Centro de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

Selección y tamaño de muestra: La muestra se seleccionó a conveniencia, de acuerdo a los individuos con los que se contaba o estaban a disposición del Laboratorio y de la importancia de las poblaciones. Idealmente, los grupos debían tener el doble de individuos que de variables medidas en el Análisis Discriminante, para el caso de la morfometría tradicional. En estudios realizados en el LENAP, se han utilizado 5 variables para este análisis, obteniendo buenos resultados por lo que el número mínimo de individuos que se requería era de 10 adultos de cada sexo ya que estos se analizaron por separado (En las poblaciones de Lanquín, Tucurú, Santa Ana y Yucatán, no se contó con el número requerido de individuos, ya que son especímenes difíciles de encontrar, pero dada su importancia se tomaron en cuenta para los análisis). Se utilizaron adultos ya que los análisis se hacen en base a un mismo grupo etario y se trabajó por separado machos y hembras, debido a que presentan dimorfismo sexual. Las poblaciones que fueron incluidas en los análisis, se seleccionaron a conveniencia, ya que debían contar con el tamaño de muestra necesario y estar a disposición del investigador, también se seleccionaron en base al ecotopo del que provenían.

7.4 Preparación del material

A cada insecto le fue removida la cabeza con ayuda de pinzas de disección, y luego se montaron en alfileres fijándolas con esmalte de uñas utilizando triángulos de acetato para colocar las cabezas. En un triángulo de papel bond se colocó la identificación de cada muestra.

En el caso de las alas, fueron removidas las alas mesotorácicas (Hemélitras) de cada insecto, con la ayuda de tijeras de disección, se montaron entre porta y cubreobjetos utilizando como medio la solución de Hoyer (Borror *et al.* 1989). Cada lámina contó con su respectiva identificación.

7.5 Datos morfométricos

Para la colecta de los datos morfométricos el procedimiento se realizó por completo por el investigador para evitar sesgos. Las imágenes de las cabezas y alas fueron captadas utilizando un sistema de video (Cámara Olympus OLY-750, conectada a un estereoscopio Olympus SZ-ST5). Las imágenes captadas por el video se transmitieron a una computadora y fueron captadas por medio del software Video Highway Xtreme (AIMS Lab, Inc. 1997).

Por medio del programa tpsDig® (Rohlf 2001) para analizar imágenes, se obtuvieron las coordenadas de 14 puntos de la cabeza de cada individuo (ver Figura # 3) y las coordenadas de 9 puntos de las alas (ver Figura # 4), a partir de los cuales se obtuvieron las mediciones

morfométricas. En el caso de las alas, en las poblaciones con las que se contó con un número de muestra mayor a 15, se midió dos veces cada ala, mientras que las poblaciones que tenían un número menor o igual a 15 se midieron tres veces, según los requerimientos del análisis.

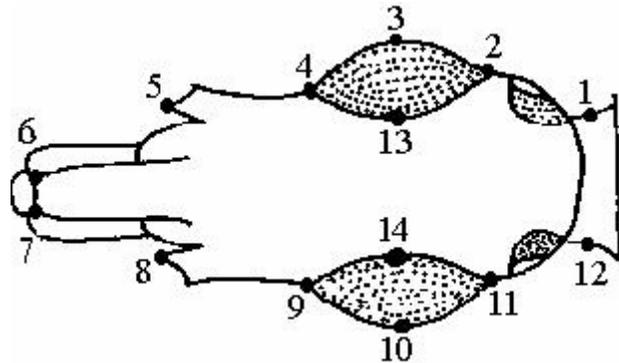


Figura # 3. Esquema de la cabeza de *Triatoma dimidiata* con los 14 puntos con los cuales se calcularon las distancias.

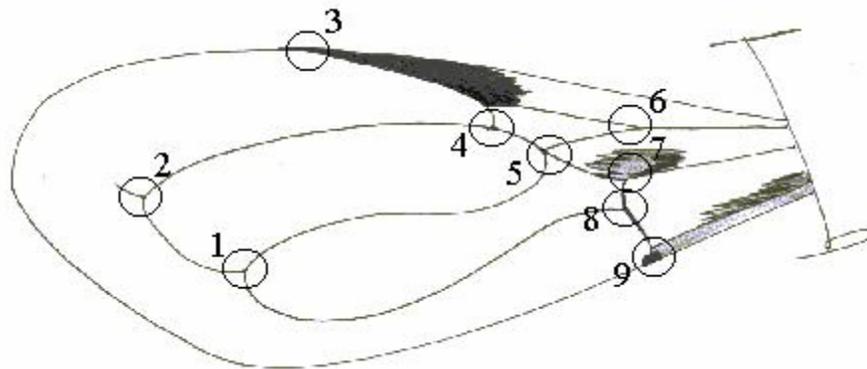


Figura # 4. Esquema del ala de *Triatoma dimidiata* con los 9 puntos tomados.

7.6 Plan de análisis de los resultados de Morfometría Tradicional

Para la Morfometría Tradicional se utilizaron dos aproximaciones para analizar los datos: análisis libre de isometría y análisis libre de alometría.

El primer método es el de *Mossiman* y también se denomina *Análisis de la Conformación* (1970, citado por Dujardin 2000) o *Análisis libre de tamaño isométrico* (Jaramillo & Dujardin, 2002), el cual indica que la conformación *C* puede ser definida de la siguiente manera:

$$C = X/T$$

donde X es un conjunto de distancias entre puntos, y T es una variable de tamaño global. Si esta ecuación se transforma en logaritmos obtenemos:

$$\log C = \log (X/T) = \log X - \log T$$

Las distancias entre los puntos se calcularon por medio del Teorema de Pitágoras y luego se transformaron en sus logaritmos, se utilizaron un total de 91 distancias que correspondían a todas las distancias posibles entre los catorce puntos tomados en las cabezas, para esto se utilizó un programa especial de computadora realizado por Jean Pierre Dujardin. De esta forma fue posible obtener *variables de conformación o variables libres de tamaño isométrico* (logC) al transformar en logaritmo los valores de las distancias que se midieron y restarles el valor de la variable de tamaño global, denominada *tamaño isométrico* (promedio de las mediciones de cada individuo).

Las variables de conformación fueron luego sometidas a un análisis de componentes principales (ACP), debido a que después de retirar el tamaño isométrico se perdió un grado de libertad, ya que la suma de los valores de las variables de conformación para un individuo siempre suma cero (Dujardin, 2000).

Los primeros 10 componentes principales que contribuían con al menos el 85% de la variación pasaron a denominarse *componentes de conformación o variables libres de isometría* y se utilizaron como datos en un análisis discriminante. Los individuos fueron proyectados en diagramas sobre los factores discriminantes para examinar la diferenciación de los grupos.

Todos los análisis discriminantes realizados se acompañaron de un test de significancia que indica que tan separadas están las medias (centroides) de los grupos después de la discriminación. El estadístico *Wilks' Lambda* se utilizó para probar la hipótesis que las medias de los grupos (centroides) son iguales. Lambda tiene valores entre 0 y 1, valores pequeños indican fuertes diferencias entre grupos, valores cercanos a 1, no hay diferencias (SPSS® Base 10.0 Applications Guide 1999). Los análisis también estuvieron acompañados del estadístico *Kappa (K)*, el cual proporciona una medición del acuerdo entre la clasificación original de los insectos en grupos, y la reclasificación producida por el ACD, es decir que cuando un individuo o caso es asignado en categorías por distintos medios, el investigador quiere saber si las asignaciones están completamente en acuerdo entre sí, o si las asignaciones no muestran acuerdo y parecen ser al azar.

(SPSS 1999, Siegel & Castellan 1988). Kappa tiene valores entre 0 y 1. Valores entre 0 y 0.20 indican una concordancia leve (cercana al azar); entre 0.21 y 0.40, regular; entre 0.41 y 0.60, moderada; entre 0.61 y 0.80, sustancial y mayor de 0.80, casi perfecta (Landis y Koch 1977, citado en Pinto Soares et al 1999).

En el caso de los Análisis Libre de Isometría, se acompañaron por el resultado de una regresión del factor discriminante 1 en el tamaño isométrico, para calcular el residuo alométrico de la corrección del tamaño.

Para evaluar el efecto de la procedencia geográfica y el ecotopo en la morfometría de las poblaciones, en ambos casos se realizaron varios análisis en el siguiente orden:

1. Análisis general que incluye las 14 poblaciones del estudio y dos especies como out groups (Se utilizaron como out groups a *Triatoma nitida* del complejo Protracta y *Triatoma mexicana* del complejo Phyllosoma, mismo al que pertenece *Triatoma dimidiata*; con el fin de observar la posición de las poblaciones estudiadas, las cuales han sido identificadas como *Triatoma dimidiata* por medio del uso de claves taxonómicas para Triatominos).
2. Análisis de las 14 poblaciones del estudio (Para observar el comportamiento de las poblaciones domésticas y silvestres)
3. Análisis de las Poblaciones sin Lanquín ni Boyacá (Para ampliar el espacio morfométrico y poder observar mejor el comportamiento de las poblaciones).
4. Análisis de las poblaciones domésticas sin Boyacá (Para observar si había diferencia entre las poblaciones domésticas del norte y las de Centroamérica).
5. Análisis de las poblaciones domésticas de Centro América (Para observar el comportamiento de las poblaciones domésticas de Centro América).
6. Análisis de las 4 poblaciones silvestres (Para observar el comportamiento de las poblaciones de acuerdo al ecotopo silvestre y para corroborar la posición de Lanquín).
7. Análisis de las poblaciones silvestres sin Lanquín (para observar las relaciones entre poblaciones silvestres).

El segundo método es El *análisis libre de alometría* (Dujardin 2000), el cual aplica el método propuesto por *Klingenberg* (1996) para la corrección del tamaño e indica que la eliminación del efecto del crecimiento implícito en los datos multivariados (tamaño) se logra proyectando los puntos de datos sobre un espacio que es ortogonal al vector de crecimiento. El vector de crecimiento

será el primer componente principal común (CPC1) derivado de un análisis de componentes principales comunes (ACPC). El resto de componentes son considerados como representaciones de aspectos significativos de la forma ó *variables libres de tamaño alométrico*, y pueden ser utilizados como datos en un análisis discriminante.

Ya que el grupo más pequeño fue de 6 individuos, en este análisis se utilizaron 5 variables que representaban la configuración general de la cabeza (Largo y ancho). Las variables utilizadas se obtuvieron de las coordenadas x,y de los puntos, utilizando el Teorema de Pitágoras y corresponden al largo total, distancia entre los puntos medios 1-12 y 6-7; Post-ocular, distancia entre 1-2; largo tubérculo antenífero, distancia entre 4-5; distancia externa entre los ojos, distancia entre 3-10; y distancia interna entre los ojos, distancia entre 13-14. (Ver figura 3). Posteriormente las distancias se transformaron a logaritmos para poder ser analizadas.

Para que este método pudiera ser aplicado a un conjunto de variables, en primer lugar se probó la compatibilidad de los datos con el modelo de un eje alométrico común, es decir, el modelo de los componentes principales comunes (Dujardin & Le Pont, 2000) por medio de una prueba de Chi cuadrado (X^2) de bondad de ajuste. Muchas veces cuando se analizan poblaciones muy diferentes, rara vez siguen el modelo requerido, además que este análisis es muy riguroso en cuanto al número de variables que pueden ser utilizadas para el análisis, ya que se recomienda usar la mitad del número de individuos del grupo más pequeño que va a ser analizado. Para esto, en los casos en que el conjunto de variables seleccionado no siguió el modelo necesario se probó un máximo de 5 combinaciones de 4 variables, y cuando dos a más combinaciones siguieron el modelo, se eligió para el análisis el conjunto que mejor lo seguía (mayor valor de p). En los casos en que ningún juego de variables siguió el modelo se realizó únicamente el primer análisis. En los casos seleccionados que siguieron el modelo de eje alométrico común, se obtuvieron cuatro componentes principales comunes. Los componentes 2, 3 y 4 fueron utilizados como variables libres de alometría en un análisis discriminante.

7.7 Plan de análisis de los resultados de Asimetrías

Para el presente estudio, se aplicó un análisis de asimetrías propuesto por Palmer & Strobeck (1986), a 12 poblaciones de *Triatoma dimidiata* (ver Tabla 2). Éste es un análisis compacto y poderoso, que corresponde a un análisis de varianza (ANOVA) con el cual se examinó

la contribución a la variación total de las diferencias entre individuos, entre lados (asimetría direccional), entre lados según los individuos (asimetría no direccional) y entre mediciones (error de medición).

Con este análisis, cada contribución se consideró separadamente y tuvo su nivel de significancia estadística. El error de medición se evaluó sobre la totalidad de los individuos estudiados. Además se realizaron tres mediciones en los grupos que tenía 15 ó menos individuos de acuerdo a lo recomendado por Moller & Swaddle (1997), mientras que para los grupos con número de muestra mayor, se realizaron únicamente dos mediciones.

Las Asimetrías se evaluaron sobre las 36 distancias posibles entre los nueve puntos tomados en las alas de los insectos. Las distancias se calcularon utilizando el programa TETwin de Jean Pierre Dujardin, el cual a la vez las transformó en logaritmos, ya que esta transformación permite: 1) acercarse a la distribución normal, 2) homogeneizar las varianzas, 3) comparar diferencias proporcionales en vez de diferencias absolutas y preservar alometrías (Jaramillo, 2000)

Para realizar este análisis de varianza, se ingresaron los datos en una tabla de la manera siguiente:

Columna 1: individuos

Columna 2: medición (1 para la primera medición, 2 para la segunda)

Columna 3: Lado (1 para la izquierda, 2 para la derecha)

Columnas siguientes: caracteres utilizados (valores de las 36 distancias).

Por medio de un ANOVA de dos vías se compararon los siguientes factores para cada grupo por separado: lado, individuo, interacción lado*individuo. Si existe una interacción lado*individuo, se concluye asimetría no direccional; si no existe interacción y hay un efecto significativo del lado, se concluye asimetría direccional.

En el caso de la asimetría no direccional, se realizó una prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov para examinar la distribución de las diferencias izquierda-derecha, tomando en cuenta el signo de las mismas. Únicamente en el caso de Jutiapa se rechazó la hipótesis de normalidad y se detectó la presencia de Antisimetría en dos variables; en el resto de los casos las diferencias se atribuyen a Asimetría Fluctuante –AF- (Jaramillo, 2000).

Debido a que, aunque la Asimetría Fluctuante no sea significativa siempre existe un valor de ésta que no debe descartarse ya que no existe suficiente evidencia para rechazarlo, se obtuvieron índices de Asimetría Fluctuante para las 36 variables. Se calcularon en base a los cuadrados promediados por el número de grados de libertad corregidos por los errores de medición, ambos obtenidos en el ANOVA, para cada variable y luego este valor dividido por el número de mediciones repetidas de acuerdo a cada población. Los índices de hembras y machos dentro de cada grupo se compararon utilizando la prueba no paramétrica de Comparación por Parejas, la cual utiliza las diferencias de signo (Daniel, 1999).

7.8 Presentación de Resultados

Debido a que las diferencias entre hembras y machos fueron grandes, las comparaciones entre ecotopos se realizaron individualmente para cada sexo, esta comparación se realizó por medio de la prueba no paramétrica Test U de Mann Whitney, la cual se basa en los rangos de las observaciones y su objetivo es probar si dos muestras independientes pertenecen a la misma población (Daniel, 1999; SPSS Inc., 1999). Con esta prueba se observó si existían diferencias significativas entre las variables de acuerdo al ecotopo.

Para presentar gráficamente los resultados de los análisis libres de isometría, se realizaron scatter plot (gráficas de dispersión) para representar los grupos en los dos primeros factores discriminantes producidos en los análisis. Para los resultados, tanto de los análisis libres de isometría como de alometría, se realizaron dendrogramas por medio de un análisis de cluster jerárquico, utilizando los promedios de los factores discriminantes obtenidos en los análisis, y calculando las distancias euclidianas entre poblaciones.

7.9 Programas de computadora

Calculo de las distancias y transformación a logaritmos: TETwin, Jean Pier Dujardin.

Análisis de Componentes Principales, Análisis Discriminante, Análisis de Varianza y Test U de Mann Whitney: Programa SPSS for Windows 10.1 (SPSS Inc. 1999).

Análisis de componentes principales comunes: Programa NTSys pc 2.02j (Applied Bioestistics Inc. 1998).

8. RESULTADOS

8.1 Morfometría Tradicional.

8.1.1. Análisis Libres de Isometría.

En este análisis se trabajó con las cabezas de los insectos hembras y machos por separado, debido al dimorfismo sexual que presentan. Para realizar los análisis se incluyeron, además de las 14 poblaciones estudiadas, dos grupos externos, los cuales correspondieron a *Triatoma nitida* (Guatemala) y *Triatoma mexicana*, con el fin de reducir el espacio morfométrico y de esta manera las diferencias intraespecie, para poder observar el comportamiento de las poblaciones.

Se realizaron 7 distintos análisis, tanto en hembras como en machos, a partir de las poblaciones iniciales. La descripción de éstos se muestra en la sección 7.6. Los resultados obtenidos en estos análisis se presentan en las figuras 5-11 y la tabla 3. Las figuras 5 y 6 muestran los resultados del análisis general donde se incluyeron las 14 poblaciones de *Triatoma dimidiata* y los dos grupos externos tanto para hembras como para machos, el dendrograma se obtuvo por medio de un Bootstrapping a partir de 100 matrices, y nos muestra la agrupación más frecuente que presentaron las muestras. En las figuras 7 y 8 se muestran los análisis más específicos que se fueron realizando para permitir visualizar mejor las relaciones entre las poblaciones, las figuras están construidas en base a los factores discriminantes 1 y 2, mientras que en las figuras 9, 10 y 11 se muestran los dendrogramas correspondientes a cada uno de los análisis, pero estos construidos con el total de factores discriminantes producidos, es decir, con el 100 % de la información.

La tabla 3 muestra los valores de los estadísticos Wilk's Lambda y Kappa, así como la significancia de éstos. Muestra también el porcentaje de información de los primeros 10 componentes principales producidos en un análisis de componentes principales, los cuales se utilizaron para realizar los análisis discriminantes; el porcentaje de contribución de los dos primeros factores discriminantes sobre los cuales se elaboraron las gráficas, el porcentaje de reclasificación producido en el análisis y el residuo alométrico de los factores.

En las figuras 5 y 6 se puede observar que en ambos casos el grupo externo *T. nitida* se diferencia completamente de los demás grupos estudiados, sin embargo el otro grupo externo que corresponde a *T. mexicana* se encuentra claramente separado en las hembras, pero no así en los

machos, en los cuales se traslapa con el grupo doméstico de Centroamérica y la población silvestres de Yucatán.

Las poblaciones de Lanquín (Silvestre de Guatemala) y Boyacá (doméstica de Colombia), ambas identificadas como *Triatoma dimidiata* en base a las claves taxonómicas de Lent & Wygodzinsky, se diferencian claramente del resto de poblaciones de la misma especie, tanto en hembras como en machos.

La población de Yucatán tiende a diferenciarse de las demás poblaciones aunque presenta un pequeño traslape con la población de Tuxpan (domésticas de Veracruz, México) tanto para hembras como para machos y con la población de Yaxjá (silvestre del norte de Guatemala) en las hembras, pero no así en los machos donde se encuentra más asociada a *T. mexicana*.

En los dendrogramas se puede observar que las relaciones entre las poblaciones de las hembras son más estables que en los machos, es decir que se mantiene una mejor relación de acuerdo a la procedencia geográfica, y se observan tres grupos principales entre los que destaca la clara separación de las poblaciones de Lanquín y Boyacá con valores arriba de 50 en ambos sexos. La población de Yucatán varía de un sexo a otro, ubicándose en los machos con *T. mexicana* y en las hembras con las poblaciones del norte (península de Yucatán) Tuxpan y Yaxjá, las cuales forman otro grupo importante en ambos casos. Las poblaciones de Centroamérica tienden a formar un solo grupo bastante estable en las hembras con valores relativamente más altos que en los machos.

Guía de Códigos, Abreviaturas y Colores para la interpretación de los resultados de Morfometría Tradicional.

Guía de colores para las gráficas de los análisis E, F, G y H.

 Tuxpan	 Cahabón	 Tukurú	 Yoro	 Quiché
 Masatepe	 La Primavera	 San Ramón	 Jutiapa	

Conjuntos de Variables, Análisis Libres de Alometría (Ver figura 3).

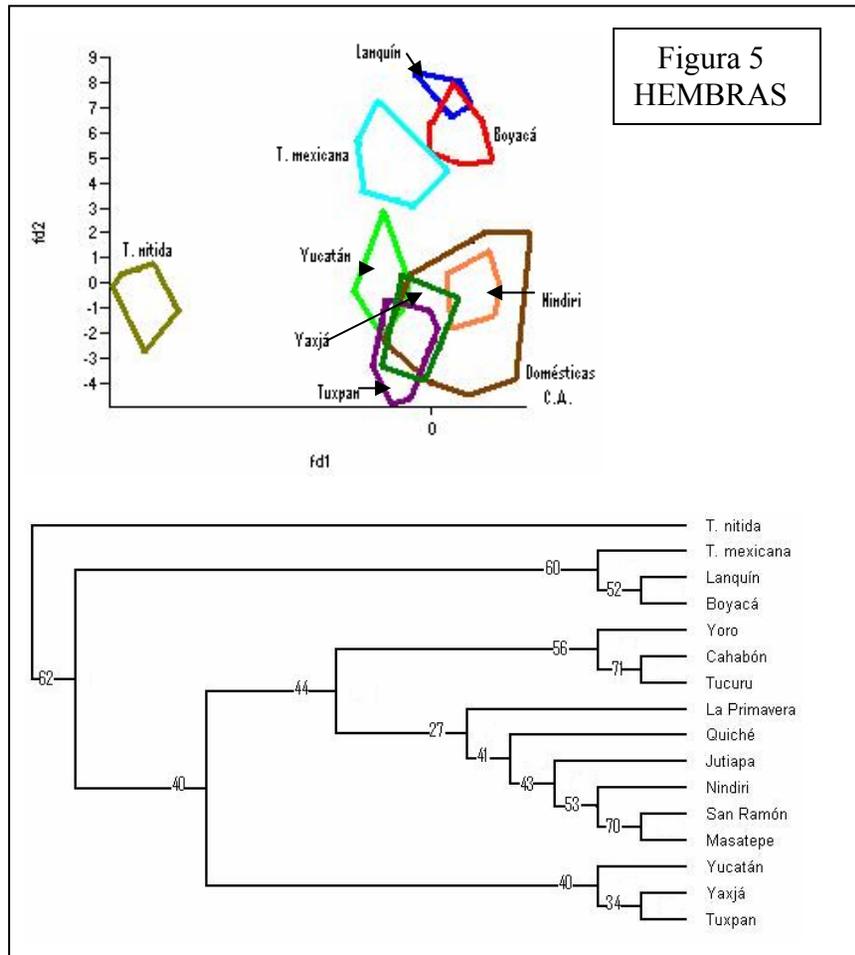
- LT: Largo total, distancia entre los puntos medios 1-12 y 6-7
- PO: Distancia post ocular, distancia entre los puntos 1-2
- TA: Largo tubérculo antenífero, distancia entre los puntos 4-5.
- EO: Distancia externa entre los ojos, distancia entre los puntos 3-10
- IO: Distancia interna entre los ojos, distancia entre los puntos 13-14

Abreviaturas de los Análisis

- AD: Análisis Discriminante
- ACP: Análisis de Componentes Principales
- ACPC: Análisis de Componentes Principales Comunes
- CP: Componentes principales
- F: Factor discriminante
- P: Significancia estadística de la prueba

Procedencia de Las muestras (Ver tabla 2)

- México: Tuxpan y Yucatán.
- Guatemala: Quiché, Jutiapa, Cahabón, Tukurú, Yaxjá y Lanquín.
- El Salvador: La Primavera.
- Honduras: Yoro.
- Nicaragua: Masatepe, Nindiri y San Ramón.
- Colombia: Boyacá.



Figuras 1 y 2. Diferencias morfométricas entre 14 poblaciones de *Triatoma dimidiata* utilizando dos grupos externos. Las gráficas están construidas en base a los dos primeros factores discriminantes producidos en un AD sobre 10 componentes principales obtenidos en un ACP sobre 91 distancias medidas en las cabezas de los insectos. Los dendrogramas están construidos en base a las distancias euclidianas obtenidas en un cluster jerárquico a partir de los factores discriminantes obtenidos en el AD (100% de la variación). Los grupos externos utilizados corresponden a *Triatoma nitida* del complejo Protracta y *Triatoma mexicana* del complejo Phyllosoma, mismo en el que generalmente se ubica a *Triatoma dimidiata*.

En las figuras 7 y 8 se presentan los resultados de los análisis únicamente utilizando las poblaciones de *Triatoma dimidiata*. Podemos observar nuevamente la clara separación de las poblaciones de Boyacá y Lanquín en las hembras, y un poco menos evidente en los machos, presentando un breve traslape con las poblaciones domésticas.

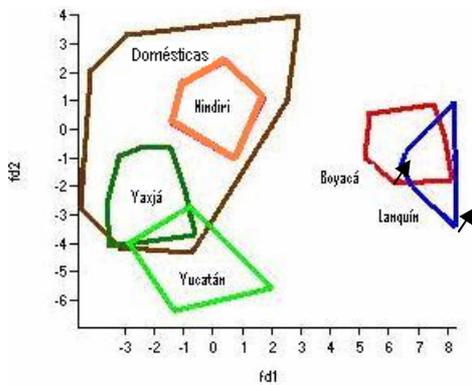
En el caso de las poblaciones domésticas, en E y F se observa que la población de Tuxpan en México se diferencia claramente de las demás poblaciones de Centroamérica, las cuales como se puede ver en estas gráficas y en G y H; forman un solo grupo, sin tendencias a diferenciarse.

Con respecto a las poblaciones silvestres, podemos ver en C y D, la tendencia de Yaxjá y Yucatán a diferenciarse de las poblaciones de Centroamérica. Al realizar los análisis únicamente con las poblaciones silvestres, podemos observar en J y L que en los machos, se diferencian perfectamente unas de otras, aún incluyendo la población de Lanquín; mientras que en las hembras, al incluir esta última, las poblaciones de Yaxjá y Yucatán (ambas ubicadas al norte, en la Península de Yucatán) se traslapan, pero al retirar este grupo, se pueden diferenciar claramente.

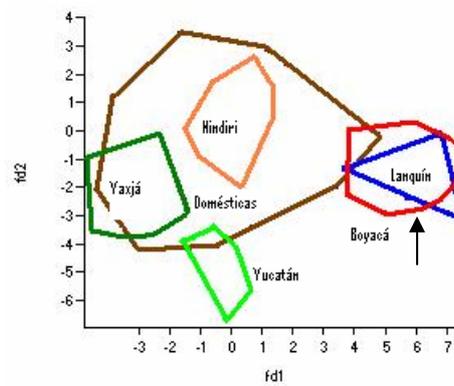
Las figuras 9, 10 y 11 permiten observar más claramente las relaciones entre las poblaciones estudiadas. Tanto en hembras como en machos, A y B, se forman 3 grupos claramente diferentes que corresponden a: Lanquín (silvestres, Guatemala) y Boyacá (doméstica, Colombia); Yaxjá (silvestres, norte de Guatemala), Yucatán (silvestre, México) y Tuxpan (Doméstica, México); las poblaciones domésticas de Centroamérica y Nindirí (silvestre, Nicaragua). En el caso de las poblaciones domésticas, la población que se separa claramente, tanto en hembras como en machos, es la de Tuxpan, México.

Análisis de las 14 poblaciones estudiadas de *Triatoma dimidiata*.

A Hembras

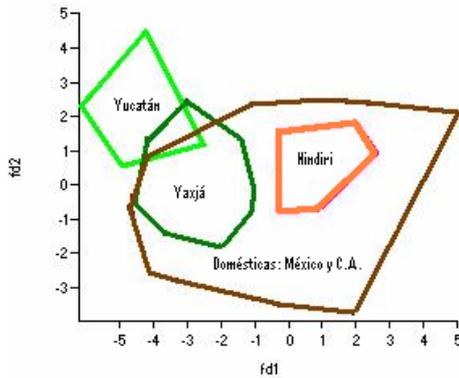


B Machos

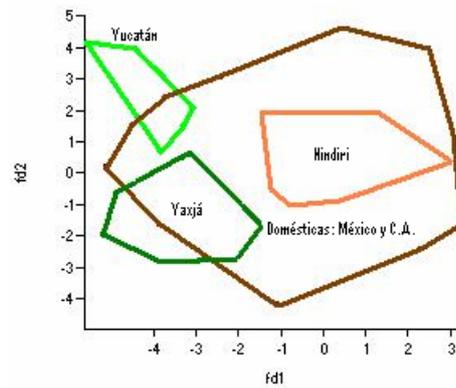


Análisis de 12 poblaciones, excluyendo Lanquín y Boyacá

C Hembras

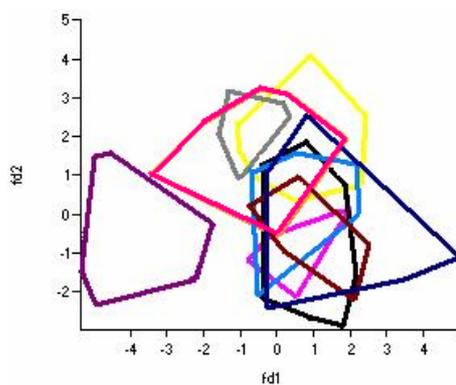


D Machos



Análisis de 9 poblaciones domésticas, excluyendo Boyacá

E Hembras



F Machos

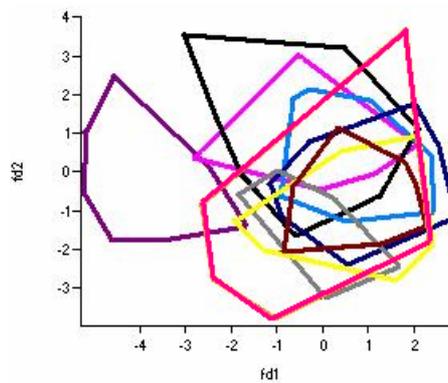
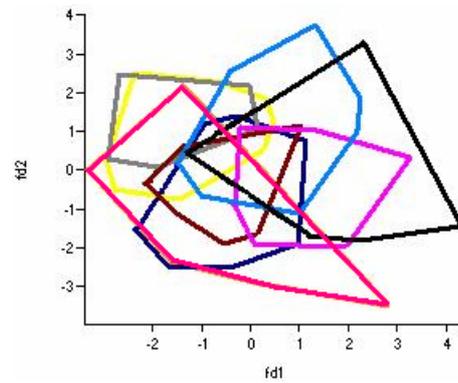
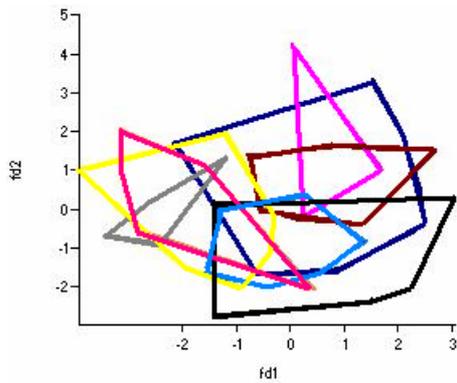


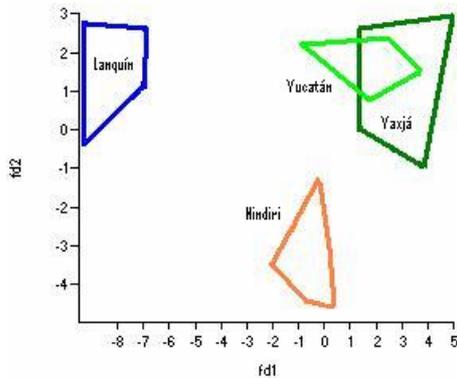
Figura 7. Diferencias morfométricas en poblaciones de *Triatoma dimidiata*, en base a un Análisis Discriminante sobre los primeros 10 componentes principales producidos en un Análisis de Componentes Principales sobre 91 distancias medidas sobre la cabeza de los insectos. En la abscisa se representa el factor discriminante 1 y en la ordenada el factor discriminante 2. Los valores de contribución de los componentes principales y los factores discriminantes se muestran en la Tabla # 3. Guía de colores en página 42.

Análisis de poblaciones domésticas de Centro América
G Hembras **H Machos**

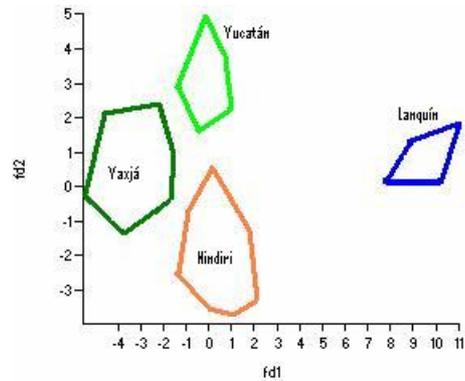


Análisis de las poblaciones silvestres

I Hembras

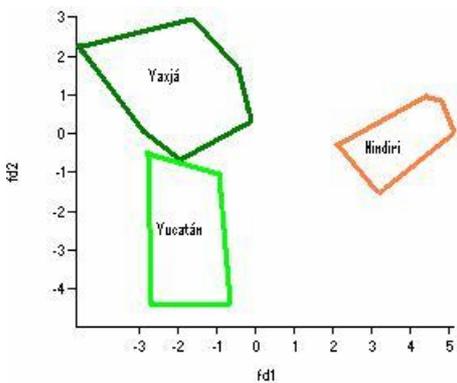


J Machos



Análisis de las poblaciones silvestres, excluyendo lanquín

K Hembras



L Machos

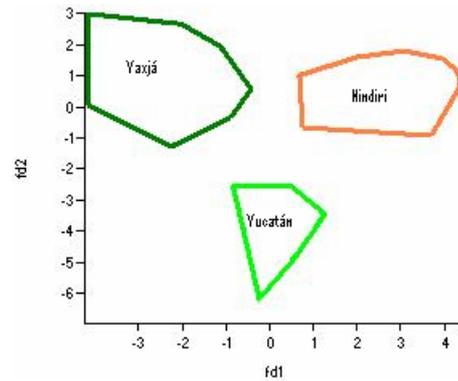
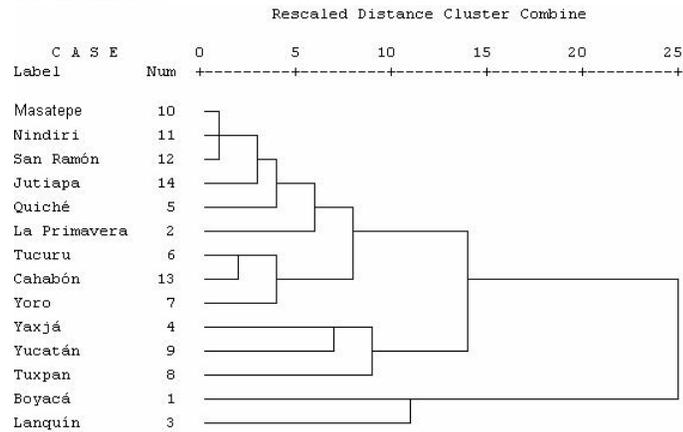


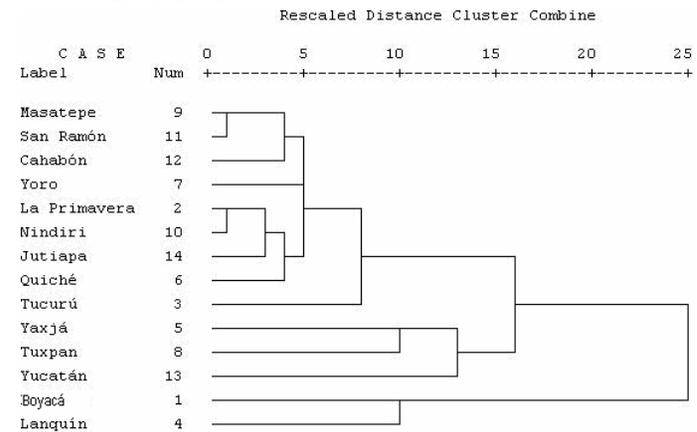
Figura 8. Diferencias morfométricas en poblaciones de *Triatoma dimidiata*, en base a un Análisis Discriminante sobre los primeros 10 componentes principales producidos en un Análisis de Componentes Principales sobre 91 distancias medidas sobre la cabeza de los insectos. En la abscisa se representa el factor discriminante 1 y en la ordenada el factor discriminante 2. Los valores de contribución de los componentes principales y los factores discriminantes se muestran en la Tabla # 3. Guía de colores en página 42.

Análisis de las 14 poblaciones estudiadas de *Triatoma dimidiata*.

A Hembras

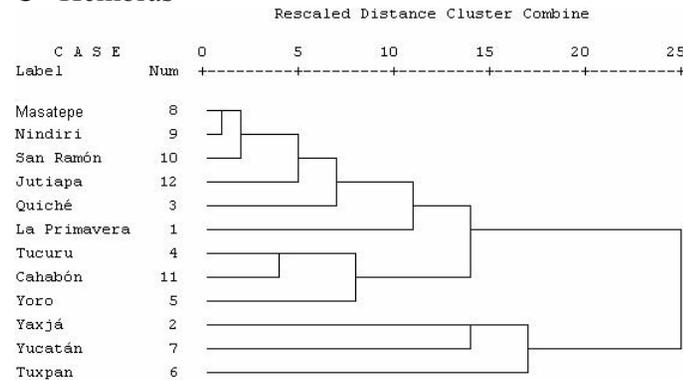


B Machos



Análisis de 12 poblaciones, excluyendo Lanquín y Boyacá

C Hembras



D Machos

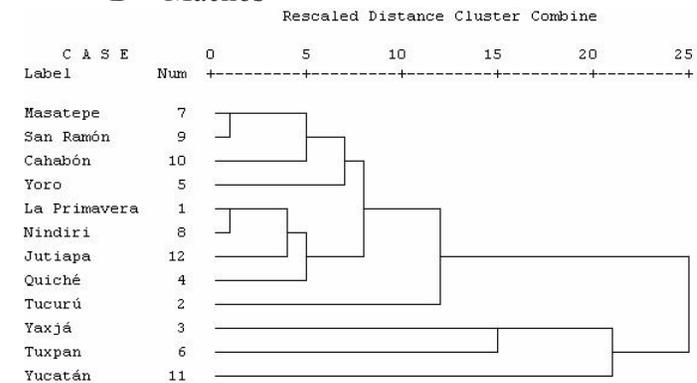
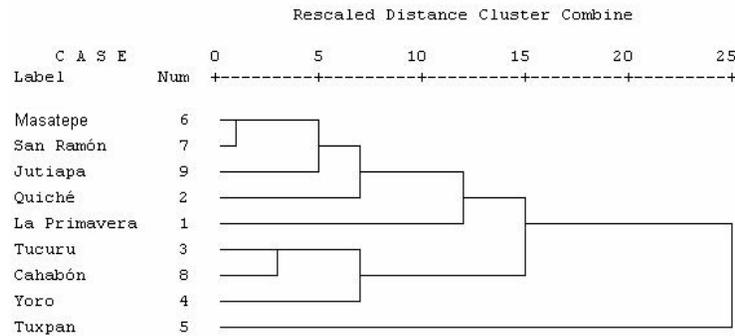


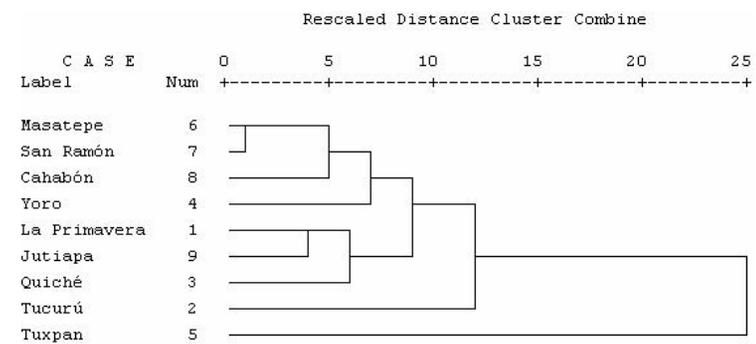
Figura 9. Análisis Libres de Isometría. Dendrogramas obtenidos por medio de un cluster jerárquico utilizando la distancia euclidiana, construidos a partir de los factores discriminantes procedentes de un análisis discriminante, representando el 100 de la información de las poblaciones.

Análisis de 9 poblaciones domésticas, excluyendo Boyacá

E Hembras

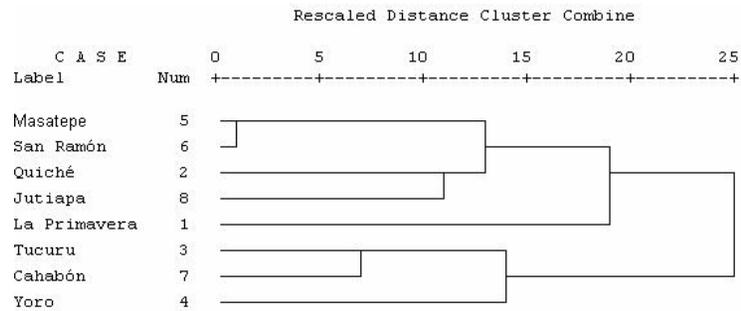


F Machos



Análisis de poblaciones domésticas de Centro América

G Hembras



H Machos

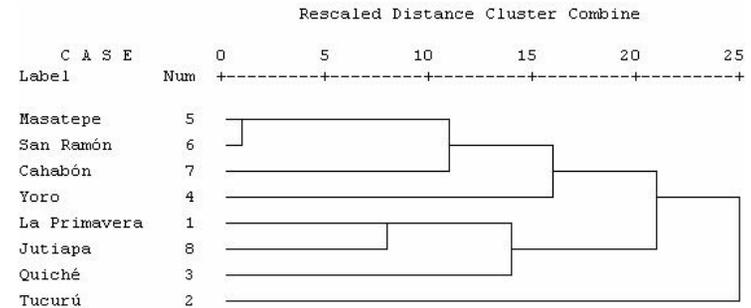
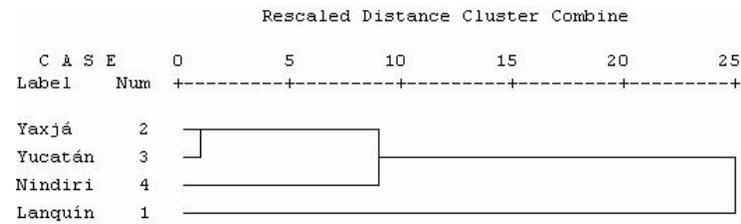


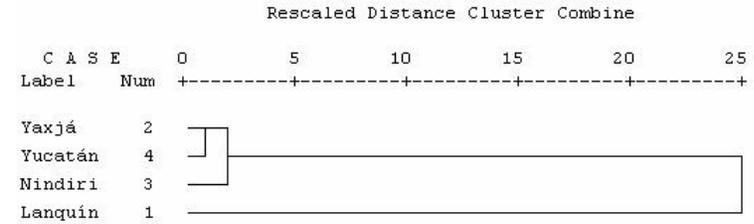
Figura 10. Análisis Libres de Isometría. Dendrogramas obtenidos por medio de un cluster jerárquico utilizando la distancia euclidiana, construidos a partir de los factores discriminantes procedentes de un análisis discriminante, representando el 100 de la información de las poblaciones.

Análisis de las poblaciones silvestres

I Hembras

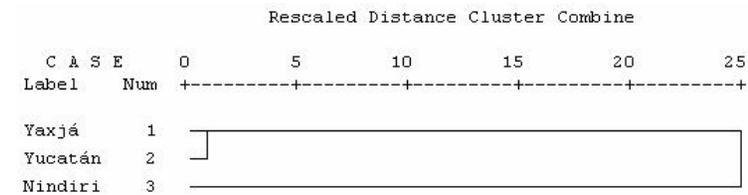


J Machos



Análisis de las poblaciones silvestres, excluyendo lanquín

K Hembras



L Machos

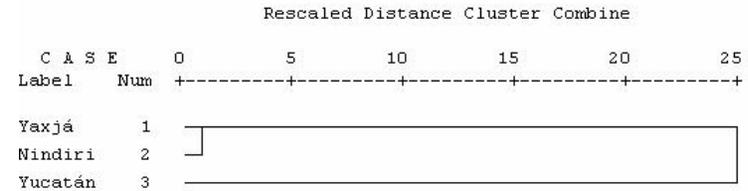


Figura 11. Análisis Libres de Isometría. Dendrogramas obtenidos por medio de un cluster jerárquico utilizando la distancia euclidiana, construidos a partir de los factores discriminantes procedentes de un análisis discriminante, representando el 100 de la información de las poblaciones.

En la tabla 3 se pueden observar los porcentajes de contribución de los primeros 10 componentes principales (CP) que se utilizaron para realizar el Análisis Discriminante, los porcentajes fueron de 88% en adelante. Se presentan también, los porcentajes de contribución de los Factores discriminantes 1 y 2, sobre los cuales están proyectadas las poblaciones en las gráficas y que indican el porcentaje de variación intragrupo.

La Tabla muestra los valores de Wilk's Lambda, el cual proporciona una prueba para la hipótesis de que las medias de los grupos son iguales, tiene valores entre 0 y 1, donde los valores pequeños indican fuertes diferencias y los cercanos a 1 que no hay diferencia. En este caso todos los valores son cercanos a cero y con una significancia de $0.00 \leq 0.05$, lo cual indica que al menos uno de los grupos es diferente. También se muestran los valores de Kappa, el cual proporciona una medición del acuerdo entre la clasificación original de los especímenes en grupos y la reclasificación producida por el Análisis Discriminante, tiene valores entre 0 y 1 (Ver en sección 7.6 de Materiales y Métodos). En este caso van de 0.450 a 1.000 con una significancia de $0.00 \leq 0.05$, indicando que la reclasificación generada por el análisis va de moderada a perfectamente diferente a una reclasificación producida al azar. La mejor reclasificación fue en el caso de los análisis de las poblaciones silvestres (casi perfecta en hembras y perfecta en machos), mientras que en el análisis de las poblaciones domésticas de Centroamérica se obtuvieron los valores más bajos (0.450 en hembras y 0.521 en machos), aunque la reclasificación fue moderadamente diferente.

Para estos análisis, se estimó el residuo alométrico de los factores 1 y 2, con el fin de observar la contribución del tamaño en la discriminación obtenida, el valor se obtuvo de la Regresión de los factores 1 y 2 en el Tamaño Isométrico, mostrándose los valores en la tabla. Se puede observar que tanto en hembras como en machos, en los análisis que incluyen las 14 poblaciones de estudio más los out-groups, y las 12 poblaciones de *Triatoma dimidiata* excluyendo Lanquín y Boyacá, la contribución del tamaño es elevada ($\geq 50\%$), al igual que en los análisis de las poblaciones silvestres de las hembras.

Tabla 3.

Análisis Libres de Isometría. Valores de los estadísticos de los Análisis de Componentes Principales y Análisis Discriminantes aplicados a poblaciones de *T. dimidiata* Machos y Hembras. A-L y abreviaturas ver anexo 3.

	Análisis	10 CP %	F1 %	F2 %	Wilk's Lambda	Sig. Wilk's	kappa	Sig. kappa	Clasificación	Reclasificación %	Residuo Alométrico %
HEMBRAS	14 poblaciones de <i>T. dimidiata</i> + out-groups	95.398	62.3	26.6	0.001	0.000	0.656	0.000	Substancial	68.1	F1: 66.76 F2: 0.14
	A: 14 poblaciones de <i>T. dimidiata</i>	93.52	61.4	24.3	0.006	0.000	0.598	0.000	Moderada	63.1	F1: 18.35 F2: 35.08
	C: 12 poblaciones de <i>T. dimidiata</i> .	89.688	59.2	17.8	0.028	0.000	0.554	0.000	Moderada	59.6	F1: 50.13 F2: 6.66
	E: Domésticas sin Boyacá	89.36	58.6	22.3	0.044	0.000	0.587	0.000	Moderada	63.9	F1: 27.98 F2: 4.77
	G: Domésticas C.A.	88.646	51.6	19.9	0.122	0.000	0.450	0.000	Moderada	53.0	F1: 0.71 F2: 0.57
	I: Silvestres	95.877	76.3	19.8	0.007	0.000	0.969	0.000	Casi perfecta	97.9	F1: 50.23 F2: 28.49
	K: Silvestres sin Lanquín	92.530	80.8	19.2	0.052	0.000	0.958	0.000	Casi perfecta	97.5	F1: 72.76 F2: 1.17
MACHOS	14 poblaciones de <i>T. dimidiata</i> + out-groups	93.817	69.2	19.2	0.002	0.000	0.615	0.000	Substancial	64.2	F1: 64.13 F2: 1.41
	B: 14 poblaciones de <i>T. dimidiata</i>	92.256	52.1	27.3	0.012	0.000	0.575	0.000	Moderada	60.9	F1: 20.01 F2: 32.52
	D: 12 poblaciones de <i>T. dimidiata</i> .	89.066	54.9	15.2	0.036	0.000	0.530	0.000	Moderada	57.2	F1: 50.16 F2: 4.72
	F: Domésticas sin Boyacá	88.467	52.5	21.5	0.076	0.000	0.575	0.000	Moderada	62.7	F1: 34.25 F2: 7.52
	H: Domésticas C.A.	87.734	43.8	22.5	0.169	0.000	0.521	0.000	Moderada	58.7	F1: 18.13 F2: 0.13
	J: Silvestres	95.966	80.6	15.1	0.007	0.000	1.000	0.000	Perfecta	100	F1: 19.95 F2: 45.90
	L: Silvestres sin Lanquín	93.740	64.5	35.5	0.046	0.000	1.000	0.000	Perfecta	100	F1: 34.64 F2: 29.11

8.1.2. Análisis Libres de Alometría.

Los Análisis se realizaron con las cabezas de hembras y machos de *Triatoma dimidiata*. Ya que este análisis se utiliza para estudios de variación intraespecífica, no se utilizaron los grupos externos, únicamente las 14 poblaciones del estudio. Los resultados se muestran en las figuras 12 y 13 y las tablas 4 y 5. En las figuras se observan los dendrogramas construidos en base a los factores discriminantes producidos en los análisis discriminantes sobre los componentes principales comunes –cpc- (excluyendo el cpc 1, que corresponde al tamaño global). No se presentan las gráficas sobre los factores discriminantes, ya que estas proporcionan la misma información de los análisis libres de isometría.

Para probar el modelo de componentes principales comunes, las 5 variables utilizadas inicialmente se eligieron con el fin de representar el largo y ancho de la cabeza de los insectos. Únicamente en el análisis realizado en las hembras a las poblaciones silvestres sin incluir Lanquín, éstas variables seleccionadas siguieron el modelo, por lo que en los demás casos se probaron las 5 diferentes combinaciones posibles de 4 variables, a partir del conjunto inicial.

Al analizarse las 14 poblaciones propuestas en el estudio, ninguna de las combinaciones siguió el modelo, tanto en hembras como en machos. En el caso de las hembras, en los análisis restantes, con excepción del realizado a las poblaciones domésticas de Centroamérica, una o más combinaciones siguieron el modelo ($p \geq 0.05$); mientras que en los machos, únicamente siguieron el modelo en los análisis de las poblaciones silvestres con y sin Lanquín. Cuando dos o más conjuntos siguieron el modelo, se seleccionó para trabajar, el que mejor seguía el modelo, es decir, el que presentaba mayor valor de p (ver tabla 4).

La tabla 5 muestra los porcentajes de contribución de los factores discriminantes 1 y 2, los valores de Wilk's Lambda, los cuales son cercanos a 0.00 y con valores de $p \leq 0.05$, lo cual indica que al menos uno de los grupos es diferente de los otros. De igual forma, se muestran los valores de Kappa con valores de $p \leq 0.05$ en todos los casos, los cuales nos indican que las clasificaciones van de Moderadas a casi perfectamente diferentes del azar.

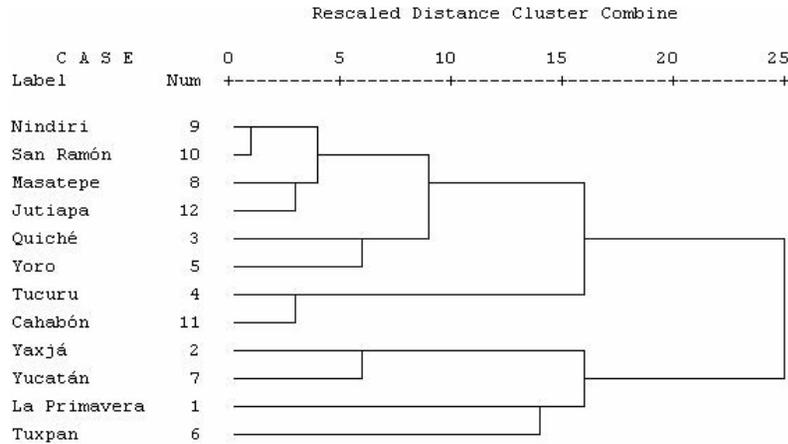
En la figura 12 se puede observar en C, la formación de dos grupos, uno que incluye las poblaciones del norte: Yucatán, Yaxjá y Tuxpan, además de la población de La Primavera de El Salvador; y el segundo grupo que incluye a las poblaciones restantes de Centroamérica. Dentro del

segundo grupo, se puede observar la similitud entre las poblaciones de Nicaragua (Nindiri, San Ramón y Masatepe), así como en las de Alta Verapaz, Guatemala (Tucurú, Cahabón).

En el caso de las poblaciones silvestres podemos observar que tanto en hembras (I, K) como en machos (J, L), se pueden diferenciar las poblaciones silvestres del norte, Yaxjá y Yucatán, de la silvestre de Nicaragua (Nindiri), aún incluyendo la población de Lanquín, la cual como observamos en los análisis libres de isometría, presenta fuertes diferencias con respecto al resto de poblaciones de *Triatoma dimidiata*.

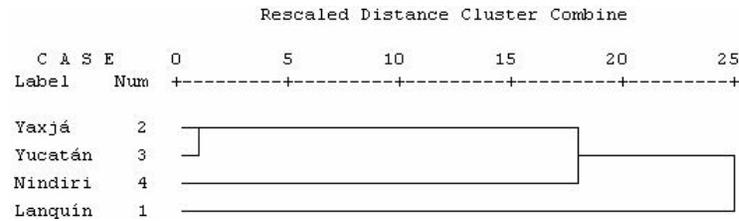
Análisis de 12 poblaciones, excluyendo Lanquín y Boyacá

C Hembras



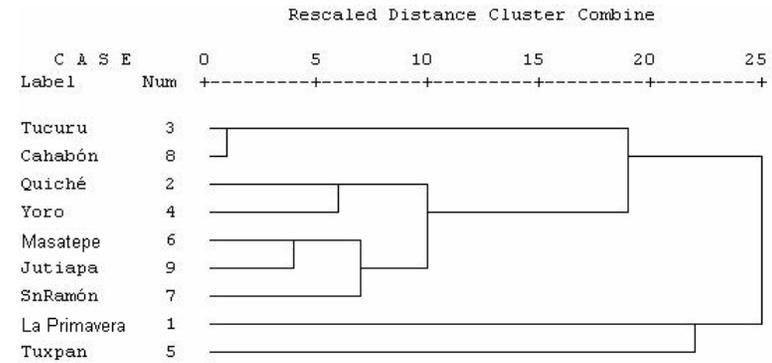
Análisis de poblaciones silvestres

I Hembras



Análisis de 9 poblaciones domésticas, excluyendo Boyacá

E Hembras



Análisis de poblaciones silvestres, excluyendo Lanquín

K Hembras

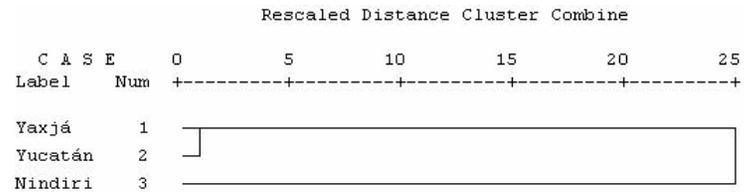
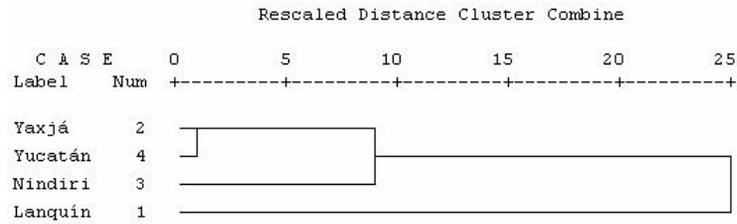


Figura 12. Análisis Libres de Alometría. Dendrogramas obtenidos por medio de un cluster jerárquico utilizando la distancia euclidiana, construidos a partir de los factores discriminantes procedentes de un análisis discriminante, representando el 100 de la información de las poblaciones.

Análisis de poblaciones silvestres

J Machos



Análisis de poblaciones silvestres, excluyendo Lanquín

L Machos

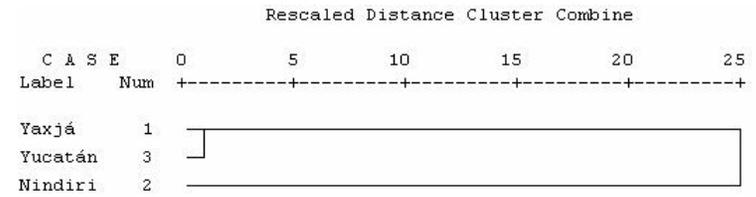


Figura 13. Análisis Libres de Alometría. Dendrogramas obtenidos por medio de un cluster jerárquico utilizando la distancia euclidiana, construidos a partir de los factores discriminantes procedentes de un análisis discriminante, representando el 100 de la información de las poblaciones.

Tabla 4.

Prueba de homogeneidad de X^2 para estimar la concordancia de los datos con el modelo de Componentes Principales Comunes. Valores de $p \leq 0.05$ rechazan la hipótesis nula de que los datos siguen el modelo. Descripción A-L ver anexo 3.

		Conjuntos de Variables (Ver descripción en página)					
		LT/PO/TA/EO/IO	LT/PO/TA/EO	IO/PO/TA/EO	LT/TA/EO/IO	LT/PO/EO/IO	LT/PO/TA/IO
HEMBRAS	A: 14 poblaciones de <i>T. dimidiata</i>	X	X	X	X	X	X
	C: 12 poblaciones de <i>T. dimidiata</i> .	X	X	X	X2: 85.03462 P: 0.05744	X	X
	E: Domésticas sin Boyacá	X	X	X	X2: 62.83658 P: 0.07381	X2: 60.35816 P: 0.10867	X
	G: Domésticas C.A.	X	X	X	X	X	X
	I: Silvestres	X	X2: 26.32649 P: 0.09252	X2: 24.21737 P: 0.14803	X2: 15.30069 P: 0.64123	X2: 16.48738 P: 0.55857	X2: 20.30405 P: 0.31596
	K: Silvestres sin Lanquín	X2: 30.21737 P: 0.06641					
MACHOS	B: 14 poblaciones de <i>T. dimidiata</i>	X	X	X	X	X	X
	D: 12 poblaciones de <i>T. dimidiata</i> .	X	X	X	X	X	X
	F: Domésticas sin Boyacá	X	X	X	X	X	X
	H: Domésticas C.A.	X	X	X	X	X	X
	J: Silvestres	X	X	X	X	X2: 23.69336 P: 0.16533	X2: 19.50725 P: 0.36123
	L: Silvestres sin Lanquín	X	X	X2: 17.33686 P: 0.13736	X	X2: 12.74949 P: 0.38751	X2: 16.83615 P: 0.15587

Tabla 5.

Análisis libres de Alometría. Estadísticos de los Análisis Discriminantes aplicados a poblaciones de *Triatoma dimidiata* Hembras y Machos. C-L y abreviaturas ver descripción en anexo 3.

	Análisis	F1 %	F2 %	Wilk's Lambda	p	kappa	p	Clasificación	Reclasificación %
Hembras	C: 12 poblaciones de <i>T. dimidiata</i> .	75.3	17.8	0.089	0.000	0.442	0.000	Moderada	49.5
	E: Domésticas sin Boyacá	69.5	26.9	0.154	0.000	0.404	0.000	Moderada	47.5
	I: Silvestres	78.8	21.2	0.037	0.000	0.762	0.000	Sustancial	83.0
	K: Silvestres sin Lanquín	96.9	3.1	0.148	0.000	0.759	0.000	Sustancial	85.0
Machos	J: Silvestres	85.9	13.8	0.033	0.000	0.899	0.000	Casi perfecta	93.1
	L: Silvestres sin Lanquín	88.3	11.7	0.078	0.000	0.872	0.000	Casi perfecta	92.2

8.2 Asimetrías Morfométricas

Para estudiar las asimetrías se trabajó con las 36 distancias posibles, obtenidas a partir de los nueve puntos tomados en las alas de hembras y machos de 12 poblaciones de *Triatoma dimidiata* (ver figura 4 y Tabla 2). Los resultados se muestran en las tablas 6-9.

Los análisis se realizaron por separado tanto para cada población como para cada sexo, ya que las poblaciones provienen de diferentes hábitats y en el caso de los sexos, era necesario considerar la existencia de dimorfismo sexual.

Los índices de asimetría Fluctuante así como los resultados de los valores de significancia obtenidos en el ANOVA, para detectar el tipo de asimetría presente en cada carácter (Simetría-S-, Asimetría Direccional –AD- y Asimetría No Direccional –AND-), así como la significancia de la prueba de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov, aplicada a aquellas variables que presentaron AND para determinar si correspondían a la presencia de Asimetría Fluctuante –AF- o Antisimetría, se muestran en los anexos 3 y 4 respectivamente.

En la Tabla 6 A, se muestra la cantidad de caracteres con cada tipo de asimetría presentes en las poblaciones estudiadas, nótese el número de caracteres simétricos presentes en hembras y machos. En este caso se tomaron en cuenta todas las poblaciones sin importar el número de muestras, ya que no se encontró reportado un número mínimo recomendado para realizar el estudio. Sin embargo, en la Tabla 6 B, se muestra el número de caracteres obtenidos al retirar las poblaciones que tenían un número de muestra menor de 7 (se retiraron tanto hembras como machos, pero en todos los casos fue el número de muestra en las hembras, el que determinó que las poblaciones se retiraran del análisis), y se puede observar las grandes diferencias en los resultados en cuanto al número de caracteres simétricos en ambos sexos, especialmente en el caso de las hembras donde disminuyeron notablemente (ver Tabla 2).

Tabla 6.

En la tabla superior (A) se muestra el número de caracteres con cada tipo de asimetría, presentes en cada una de las poblaciones estudiadas, tanto en hembras como en machos. En la tabla situada en la parte inferior (B), se excluyeron las poblaciones con números de muestra menores de 7.

A)

	Localidad	Tipo de asimetría					Localidad	Tipo de asimetría			
		AF	AD	AS	S			AF	AD	AS	S
HEMBRAS	Tuxpan	20	7	0	9	MACHOS	Tuxpan	19	4	0	13
	Cahabón	29	6	0	1		Cahabón	27	9	0	0
	Jutiapa	33	3	0	0		Jutiapa	29	5	2	0
	Quiché	31	4	0	1		Quiché	20	1	0	15
	Tucurú	26	5	0	5		Tucurú	32	4	0	0
	La Primavera	27	2	0	7		La Primavera	33	3	0	0
	Masatepe	31	5	0	0		Masatepe	26	9	0	1
	San Ramón	26	10	0	0		San Ramón	29	6	0	1
	Yucatán	17	4	0	15		Yucatán	25	8	0	3
	Lanquín	33	1	0	2		Lanquín	23	2	0	11
	Yaxjá	30	5	0	1		Yaxjá	25	4	0	7
	Nindiri	33	2	0	1		Nindiri	34	2	0	0
	TOTAL	336	54	0	42		TOTAL	322	57	2	51

B)

	Localidad	Tipo de asimetría					Localidad	Tipo de asimetría			
		AF	AD	AS	S			AF	AD	AS	S
HEMBRAS	Tuxpan	20	7	0	9	MACHOS	Tuxpan	19	4	0	13
	Cahabón	29	6	0	1		Cahabón	27	9	0	0
	Jutiapa	33	3	0	0		Jutiapa	29	5	2	0
	Quiché	31	4	0	1		Quiché	20	1	0	15
	Masatepe	31	5	0	0		Masatepe	26	9	0	1
	San Ramón	26	10	0	0		San Ramón	29	6	0	1
	Yaxjá	30	5	0	1		Yaxjá	25	4	0	7
	Nindiri	33	2	0	1		Nindiri	34	2	0	0
	TOTAL	233	42	0	13		TOTAL	209	40	2	37

Para probar si existían diferencias significativas entre los índices de hembras y machos, se realizó la prueba no paramétrica de las diferencias de signo, y los resultados de esta se muestran en la tabla 7. Nótese que 27 de las 36 variables estudiadas, presentaron diferencias significativas entre ambos sexos, además se puede observar que en todos los casos, los machos presentaron un mayor número de poblaciones con índices mayores, que las hembras.

Las tablas 8 y 9 muestran los resultados, para hembras y machos respectivamente, de la prueba no paramétrica Test U de Mann-Whitney, utilizada para ver si existían diferencias significativas entre los ecotopos de los cuales provenían las poblaciones (silvestre y doméstico). En las hembras, únicamente las variables A1,6 y A4,5 presentaron diferencias significativas (significancia ≤ 0.05), sin embargo en los rangos medios podemos observar una leve tendencia de poblaciones silvestres a ser mayores que las domésticas (rango mayor en 18 casos en silvestres y 16 en las domésticas).

En el caso de los machos, únicamente la variable A2,7 presentó diferencias significativas entre silvestres-domésticos (significancia ≤ 0.05), y nuevamente se observa la tendencia de las poblaciones silvestres, en este caso más evidente, a presentar valores mayores que las poblaciones domésticas (rango mayor en 22 casos, mientras que en las hembras en 12).

Tabla 7.

Prueba de las diferencias de signo entre los índices de Asimetría Fluctuante de hembras y machos de 12 poblaciones de *Triatoma dimidiata*. Valores de significancia ≤ 0.05 indican diferencias significativas entre hembras y machos.

	A1,2	A1,3	A1,4	A1,5	A1,6	A1,7	A1,8	A1,9	A2,3
mayor en hembras*	3	0	0	2	1	1	2	1	3
mayor en machos*	9	12	12	10	11	11	10	11	9
significancia	0.072998047	0.000244141	0.000244141	0.019287109	0.003173828	0.003173828	0.019287109	0.003173828	0.072998047

	A2,4	A2,5	A2,6	A2,7	A2,8	A2,9	A3,4	A3,5	A3,6
mayor en hembras	3	1	0	0	1	0	2	1	0
mayor en machos	9	11	12	12	11	12	10	11	12
significancia	0.072998047	0.00317383	0.00024414	0.00024414	0.00317383	0.00024414	0.01928711	0.00317383	0.00024414

	A3,7	A3,8	A3,9	A4,5	A4,6	A4,7	A4,8	A4,9	A5,6
mayor en hembras	0	3	2	2	2	4	3	3	2
mayor en machos	12	9	10	10	10	8	9	9	10
significancia	0.00024414	0.07299805	0.01928711	0.01928711	0.01928711	0.19384766	0.07299805	0.07299805	0.01928711

	A5,7	A5,8	A5,9	A6,7	A6,8	A6,9	A7,8	A7,9	A8,9
mayor en hembras	2	2	3	1	1	1	2	3	1
mayor en machos	10	10	9	11	11	11	10	9	11
significancia	0.01928711	0.01928711	0.07299805	0.00317383	0.00317383	0.00317383	0.01928711	0.07299805	0.00317383

* Número de poblaciones con valores mayores de Índices de AF en Hembras o machos.

Tabla 8.

Significancia de la prueba de la U de Mann Whitney en la comparación de los índices de Asimetría Fluctuante de 36 variables medidas en las alas de hembras domésticas y silvestres de *Triatoma dimidiata*. Valores de significancia ≤ 0.05 indican diferencias significativas entre hembras domésticas y silvestres.

Hembras	A1,2	A1,3	A1,4	A1,5	A1,6	A1,7	A1,8	A1,9	A2,3
Rango medio domésticas	5.50	6.50	5.88	7.00	4.75	5.13	5.13	5.25	5.75
Rango medio silvestres	8.50	6.50	7.75	5.50	10.00	9.25	9.25	9.00	8.00
significancia	0.174	1.000	0.396	0.497	0.017	0.062	0.062	0.089	0.308

Hembras	A2,4	A2,5	A2,6	A2,7	A2,8	A2,9	A3,4	A3,5	A3,6
Rango medio domésticas	6.75	6.88	7.13	5.88	5.38	5.13	7.00	7.38	7.00
Rango medio silvestres	6.00	5.75	5.25	7.75	8.75	9.25	5.50	4.75	5.50
significancia	0.734	0.610	0.396	0.396	0.126	0.062	0.497	0.234	0.497

Hembras	A3,7	A3,8	A3,9	A4,5	A4,6	A4,7	A4,8	A4,9	A5,6
Rango medio domésticas	7.13	6.38	6.00	8.25	6.75	6.00	6.38	6.25	7.38
Rango medio silvestres	5.25	6.75	7.50	3.00	6.00	7.50	6.75	7.00	4.75
significancia	0.396	0.865	0.497	0.017	0.734	0.497	0.865	0.734	0.234

Hembras	A5,7	A5,8	A5,9	A6,7	A6,8	A6,9	A7,8	A7,9	A8,9
Rango medio domésticas	6.63	7.25	6.50	7.25	6.75	6.00	7.00	5.38	5.50
Rango medio silvestres	6.25	5.00	6.50	5.00	6.00	7.50	5.50	8.75	8.50
significancia	0.865	0.308	1.000	0.308	0.734	0.497	0.497	0.126	0.174

Tabla 9.

Significancia de la prueba de la U de Mann Whitney en la comparación de los índices de Asimetría Fluctuante de 36 variables medidas en las alas de machos domésticos y silvestres de *Triatoma dimidiata*. Valores de significancia ≤ 0.05 indican diferencias significativas entre machos domésticos y silvestres.

Machos	A1,2	A1,3	A1,4	A1,5	A1,6	A1,7	A1,8	A1,9	A2,3
Rango medio domésticos	7.25	6.38	5.50	6.13	5.88	5.75	5.75	6.00	6.88
Rango medio silvestres	5.00	6.75	8.50	7.25	7.75	8.00	8.00	7.50	5.75
significancia	0.308	0.865	0.174	0.610	0.396	0.308	0.308	0.497	0.610

Machos	A2,4	A2,5	A2,6	A2,7	A2,8	A2,9	A3,4	A3,5	A3,6
Rango medio domésticos	6.38	6.13	6.13	5.00	5.75	6.13	7.75	6.50	7.88
Rango medio silvestres	6.75	7.25	7.25	9.50	8.00	7.25	4.00	6.50	3.75
Significancia	0.865	0.610	0.610	0.042	0.308	0.610	0.089	1.000	0.062

Machos	A3,7	A3,8	A3,9	A4,5	A4,6	A4,7	A4,8	A4,9	A5,6
Rango medio domésticos	7.25	7.25	7.50	6.00	6.00	5.13	5.63	6.25	6.50
Rango medio silvestres	5.00	5.00	4.00	7.50	7.50	9.25	8.25	7.00	6.50
Significancia	0.308	0.308	0.174	0.497	0.497	0.062	0.234	0.734	1.00

Machos	A5,7	A5,8	A5,9	A6,7	A6,8	A6,9	A7,8	A7,9	A8,9
Rango medio domésticos	5.38	6.25	6.63	7.75	6.88	6.63	6.75	6.00	6.38
Rango medio silvestres	8.75	7.00	6.25	4.00	5.75	6.25	6.00	7.50	6.75
significancia	0.126	0.734	0.865	0.089	0.610	0.865	0.734	0.497	0.865

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

9.1 Selección de las poblaciones estudiadas.

Triatoma dimidiata presenta una amplia distribución que va desde el sur de México, pasando por toda Centroamérica, hasta Colombia, Perú y Venezuela (Zeledón 1981). La región Mesoamericana es la más afectada por la presencia de esta especie, siendo el principal vector de la enfermedad de Chagas en Guatemala, El Salvador, Nicaragua y Costa Rica; el segundo en Honduras; y un vector secundario en México y Colombia (Monroy, 1992; Schofield, 1994).

En el caso de las poblaciones provenientes de otros países, la selección se hizo de acuerdo a la disponibilidad de las muestras, por lo que de El Salvador, Honduras y Colombia, únicamente se contó con una población doméstica de cada lugar. En el caso de México se contaba, además de la población doméstica de Tuxpan, con algunos especímenes silvestres de Yucatán, que a pesar de tener un número de muestra muy pequeño (cinco hembras y ocho machos), se decidió incluirlos en el estudio debido a la importancia de las poblaciones silvestres y a los resultados que este grupo ha presentado en estudios con otros marcadores (Marcilla *et al.*, 2001). Para Nicaragua, los convenios con el Ministerio de Salud de dicho país, permitieron contar con tres poblaciones que incluyen dos domésticas: San Ramón y Masatepe (de importancia epidemiológica en ese país), y una silvestre: Nindiri. Las poblaciones de Masatepe y Nindiri, están ubicadas en el departamento de Masaya, por lo que se encuentran relativamente cercanas. Los insectos silvestres de Nindiri, fueron colectados en un área volcánica (Volcán Masaya) atraídos por la luz de la casa de descanso. Para Guatemala, la selección se basó en la importancia de las poblaciones: Jutiapa por su importancia epidemiológica; Quiché por el proceso de domesticación en que se encuentra (abundancia alta, colonización y pocos casos positivos de la enfermedad); Cahabón y Tukurú por la amplia variación morfológica observada en los especímenes del departamento de Alta Verapaz, además de pertenecer al mismo departamento que la población silvestre de Lanquín (Cahabón se ubica a pocos kilómetros de las cuevas); y las poblaciones silvestres por su importancia como posibles fuentes de reinfestaciones.

9.2. Morfometría Tradicional.

Diversas técnicas, tanto genéticas como fenéticas, han sido utilizadas para estudios filogenéticos y poblacionales en los Triatomíneos. Entre estas se encuentran PCR-RAPD, ITS-2, Electroforesis de Isoenzimas, Patrones de sensilas antenales, Perfiles de Hidrocarburos Cuticulares de las alas, Citometría, Morfometría, etc.; permitiéndonos ampliar los conocimientos sobre este

grupo (Calderón, 2002; Marcilla *et al.*, 2001 y 2002; Ordóñez, 2002; Panzera *et al.*, 1997; Dujardin *et al.*, 1999a; Bustamante, 2001b; Schofield *et al.*, 1999).

Una técnica de relativamente fácil aplicación es la Morfometría, la cual ha sido utilizada para detectar diferenciación geográfica intraespecie, así como para diferenciar poblaciones provenientes de distintos hábitats (Schofield *et al.*, 1996; Casini *et al.*, 1995; Monroy *et al.*, 2003b; Bustamante *et al.*, 2004; Dujardin *et al.*, 1997 a y b; Dujardin *et al.*, 1998; Galíndez *et al.*, 1997; Solís-Mena, 2000; Noireau *et al.*, 1997; Borges *et al.*, 2000).

Dujardin *et al.* (1999a), utilizaron la Morfometría Tradicional para realizar una reconstrucción filigenética de la Tribu Rhodniini y la compararon con patrones filogenéticos derivados de un análisis basado en electroforesis de isoenzimas, encontrando información filogenética similar. Bustamante *et al.* (2004), encontraron por medio de la Morfometría una clara separación entre el complejo Protracta y el complejo Phyllosoma, respaldando estos resultados el uso de esta técnica para estudiar relaciones filogenéticas en los Triatominos.

Los resultados de Morfometría Tradicional obtenidos en el presente trabajo, respaldan una vez más la utilidad de esta técnica, al permitir diferenciar en la tribu Triatomini, los complejos Protracta (*Triatoma nitida*) y Phyllosoma (*Triatoma mexicana* y *Triatoma dimidiata*); y dentro de este último complejo, separar una especie de otra (ver sección 8.1.1.), además de permitirnos observar algunas tendencias y diferenciaciones intraespecie, que se discuten más adelante.

En cuanto a los resultados intraespecie, podemos observar que independientemente del sexo, hay tres grupos importantes: el primero corresponde a los grupos de Lanquín (silvestre de Guatemala) y Boyacá (domésticas de Colombia); el segundo corresponde a las poblaciones del norte de Guatemala y México (Yaxjá, Yucatán y Tuxpan); y el tercero a las poblaciones de Centro América. estas agrupaciones se describen más adelante.

9.2.1. Análisis Libres de Isometría.

En los análisis se utilizaron los grupos externos con la finalidad de reducir el espacio morfométrico, con el propósito de que la variación intraespecie disminuyera en comparación con la variación entre especies. Los grupos se seleccionaron de tal manera que, además de diferenciarse claramente de la especie estudiada, estas diferencias no fueran tan grandes para que nos permitieran observar en conjunto las 14 poblaciones estudiadas y ver si alguna de estas mostraba una tendencia

a separarse de las demás. Es por esto que los grupos externos se seleccionaron dentro de la Tribu Triatomini en dos complejos de esta: Protracta (*Triatoma nitida*) y Phyllosoma (*Triatoma mexicana*) al que también pertenece *Triatoma dimidiata*.

En cuanto a la especie estudiada, *Triatoma dimidiata*, Usinger en 1944, describió tres subespecies denominadas: *macullipennis* (para la forma mexicana), *dimidiata* (para las formas centroamericanas) y *capitata* (para las formas colombianas). Esto en base a que el tamaño de los insectos incrementaba gradualmente de norte a sur, presentando los especímenes mexicanos una cabeza corta y ojos grandes, mientras que *capitata* se caracterizaba por poseer una cabeza más alargada y ojos menores; en Centroamérica se encontraban las formas intermedias. A pesar de estas diferencias, Lent y Wygodzinsky (1979) recomendaron mantener todas las formas conocidas dentro de una sola especie. Si observamos los resultados obtenidos en este análisis (Ver figuras 5-7), estos coinciden con lo propuesto por Usinger, ya que las poblaciones de la península de Yucatán y hacia el norte de ésta (Yaxjá, Yucatán y Tuxpan) tienden a diferenciarse de las formas centroamericanas y estas a su vez, de las formas colombianas (Boyacá). Sin embargo, se esperaría que al incluir poblaciones que representan a las tres formas antes descritas y que representan un rango amplio de la distribución, las diferencias no fueran tan grandes como las observadas en los resultados, que incluso llegan a ser más grandes que las diferencias entre especies (*T. mexicana-T. dimidiata*).

Un estudio Morfométrico que respalda lo anterior es el realizado por Solís-Mena (2000), en el que utilizó especímenes silvestres de Colombia, pero estos provenían de palmeras; y se compararon con especímenes de México y Centroamérica (utilizando como un mismo grupo individuos de Guatemala, Honduras, Nicaragua, Costa Rica y Panamá), observando que se diferenciaban claramente de los especímenes mexicanos, pero no así, del grupo centroamericano, lo cual era lo esperado al abarcar todo el rango geográfico de la especie.

Las diferencias en la población colombiana de Boyacá pueden deberse a que según observaciones de Néstor Pinto (comunicación personal), a pesar de que los insectos fueron colectados dentro de casas, estos podrían ser insectos silvestres provenientes de cuevas cercanas. Lo anterior fue respaldado por estudios realizados en el LENAP (datos no publicados) en los cuales no se encontró diferencias entre las poblaciones domésticas, peridomésticas y silvestres de este lugar, al utilizar técnicas de Morfometría Tradicional.

La población de Boyacá presenta cabeza alargada y ojos reducidos, características similares a las presentadas por la población de Lanquín en Guatemala. Esta población proviene de cuevas de

roca caliza y presenta marcadas diferencias fenotípicas con respecto a otras poblaciones de *T. dimidiata* (especímenes grandes, conexivo ancho, coloración clara, cabeza alargada y ojos reducidos), además de que parecen no desplazarse y ser altamente endogámicos (Calderón, 2002). Calderón sugiere que esta población podría estar sometida a un proceso de deriva génica, que podría llegar en un momento dado a la fijación de algunos alelos.

Tanto la población de Lanquín como la de Boyacá se separan claramente del resto de poblaciones estudiadas, presentando diferencias incluso mayores que las de *T. mexicana*. Estas poblaciones presentan entre ellas una relación bastante cercana, situación que ya había sido previamente descrita en Bustamante *et al.* (2004), pero utilizando un menor número de poblaciones provenientes de cuatro países.

Si tomamos en cuenta que en el caso de Lanquín, se han encontrado diferencias en los perfiles de hidrocarburos cuticulares (Calderón *et al.*, 2004 en prensa) además de aislamiento reproductivo con otras poblaciones domésticas y silvestres (datos no publicados LENAP), y que tanto esta población como la de Boyacá provienen de un ambiente en el que las condiciones son muy diferentes a las de la vivienda humana (temperatura, luz, humedad, etc.), y presentan fuertes diferencias métricas con respecto a las demás poblaciones de *T. dimidiata*, tanto domésticas como silvestres, podríamos estar hablando de dos especies diferentes que debido al aislamiento y a las adaptaciones propias del ambiente en el que se desarrollan se encuentran ya en un adelantado proceso de especiación y que a pesar de las diferencias geográficas, por compartir las mismas características de hábitat, podrían estar en un proceso de evolución convergente.

En el caso de las poblaciones silvestres provenientes de la península de Yucatán (Yaxjá y Yucatán) así como la población doméstica de México (Tuxpan), éstas tienden a diferenciarse con respecto a las demás poblaciones de Centroamérica (ver Figura 7). El caso más evidente es el de la población de Yucatán, la cual presenta cierto traslape con las poblaciones de Centroamérica pero con una fuerte tendencia a diferenciarse. Marcilla *et al.* (2001) trabajaron con poblaciones silvestres de Yucatán utilizando ITS-2, los resultados mostraron que estas poblaciones presentaban grandes diferencias al compararlas con otras poblaciones de *Triatoma dimidiata* de México y Centroamérica y con otras especies del complejo *Phyllosoma*, ubicándola como una especie diferente. Los resultados obtenidos en este estudio no muestran diferencias suficientes para respaldar lo anterior, además que el tamaño de muestra de esta población fue muy pequeño. Una forma de ayudar a aclarar la situación de este grupo, sería ampliando el número de muestra e incluir otras poblaciones silvestres y domésticas del mismo lugar.

La población silvestre de Yaxjá, ha sido claramente diferenciada de poblaciones domésticas de Guatemala por medio de técnicas morfométricas (Bustamante, 2001b). En los resultados de este trabajo podemos observar que esta población a pesar de presentar una cierta tendencia a diferenciarse, presenta también un cierto traslape con las poblaciones centroamericanas; lo mismo ocurre con la población doméstica de Tuxpan, cuando incluimos todas las poblaciones estudiadas, sin embargo si observamos análisis más específicos realizados utilizando únicamente las poblaciones domésticas, éstos muestran que esta población se separa de las de Centroamérica, tanto en hembras como en machos (ver Figura 7 E-F). De acuerdo a Bargues *et al.* (2000), es posible que la región de Yucatán represente la fuente original de la cual *Triatoma dimidiata* se dispersó hacia el norte en México y hacia el sur en América Central; los resultados anteriores apoyan esta hipótesis, mostrando dos ramificaciones de la especie.

Si tomamos en cuenta lo anterior, aunado a la posición de la población silvestre de Nindiri relacionada con las poblaciones de Masatepe y San Ramón del mismo país (Nicaragua) y ubicada dentro del grupo de poblaciones centroamericanas, esto nos estaría indicando que la procedencia geográfica de las poblaciones tiene una mayor influencia que el hábitat del que provienen, en la forma de las cabezas de los especímenes.

Con respecto a las ocho poblaciones domésticas de Centroamérica, no se logró encontrar un patrón de diferenciación entre estas, formando todas un solo grupo, lo cual podría estar indicando que se mantiene un cierto flujo entre ellas que hace que permanezcan homogéneas (Calderón, 2002). Trabajos realizados en el LENAP (datos no publicados) utilizando un rango geográfico menor que el del presente estudio, han permitido observar diferencias entre poblaciones geográficas y otros estudios han mostrado diferencias entre poblaciones provenientes de distintos hábitats (Bustamante, 2001b; Monroy *et al.*, 2003b; Casini *et al.*, 1995; Dujardin *et al.*, 1997a y b), sin embargo al abarcar un rango geográfico mayor y ampliar el número de poblaciones, las diferencias disminuyen y las poblaciones tienden a agruparse, lo cual es lo que observamos aquí. Sin embargo, es posible identificar algunos grupos cercanos como el de las poblaciones de Nicaragua y las del departamento de Alta Verapaz, en Guatemala (Tucurú y Cahabón), lo que sugiere que hay más intercambio de individuos en estas poblaciones, lo cual confirma panmixia entre lugares cercanos (Dorn *et al.*, 2003). Por lo demás, no se observan agrupaciones por geografía, lo cual apoya que las poblaciones centroamericanas pertenecen a la misma especie.

En cuanto a las poblaciones silvestres, estas pueden diferenciarse claramente unas de otras, tanto en hembras como en machos (Figura 8, J-L), únicamente en el caso de las hembras (Figura 8, I)

las poblaciones de Yucatán y Yaxjá se traslapan (ambas ubicadas en la península de Yucatán) al incluir en los análisis a la población de Lanquín, pero al retirar esta, basándonos en las grandes diferencias que presenta, vemos que las poblaciones restantes se diferencian completamente. Sin embargo debemos considerar que geográficamente, la población de Nindiri está alejada de las de Yaxjá y Yucatán, y que el estatus taxonómico de esta última debe esclarecerse, por lo que lo más indicado sería realizar estudios que incluyeran poblaciones silvestres intermedias entre estas.

Al observar los dendrogramas derivados de los análisis (Figuras 9 y 10), podemos observar que las poblaciones domésticas de Nicaragua (Masatepe y San Ramón) se encuentran cercanamente relacionadas tanto en hembras como en machos. En estudios morfométricos realizados en el LENAP comparando las poblaciones anteriores y la población silvestre de Nindiri, no se logró encontrar diferencias entre estas, por lo que parecen mantener un flujo constante entre ellas. Estas tres poblaciones se encuentran cercanamente relacionadas en las hembras, no así en los machos en los que la población de Nindiri, se encuentra más asociada a la población de La Primavera de El Salvador. En el caso de las hembras, también encontramos cercanas a las poblaciones de Tucurú y Cahabón, ambas del departamento de Alta Verapaz en Guatemala, contrario a los machos en los cuales estas poblaciones se encuentran separadas. Las diferencias entre hembras y machos podrían deberse a que los machos poseen un sex ratio (proporción de sexos) mayor que las hembras (Sandy Pineda, comunicación personal) y una mayor capacidad de vuelo, por lo cual, son los que se mueven más (Tabaru *et al.* 1995) lo cual se reflejaría en una mayor variabilidad de estos con respecto a las hembras.

9.2.2. Análisis Libres de Alometría.

Para realizar estos análisis, se excluyeron los grupos externos, ya que este se utiliza para estudios de variación intraespecie. Encontrar diferencias a nivel de forma, significa que el crecimiento no es capaz de explicar por sí solo toda la variación métrica observada. Para poder aplicar este análisis es necesario que el conjunto de variables seleccionadas siga un modelo de crecimiento común, ya que se espera que individuos de una misma especie presenten una misma manera de crecer, de no ser esto así, se pueden suponer cambios evolutivos o adaptativos (Dujardin 2000). Sin embargo, es posible encontrar diferentes maneras de crecer (alometrías divergentes) entre poblaciones geográficas y ecológicas de la misma especie, aunque no se sabe con que frecuencia y hasta qué niveles (Jaramillo & Dujardin, 2002).

En este caso, el conjunto de variables seleccionadas inicialmente, únicamente siguió el modelo en el análisis realizado en las hembras a las poblaciones silvestres sin incluir Lanquín, pero ya que el interés del estudio no eran las variables, sino la diferenciación de las poblaciones, fue necesario probar diferentes combinaciones de estas variables, que nos permitieran lograr este objetivo. En las hembras, en los análisis realizados incluyendo las 14 poblaciones estudiadas y las poblaciones domésticas de Centroamérica, ninguno de los juegos de variables probados siguió el modelo. En los análisis restantes: Poblaciones estudiadas excluyendo Lanquín y Boyacá, Domésticas sin Boyacá, y Silvestres, se escogió el conjunto que mejor siguió el modelo para realizar los análisis (ver tabla 4).

Los resultados obtenidos para las hembras en este análisis son similares a los de los análisis libres de isometría (ver Figuras 9-12). Las poblaciones de Nicaragua (Masatepe, San Ramón y Nindiri) presentan formas similares relacionadas con Jutiapa, Quiché y Yoro. Los insectos de Tucurú y Cahabón también presentan similitudes, y en conjunto con los anteriores forman un grupo que se diferencia de las poblaciones del norte (Yaxjá, Yucatán y Tuxpan). La población que contrasta con estos resultados, es la de La Primavera de El Salvador, la cual se agrupó con las poblaciones del norte, esto podría indicar, de acuerdo a Jaramillo & Dujardin (2002) cambios evolutivos o adaptativos en esta población. Sin embargo, podemos observar en la tabla 4, que los valores de significancia en los análisis que incluyen a la población de La Primavera fueron bastante bajos y que únicamente un conjunto de variables siguió el modelo en el primer caso y en el segundo dos, además de que estos resultados no fueron reproducibles en los machos, ya que en estos solo pudieron aplicarse en los análisis realizados a las poblaciones silvestres. Aún así, sería recomendable realizar estudios genéticos de esta población, que permitieran clarificar su situación. Para el caso de los análisis de los machos que no siguieron el modelo, para Houle *et al.* (2002), no hay una simple interpretación biológica de los componentes principales comunes, ya que se ha observado que incluso matrices de estructuras similares, en ocasiones no siguen el modelo.

En cuanto a las poblaciones silvestres, podemos observar que se obtuvieron los mismos resultados tanto en hembras como en machos (ver Figuras 12-13), presentando formas similares las poblaciones de Yucatán y Yaxjá y diferenciándose claramente de Nindiri. Estos resultados podrían explicarse en función de las diferencias geográficas y el ecotopo; tanto Yaxjá como Yucatán provienen de una misma región geográfica (al Norte en la península de Yucatán) y ambos fueron colectados en selva, mientras que la población de Nindiri se encuentra ubicada hacia el sur del rango de distribución de la especie y fue colectada en una región volcánica (Volcán Masaya, Nindiri, Nicaragua).

9.3 Asimetrías Morfométricas.

Los artrópodos presentan una simetría bilateral, en la que cada lado del organismo está bajo el control de los mismos genes, y por lo tanto deberían presentar una igualdad bilateral perfecta. De no ser así, las causas podrían deberse a factores ambientales o genéticos. Los estudios de Asimetrías Morfométricas se han utilizado para examinar el origen ambiental de variaciones fenotípicas, por medio del tipo de asimetría atribuida a los factores ambientales (Asimetría Fluctuante) ya que la desigualdad entre estructuras bilaterales es un indicador sensible de la estabilidad del desarrollo (Dujardin, 2000).

Los estudios en Triatomíneos, aplicando esta técnica aún son muy pocos y básicamente se han utilizado para comparaciones entre especies, que den cuenta de las perturbaciones de los ambientes en que se desarrollan (Dujardin, 2000).

En este caso la Asimetría se estudio con el fin de analizar la estabilidad del desarrollo y como consecuencia de esta, la capacidad de dispersión de los individuos de 12 poblaciones de *Triatoma dimidiata*, tanto domésticas como silvestres. Los análisis se realizaron utilizando las alas de los insectos, ya que además de ser estructuras bilaterales están relacionadas con la locomoción de este grupo. En la Tabla 6 A, se puede observar que en general, los machos presentan mayor cantidad de caracteres simétricos que las hembras (51 y 42 respectivamente) aunque la presencia de esta no es tan alta como en el caso de la presencia de Asimetrías (390 hembras y 379 en machos).

Si tomamos en cuenta que la simetría es una característica importante para los órganos relacionados con la locomoción y que de acuerdo a Moller y Swaddle (1997) la simetría alar es de mucha importancia en la maniobrabilidad del vuelo, los resultados estarían indicando que en los machos esta es más importante y que por lo tanto son más móviles. De acuerdo a un estudio realizado en el LENAP (Sandy Pineda, datos no publicados), utilizando la proporción de machos-hembras, estos presentan una mayor proporción que refleja una mayor movilidad (Según Monroy et al., 2003a, esta proporción puede ser utilizada como un parámetro que permite la diferenciación de poblaciones en cuanto a su movilidad). Tabaru et al. (1995) indica que la abundancia de los machos está relacionado con el movimiento; y que son estos los que poseen una mayor capacidad de vuelo y planeo.

Sin embargo, la diferencia en cuanto el número de caracteres, al utilizar las 12 poblaciones estudiadas no es muy grande (9 caracteres), pero al excluir las poblaciones con un tamaño de

muestra menor de siete individuos, los resultados varían significativamente encontrando 13 caracteres simétricos en las hembras y 37 en los machos (ver Tabla 6 B). Para este estudio se utilizaron todas las poblaciones sin importar el número de muestra, ya que no se encontró en la literatura ninguna recomendación en cuanto al número mínimo, únicamente en cuanto al número de repeticiones en las mediciones de las poblaciones con menos de 15 individuos; sin embargo, entre más pequeño sea el tamaño de muestra, es menor la probabilidad de detectar asimetrías y esto se reflejó en lo contrastantes que resultaron los resultados en las poblaciones de hembras de Yucatán, Tucurú y La Primavera con respecto a los machos de estas mismas poblaciones con números de muestra mayores de 10 individuos. Tomando en cuenta lo anterior y que en los grupos restantes la mayor parte de las veces los números de muestra de los machos fueron mayores que en las hembras, además de considerar la diferencia en cuanto al número de caracteres simétricos entre ambos sexos (24 caracteres), esta es una evidencia fuerte de la mayor movilidad de los machos, la cual también se vio reflejada en los análisis libres de isometría discutidos anteriormente. Para fines de este trabajo, en los análisis realizados posteriormente se trabajó con todas las poblaciones, dejando abierta la situación anterior para profundizar en estudios posteriores.

En cuanto a las Asimetrías, podemos observar en las tablas que la Antisimetría fue la menos importante de estas, estando totalmente ausente en las hembras y en los machos se detectó únicamente en dos caracteres de la población de Jutiapa, el origen de este tipo de asimetría aún no está muy claro, aunque generalmente se atribuye a causas genéticas (Dujardin, 2000). En cuanto a la Asimetría Direccional, la cual tiene causas genéticas, esta es constante en todos los individuos de la población (Palmer & Strobeck, 1986); en este caso, ésta varió poco en cuanto hembras y machos (54 y 57 respectivamente).

La Asimetría Fluctuante fue la más importante en este estudio, tanto en hembras como en machos, presentando un mayor número de caracteres en las hembras (336 y 322 respectivamente). Además fue importante en todas las poblaciones estudiadas. Este tipo de asimetría resulta de los accidentes que perturban el desarrollo larval hasta el estadio adulto. Los accidentes pueden corresponder a cambios drásticos de temperatura, parasitismo, períodos de ayuno, contactos con productos tóxicos, etc., resultando en un incremento del estrés ambiental (Jaramillo, 2000; Palmer & Strobeck, 1986).

Jaramillo (2000), utilizó el análisis de Asimetrías para estudios intraespecie de *Rhodnius pallescens*, utilizando cinco colonias de laboratorio (1 doméstica y 4 silvestres), encontrando en todas una Asimetría Fluctuante importante, pero la población doméstica mostró una relajación

causada por la no necesidad de usar un órgano, las alas, por ser una población sedentaria con poca capacidad de vuelo. De acuerdo a Schofield *et al.* (1999), la adaptación de los Triatominae a ambientes estables (viviendas humanas) implica la especialización y simplificación reflejada en características genéticas (reducción genómica) y fenotípicas. Entre estas últimas se ha encontrado la reducción de las sensilas antenales, el relajamiento de la simetría bilateral, relajamiento del dimorfismo sexual, y una reducción general del tamaño corporal.

Basándonos en lo anterior, lo esperado sería encontrar índices de Asimetría Fluctuante mayores en las hembras y en las poblaciones domésticas; las primeras por ser menos móviles y las segundas por estar en ambientes más estables que las silvestres. Contrario a lo anterior, en la tabla 7 podemos observar que al comparar los índices de hembras y machos en las 36 variables estudiadas, 27 de estas fueron significativamente diferentes y en todas las variables los machos presentaron un mayor número de poblaciones con valores más altos de Asimetría Fluctuante que las hembras, lo cual podría deberse a la presencia de dimorfismo sexual en los insectos. En cuanto a las poblaciones domésticas y silvestres, estas no presentan mayores diferencias en cuanto a los índices, únicamente dos caracteres significativamente diferentes en las hembras y uno en los machos (ver Tablas 8 y 9); sin embargo, en ambos casos podemos observar una tendencia (más evidente en los machos) de las poblaciones silvestres a tener valores mayores que las domésticas.

Tomando en cuenta que los insectos silvestres se desarrollan en ambientes sumamente inestables, el contraste con respecto a los resultados esperados, podría deberse a que los efectos de las presiones ambientales de estos lugares son más importantes que los efectos de la relajación causada por el no uso de una estructura y que parte del relajamiento se reflejaría en la disminución de los caracteres simétricos y no en el aumento de los índices de Asimetría Fluctuante, como es el caso de la población de Jutiapa (Guatemala) la cual es una población completamente doméstica y que, como podemos ver en la Tabla 6, no presenta ningún carácter con simetría tanto en hembras como en machos. Al igual que en el caso de la presencia de simetría en los grupos pequeños, incrementar el tamaño de muestra e igualar este en hembras y machos, podría ayudar a clarificar si la situación anterior se mantiene o si el incremento de asimetrías en estos grupos variaría los resultados aquí obtenidos para *Triatoma dimidiata*. Otra consideración importante, es que de acuerdo a los resultados de Morfometría Tradicional, al menos una de las poblaciones estudiadas presenta diferencias significativas con respecto a las restantes, por lo cual, ya que se desconoce que población o poblaciones, son diferentes, estas podrían estar influyendo en los resultados, por lo cual se sugiere para estudios posteriores realizar comparaciones por poblaciones, para clarificar esta situación.

De acuerdo a los resultados, las poblaciones de Quiché y Tuxpan, merecen especial atención, ya que presentan una alta cantidad de caracteres simétricos (ver Tabla 6), lo cual indica que son muy móviles y de no tomarse esto en cuenta podrían fallar las estrategias utilizadas para el control de estos insectos.

10. CONCLUSIONES

1. La procedencia geográfica de las poblaciones de *Triatoma dimidiata* influyó más que el ecotopo, en la diferenciación de los grupos estudiados.
2. Tanto la población de Lanquín como la de Boyacá se separan claramente del resto de poblaciones estudiadas, presentando diferencias incluso mayores que las de *Triatoma mexicana*. Ambas poblaciones comparten características fenotípicas similares y las mismas características de hábitat a pesar de la distancia geográfica, lo cual podría indicar que se encuentran en un proceso de especiación que las estaría llevando a una evolución convergente.
3. Al estudiar las presentes poblaciones, la Morfometría nos permite interpretar la existencia de cuatro grupos dentro de la especie: (1) Lanquín, (2) Colombia, (3) Norte de Guatemala y México, (4) Centro América.
4. La población doméstica de Tuxpan (México), presenta una clara diferenciación con respecto a las poblaciones domésticas de Centroamérica, las cuales forman un solo grupo, lo cual sugiere que mantienen un flujo entre ellas que hace que permanezcan homogéneas.
5. Las poblaciones silvestres difieren dependiendo del origen y no del hábitat (al excluir Lanquín como población silvestre)
6. Los machos de *Triatoma dimidiata* presentan una mayor cantidad de caracteres simétricos que las hembras (51 y 42 respectivamente), lo cual sugiere que estos son más móviles.
7. La Asimetría Fluctuante, se presentó en todas las poblaciones estudiadas y fue la asimetría más importante. La Antisimetría fue la menos importante del estudio y estuvo ausente en las hembras, detectándose únicamente en la población de Jutiapa en los machos.
8. Los machos presentan mayores índices de Asimetría Fluctuante que las hembras, en las 36 variables estudiadas en las alas de los insectos, siendo 27 de estas significativamente diferentes.

9. Las poblaciones domésticas y silvestres, no presentan mayores diferencias en cuanto a los índices de Asimetría Fluctuante, (únicamente dos variables significativamente diferentes en las hembras y una en los machos) pero con una tendencia de las poblaciones silvestres a tener valores mayores que las domésticas.

10. Las poblaciones de Quiché y Tuxpan presentan una alta cantidad de caracteres simétricos, lo cual sugiere que son muy móviles y que merecen especial atención en las estrategias de control.

11. RECOMENDACIONES

- Yucatán: Se recomienda realizar estudios con tamaño de muestra mayor además de incluir poblaciones domésticas y más poblaciones silvestres para ayudar a aclarar la situación de este grupo.
- Poblaciones Silvestres: Incluir poblaciones silvestres que representen el ámbito de distribución de la especie, buscar poblaciones silvestres que compartan el mismo tipo de hábitat y ampliar el tamaño de muestra de las poblaciones ya disponibles. Incluir poblaciones domésticas cercanas a los ecotopos silvestres.
- Asimetrías: Utilizar tamaño de muestra por lo menos mayores de 10 individuos e igualar el tamaño de muestra utilizados tanto en hembras como en machos, con el fin de disminuir sesgos en los análisis.
- Prestar atención especial a las poblaciones de Quiché y Tuxpan ya que presentan un alto número de caracteres simétricos, y tomar en cuenta estos resultados para el planteamiento de futuras estrategias de control en estos lugares.
- Lanquín y Boyacá: Continuar con los estudios incluyendo estos dos grupos, así como buscar más cuevas en las que haya presencia de esta especie para buscar si hay un proceso similar al de estas poblaciones, además de incluir también poblaciones completamente domésticas y silvestres de hábitat distintos a cuevas de Colombia.

12. REFERENCIAS

1. Barges, M. Marcilla, A. Ramsey, J. Duajardin, JP. Schofield, CJ. Mas-Coma, S. 2000. *Nuclear rDNA-based Molecular clock of the Evolution of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), Vectors of Chagas Disease*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 95(4): 567-573.
2. Bookstein, F. 1982. *Foundations of Morphometrics*. Ann. Rev. Ecol. Syst. 13:451-470.
3. Borges, E. Dujardin, JP. Schofield, CJ. Romanha, A. Diotaiuti, L. 2000. *Genetic Variability of Triatoma brasiliensis (Hemiptera: Reduviidae) Populations*. J. Med. Entomol. 37(6): 872-877.
4. Borror, D.J. Triplehorn, C. A. Johnson, N.F. 1989. *An introduction to the study of Insects*. 6 ed. Saunders College Publishers. USA. 875 pp.
5. Bustamante, DM. 2001a. *Comparación Morfométrica de Poblaciones Mesoamericanas del insecto vector de la Enfermedad de Chagas, Triatoma dimidiata (Latreille) 1811 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae)*. Informe Final Ejercicio Profesional Supervisado, Escuela de Biología, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 29 pp.
6. Bustamante, DM. 2001b. *Morfometría de seis poblaciones del principal vector de la enfermedad de Chagas en Guatemala, Triatoma dimidiata (Latreille) 1811 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), para la caracterización geográfica de la especie*. Informe de Tesis, Escuela de Biología, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 121 pp.
7. Bustamante, DM. Monroy, C. Menes, M. Rodas, A. Salazar-Schettino, PM. Rojas, G. Pinto, N. Guhl, F. Dujardin, JP. 2004. *Metric Variation among Geographic Populations of the Chagas Vector Triatoma dimidiata (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) and Related Species*. J. Med. Entomol. 41(3): 296-301.
8. Calderón, C. 2002. Variabilidad genética de *Triatoma dimidiata* (Latreille 1811) en tres poblaciones silvestres del Atlántico y tres poblaciones domésticas del Pacífico de Guatemala, utilizando la técnica de amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPD).

- Informe de Tesis, Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. 74 pp.
9. Carcavallo, R. Jurberg, J. Lent, H. Noireau, F. Galvão, C. 2000. *Phylogeny of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) proposals for Taxonomic arrangements*. Editor Dr. José Jurberg. Entomología y Vectores, Rio de Janeiro, Vol. 7 (Supl,1): 1-99.
 10. Casini, C.E. Dujardin, J.P. Martínez, M. Bentos-Pereira, A. Salvatela, R. 1995. *Morphometric differentiation between two geographic populations of Triatoma infestans in Uruguay*. Research and Reviews in Parasitology, 55 (1): 25-30.
 11. Cedillos, RA. Francia, H. Soundy, J. Ascencio, G. Vólcarcel Novo, M. 2001. *Estudio Epidemiológico de Trypanosoma cruzi en El Salvador*. Universidad de El Salvador. El Salvador. 17pp.
 12. Daly, H. 1985. *Insect Morphometrics*. Ann. Rev. Entomol. 30: 415-38.
 13. Daniel, Wayne. 1999. *Bioestadística, base para el análisis de las ciencias de la salud*. Editorial Limusa, México. 878 pp.
 14. Darroch, JN; Mossimann, JE. 1985. *Canonical and Principal components of shape*. Biometrika, 72: 241-252.
 15. Díaz, L. 2003. *Comparación de la Asimetría entre las poblaciones silvestres y las domésticas del vector de la Enfermedad de Chagas, Triatoma dimidiata (Latreille, 1811)*. Informe Final de Experiencia Docente con la Comunidad, Escuela de Biología, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
 16. Dorn, P. Melgar, S. Rouzier, V. Gutiérrez, A. Combe, C. Rosales, R. Rodas, A. Kott, S. Salvia, D. Monroy, C. 2003. *The Chagas Vector, Triatoma dimidiata (Hemiptera: Reduviidae), is panmictic within and among adjacent villages in Guatemala*. J. Med. Entomol. 40(4): 436-440.

17. Dujardin, JP; Bermudez, H; Schofield, CJ. 1997a. *The use of morphometrics in entomological surveillance of sylvatic foci of Triatoma infestans in Bolivia*. Acta Tropica, 66: 145-153.
18. Dujardin, JP. Bermudez, H. Casini, C. Schofield, CJ. Tibayrenc, M. 1997b. *Metric differences between sylvatic and domestic Triatoma infestans (Heteroptera: Reduviidae) in Bolivia*. J. Med. Entomol. 34(5): 544-551.
19. Dujardin, JP. Forgues, G. Torrez, M. Martínez, E. Cordova, C. Gianella, A. 1998. *Morphometrics of domestic Panstrongylus rufotuberculatus in Bolivia*. Annals of Tropical Medicine & Parasitology, Vol. 92, No. 2, 219-228.
20. Dujardin J.P, Chavez T, Moreno J.M., Machane M, Noireau F, Schofield C.J. 1999a. *Comparision of isoenzyme electrophoresis and morphometric analysis for phylogenetic reconstruction of the Rhodniini (Hemiptera: Reduviida: Triatominae)*. J. Med. Entomol. 36(6): 653-659.
21. Dujardin, J.P. Panzera, F. Schofield, C.J. 1999b. *Triatominae as a Model of Morphological Plasticity under Ecological Pressure*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 94, Suppl. I: 223-228.
22. Dujardin, JP. 2000. *Introducción a la Morfometría (Con énfasis en Phlebotominae y Triatominae)*. Inédito.
23. Dujardin, JP; Schofield, CJ; Panzera, F. 2000a. *Les vecteurs de la maladie de Chagas. (Recherches taxonomiques, biologiques et génétiques)*. Academie Royale des Sciences D'Outre-Mer. Bruselas. 162 pp.
24. Dujardin, J.P. Panzera, F. Schofield, C.J. 2000b. *Triatominae as models for understanding basic evolutionary processes*. Mem. Inst. Oswalto Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 95, Suppl. II, Nov.
25. Dujardin, JP; LePont, F. 2000. *Morphometrics of a neotropical sandfly subspecies, Lutzomyia carrerai thula*. C. R. Acad. Sci. Paris, Life Sciences. 323: 273-279.

26. Falconer, DS. 1981. *Introduction to quantitative genetics*. Longman Inc. London and New York. 300 pp.
27. Footitt, R. Sorensen, J. 1992. *Ordination Methods: Their Contrast to Clustering and Cladistic Techniques*. En Sorensen JT, Footitt R, editors. *Ordination in the study of Morphology, Evolution and Systematics of insects: Applications and quantitative genetic rationals*. Amsterdam, Elsevier Science Publishers B V. pp 1-10.
28. Galíndez, I. Torres, E. Matos, E. Araujo, V. Márquez, J. Barazarte, R. Araque, L. Castillo, L. 1997. *Estudio Morfométrico preliminar de Rhodnius robustus Larrouse, 1927 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), del occidente de Venezuela*. *Entomología y Vectores* Vol. 4 No.4.
29. Galvão, C; Jurberg, J; Cunha, V; Pinto de Mello, R. 1995. *Biología do Triatoma nitida Usinger, 1993 em Laboratorio (Hemiptera: Reduviidae)*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol. 90(5): 657-663, sep/oct.
30. Guhl, F. 2000. *Chagas Disease: Modes of Transmission, Ecological Factors*. WHO, Second Expert Committee on the Control of Chagas Disease, Brasilia.
31. Ibáñez-Bernal, S. Paz-Rodríguez, R. 1998. *Los Complejos de Especies de Triatoma en México y Centro América*. En C.J. Schofield y Carlos Ponce Editores. II Taller Internacional Sobre Genética Poblacional y Control de Triatominos. Honduras. 131 pp.
32. Jaramillo, N. 2000. *Partición en tamaño y forma de los caracteres métricos y su interés en los estudios poblacionales aplicados a los Triatominae*. Tesis de doctorado. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.
33. Jaramillo, N. Dujardin, JP. 2002. *Análisis Morfométrico: significado biológico del tamaño y la conformación*. Colombia. Inédito.
34. Jolicoeur, P. 1963. *The multivariate generalization of the allometry equation*. *Biometrics* 19, 497-499.
35. Houle, D. Mezey, J. Galpern, P. 2002. *Interpretation of the results of common principal components analyses*. *Evolution* 56(3): 433-440.

36. Klingenberg, CP. 1996. *Multivariate allometry*. En LF Marcus, M Conti, A Loy, GJ Naylor, DE Slice (editores). Advances in morphometrics, NATO ASI, Series A: Life Sciences. New York, Plenum Press, Volume 284, pp 23-49.
37. Landaverde, P. 2004. *Comparación de poblaciones silvestres y domésticas de Triatoma dimidiata (Latreille, 1811) de México y Centroamérica por medio de la técnica de ampliación aleatoria del ADN polimórfico (RAPD-PCR)*. Informe de Tesis, escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. 108pp.
38. Lent, H; Wygodzinsky, P. 1979. *Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas disease*. Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 163: 123-520.
39. Lent, H; Jurberg, J. 1985. *Sobre a variação intra-específica em Triatoma dimidiata (Latreille) e T. infestans (Klug) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae)*. Mem.Inst.Oswaldo Cruz, 80 (3): 285-299.
40. Marcilla, A. Barges, M. Ramsey, J. Magallon-Gastelum, E. Salazar-Schettino, PM. Abad-Franch, F. Dujardin, JP. Schofield, CJ. Mas-Coma, S. 2001. *The ITS-2 of the nuclear rDNA as a molecular marker for populations, species, and phylogenetic relationships in Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), vectors of Chagas disease*. Mol. Phylogenet. Evol. 18: 136-142.
41. Marcilla, A. Barges, M. Abad-Franch, F. Panzera, F. Carcavallo, R. Noireau, F. Galvão, C. Jurberg, J. Miles, M. Dujardin, JP. Mas-Coma, S. 2002. *Nuclear rDNA ITS-2 sequences reveal polyphyly of Panstrongylus species (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), vectors of Trypanosoma cruzi*. Infection, Genetics and Evolution 1: 225-235.
42. Moller, A; Swaddle, J. 1997. *Asymmetry, developmental stability, and evolution*. Oxford University Press, Oxford. 291 pp.
43. Monroy, C. 1992. *Vectores de la Enfermedad de Chagas en Guatemala*. En K Ogata (editor), Informe Anual No. 1(GJET-1) del Proyecto de Cooperación Guatemala Japón para la Investigación de Enfermedades Tropicales. JICA, Guatemala, 128 pp.

44. Monroy, C; Mejía, M; Rodas, A. 1994. *Ecología Intradomiciliar de Rhodnius prolixus, Triatoma dimidiata y Triatoma nitida*. Enfermedades Tropicales en Guatemala 94. Informe anual No. 3 del Proyecto de Cooperación Guatemala-Japón para la Investigación de Enfermedades Tropicales. JICA. Guatemala. Págs. 104-109
45. Monroy, C. Rodas, A. Mejía, M. Rosales, R. Tabaru, Y. 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, Rio de Janeiro, Vol. 98(3): 305-310.
46. Monroy, C. Bustamante, D. Rodas, A. Rosales, R. Mejía, M. Tabaru, Y. 2003b. *Geographic Distribution and Morphometric Differentiation of Triatoma nitida Usinger 1939 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Guatemala*. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 98(1): 37-43.
47. Monroy, C. Bustamante, DM. Rodas, A. Enríquez, E. Rosales, R. 2003c. *Habitats, Dispersión and Invasión of Sylvatic Triatoma dimidiata (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Petén, Guatemala*. J. Med. Entomol. 40(6): 800-806.
48. Noireau, Francois. Flores, R. Gutiérrez, T. Dujardin, JP. 1997. *Detection of sylvatic dark morphs of Triatoma infestans in the Bolivian Chaco*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 92(5): 583-584.
49. OMS. 1991. *Control de la Enfermedad de Chagas*. Serie de Informes Técnicos 811, Organización Mundial de la Salud, Ginebra, 102 pp.
50. OPS. 2000. *Segunda reunión de la comisión intergubernamental del a iniciativa de Centroamérica y Belice para la interrupción de la transmisión vectorial de la Enfermedad de Chagas por Rhodnius prolixus, disminución de la infestación domiciliar por Triatoma dimidiata y la eliminación de la transmisión transfusional del Trypanosoma cruzi*. OPS/HCP/164/00.

51. Ordoñez, P. 2002. *Caracterización de poblaciones de Triatoma dimidiata (Hemiptera: Reduviidae, Triatominae) mediante perfiles de Hidrocarburos cuticulares de alas*. Informe de Tesis, Escuela de Química, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
52. Palmer, A. Strobeck, C. 1986. *Fluctuating Asymmetry (Measurement, Analysis, Patterns)*. Ann. Rev. Ecol. Syst. 17: 391-421.
53. Panzera, F. Hornos, S. Pereira, J. Cestau, R. Canale, D. Diotaiuti, L. Dujardin, JP. Perez, P. 1997. *Genetic variability and geographic differentiation among three species of Triatominae bugs (Hemiptera: Reduviidae)*. Am. J. of Tropical Medicine & Hygiene 57(6): 732-739.
54. Pinto Soares, R.P. Barbosa, S.E. Dujardin, J.P. Schofield, C.J. Moura, A. Diotaiuti, L. 1999. *Characterization of Rhodnius neglectus from two regions of Brazil using isoenzymes, genitalia morphology and morphometry*. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 94(2): 161-166, Mar./Apr.
55. Pimentel, RA. 1992. *An introduction to ordination, principal components analysis and discriminant analysis*. En: RG Foottit and JT Sorensen editors. *Ordination in the study of morphology, evolution and systematics of insects: applications and quantitative genetic rationales*. Elsevier, New York. 418 pp.
56. Rabinovich, J. 1982. *Ecología Poblacional de los Triatominos*. En Factores Biológicos y Ecológicos de la Enfermedad de Chagas. OMS. Tomo I, Epidemiología de Vectores.
57. Rohlf, J. 1990. *Morphometrics*. Rev. Ecol. Syst. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, USA.
58. Rohlf, J. Marcus, L. 1993. *A Revolution in Morphometrics*. Trends in Ecology and Evolution. Vol. 8, No. 4. 129-132.
59. Rohlf, J. 1998. *NTSYSpc (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.0) Users Guide*. Exeter Software. New York.

60. Rohlf, J. 2001. tpsDig, version 1.27. Ecology and Evolution. State University of New York, Stony Brook, NY.
61. Schofield, C.J; 1994. *Triatominae. (Biología y Control)*. Trad. S. Tims y C.J. Schofield. Eurocommunica Publications. Reino Unido. 80 pp.
62. Schofield, C.J; Dujardin, J.P; Jurberg, J. 1996. *Proceedings of the International Workshop on Population Genetics and Control of Triatominae* (Taller Internacional sobre Genética Poblacional y Control de Triatómíneos). Santo Domingo de los Colorados, Ecuador (24-28/9/1995). INDRE. México. 116 pp.
63. Schofield, C.J. Diotaiuti, L. Dujardin, J.P. 1999. *The Process of Domestication in Triatominae*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 94(1): 375-378.
64. Schofield, C.J. 2000. *Challenges of Chagas Disease Vector Control in Central America*. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2000.1. 36 pp.
65. Sherlock, I. 2000. *Vetores. En Brener, Z. Andrade, Z, Barral-Netto, M. (editores). Trypanosoma cruzi e doença de Chagas. 2 ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 431 pp.*
66. Siegel, S. Castellan, N.J. 1988. *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*. 2d ed. Mc Graw-Hill Book Company. USA. 399 pp.
67. Solis-Mena, S. 2000. Genetic Variability and Morphometrics of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) geographical populations. London School of Hygiene and Tropical Medicine. Londres. 17 pp.
68. SPSS ® Base 10.0 *Applications Guide*. 1999. SPSS Inc. USA. 426 pp.
69. Tabaru, Y. Rodas, A. Mejía, M. Monroy, C. Hashimoto, T. 1995. *Producción masiva y comportamiento de Triatoma dimidiata y Rhodnius prolixus*. En Y. Tabaru, informe anual No. 4 (GJET-72) del proyecto de cooperación Guatemala-Japón para la investigación de Enfermedades Tropicales, JICA, Guatemala.

70. Usinger, R. 1944. *The Triatominae of North and Central America and the West Indies and their public health significance*. Public Health Bulletin 288.
71. West-Eberhard, MJ. 1989. *Phenotypic Plasticity and the origins of Diversity*. Annu. Rev. Ecol. Syst. 20: 249-278.
72. WHO 1990. *Tropical disease 1990*. Geneva: World Health Organization, mimeographed document TDR/CTP/HH90.1.
73. WHO 1991. *Control of Chagas disease*. Technical Report Series 811. Geneva: World Health Organization.
74. World Bank. 1993. *World Development Report 1993 Investing in Health*. Oxford University Press, New York. 329 pp.
75. Zeledon, R. Rabinovich, J.E. 1981. *Chagas disease: an ecological appraisal with special emphasis on its insect vectors*. Annual Review of Entomology, 26: 101-133.
76. Zeledón, R. 1981. *El Triatoma dimidiata (Latreille, 1811) y su relación con la Enfermedad de Chagas*. EUNED. San José, Costa Rica. 164 pp.
77. Zeledón, R. 1982. *El Triatoma dimidiata (Latreille)*. En: Factores Biológicos y Ecológicos de la Enfermedad de Chagas. Tomo I. Epidemiología de Vectores, Ministerio de Salud y Acción Social, Argentina.
78. Zeledón, R. 1985. *El Triatoma dimidiata (Latreille)*. En Carcavallo, R. Rabinovich, J. Tonn, J. (editores). Factores biológicos y ecológicos de la Enfermedad de Chagas. (Tomo I: Epidemiología-Vectores). Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. OMS. OPS. Servicio Nacional de Chagas. Ministerio de Salud y Acción Social. Argentina. 250 pp.