

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

Variación de la genitalia externa de machos en poblaciones de *Triatoma dimidiata* Latreille (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae).

INFORME FINAL DE TESIS

Presentado por

Sharon van Tuylen

Para optar al título de

Bióloga

Guatemala, Marzo del 2007.

**NOMINA DE INTEGRANTES DE LA
HONORABLE JUNTA DIRECTIVA**

Decano	PhD. Oscar Manuel Cobar Pinto
Secretario	Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto
Vocal I	Licda. Lillian Raquel Irving Antillón
Vocal II	Licda. Liliana Vides de Urizar
Vocal III	Licda. Beatriz Eugenia Bآتres de Jiménez
Vocal IV	Br. Angel Damián Reyes Valenzuela
Vocal V	Br. Angel Jacobo Conde Pereira

Agradecimientos

Al personal del Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología –LENAP- en especial a la Dra. Carlota Monroy por sus ideas y su asesoría y a la Licda. Marianela Menes por su ayuda con los programas para el análisis de datos.

Al personal de la Escuela de Biología, en especial a Sandra, Norma y Alma por su colaboración y amabilidad.

Al Dr. Jose Jurberg del Instituto Oswaldo Cruz de Brazil, por su ayuda y la bibliografía enviada.

Al Dr. Jorge Erwin López por sus comentarios en la revisión de este trabajo, al MSc. Carlos Avendaño y MSc. Dulce Bustamante por su ayuda con la estadística y al Lic. Claudio Mendéz por su apoyo y sus consejos.

Índice

1.	Resumen.....	1
2.	Introducción.....	2
3.	Antecedentes.....	3
2.1	Historia de los Hemípteros de la sub-familia Triatominae.....	3
2.2	Distribución geográfica.....	3
2.3	Biología de <i>Triatoma dimidiata</i>	3
3.3.1	Genitalia externa del macho de <i>Triatoma dimidiata</i>	3
3.3.2	Ecotopo y ciclo vital.....	6
3.4	Importancia de <i>Triatoma dimidiata</i> como Vector de la Enfermedad de Chagas.....	6
3.5	El control de <i>Triatoma dimidiata</i>	7
3.6	La genitalia externa como una herramienta para la taxonomía de Triatominos.....	7
3.7	Otras herramientas utilizadas en taxonomía de Triatominos.....	9
2.7.1	Morfometría.....	9
2.7.2	Marcadores genéticos.....	10
4.	Justificación.....	11
5.	Objetivos.....	12
4.1	General.....	12
4.2	Específicos.....	12
6.	Hipótesis.....	13
7.	Materiales y Métodos.....	14
7.1	Análisis Estadístico.....	14
7.1.1	Universo de estudio.....	14
7.1.2	Selección y tamaño de la muestra.....	14
7.2	Materiales.....	15
7.2.1	Equipo.....	15
7.2.2	Reactivos.....	15
7.3	Métodos.....	15
7.3.1	Preparación de los insectos.....	15
7.3.2	Disección del aparato genital.....	15
7.3.3	Toma de datos.....	16
8.	Resultados.....	17
8.1	Análisis cuantitativo de la genitalia externa de machos de <i>T. dimidiata</i>	19
8.2	Análisis cualitativo de la genitalia externa de machos de <i>T. dimidiata</i>	20
9.	Discusión de Resultados.....	30
9.1	Selección de las poblaciones estudiadas.....	30
9.2	Del uso de la genitalia externa de machos de <i>T. dimidiata</i> como marcador fenético.....	30
9.2.1	Diferencias cuantitativas en la genitalia externa.....	30
9.2.2	Diferencias cualitativas en la genitalia externa.....	32
10.	Conclusiones.....	34
11.	Recomendaciones.....	35
12.	Referencias.....	36

1. Resumen

El trabajo pretende establecer si el uso de la genitalia externa de machos de *Triatoma dimidiata* por si solo es un buen indicador para separar a las poblaciones de acuerdo a características morfológicas y determinar si las variaciones de las estructuras genitales presentan los mismos patrones de agrupamiento de poblaciones que los demostrados por otros caracteres morfológicos externos (alas y cabeza) y los encontrados por la genética.

Para esto se trabajaron 58 organismos procedentes de seis localidades (Tuxpan-México, Yaxhá, Lankín, La Brea, Carrizal y La Primavera-EI Salvador). El trabajo estuvo basado en el análisis cualitativo (características observadas) y cuantitativo (técnicas métricas) de la genitalia externa de machos de *Triatoma dimidiata*. Entre los análisis cualitativos se tomaron en cuenta las formas del falosoma, soporte del falosoma, aparato articulado basal, parámetros, vesícula, proceso mediano del pigóforo y proceso del endosoma. Para el análisis cuantitativo se utilizó el programa TpsDig ver. 2.05 para tomar las medidas de longitud de las primeras cuatro estructuras mencionadas. Los datos obtenidos en coordenadas fueron transformados a logaritmos mediante el programa tet_05. La información fue trasladada a una base de datos en Excel y luego analizada con el programa GraphPad InStat version 3.06 for Windows 95.

Mediante los análisis cualitativos se encontraron diferencias a nivel de forma en todas las estructuras observadas. La diferencia mas evidente fue la variación del número de espinas presentes en el proceso del endosoma.

Se determinó que por lo menos alguna de las poblaciones presentaba diferencia significativa en todas las estructuras ($p < 0.05$), excepto en el ancho de los párameros (ParD , Parlz L1L2), y algunas longitudes del aparato articulado basal (APB1 L6L11, L3L12 y L7L9), por lo que no fueron tomadas en cuenta para el resto del análisis.

Se estableció que la combinación de mediciones que mejor explican las diferencias entre las poblaciones son aquellas que presentan un porcentaje $> 30\%$. Las estructuras que cumplieron con el requisito anterior fueron: largo del soporte del falosoma (FV SPh L1L3), largo del falo (FL L1L3), ancho del falo (FL L2L4) y aparato articulado basal (APB1 L1L2; L1L3; L1L5; L2L3; L2L4; L3L4 y L3L5). Con esto se realizó un análisis de agrupamiento jerárquico y se obtuvieron dos grupos: uno con las poblaciones del Norte (México-Yaxhá) y el otro con las poblaciones localizadas al Sur (Lankín-Brea-EI Salvador).

Los resultados muestran que mediante el uso de la genitalia como un marcador fenético es posible diferenciar poblaciones aisladas geográficamente y que estas diferencias se encuentran tanto de manera cualitativa como cuantitativa; sin embargo, es necesario realizar más estudios que permitan afinar el método cuantitativo.

2. Introducción

Triatoma dimidiata Latreille posee amplia distribución geográfica y su hábitat fue originalmente silvestre, encontrándose aún hoy en día, en bosques y cuevas. Sin embargo, debido a la intervención de origen antrópico en los bosques (para vivienda o para agricultura), la especie ha sido capaz de adaptarse y colonizar viviendas humanas y peri domicilios.

La importancia que toma esta especie en el ámbito humano radica en su capacidad para transmitir el agente etiológico de la tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas (*Trypanosoma cruzi*), debido a que el ciclo doméstico de la tripanosomiasis involucra a los humanos.

El control de *Triatoma dimidiata* representa varios retos puesto que la especie posee gran plasticidad fenotípica, lo cual se refleja en la variación de coloración y tamaño según las condiciones ambientales en las que se encuentre (Dujardin *et al.* 1999a). Dujardin y colaboradores (1999b), también sugieren que debido a la rápida adaptación a nuevas condiciones, pueden surgir nuevas unidades evolutivas que aún compartan un antecedente genético cercano. Así como procesos de evolución convergente en donde formas similares pueden derivarse de diferentes unidades genéticas que se adaptan a los mismos ecotopos.

Además de lo anterior, se han identificado una serie de problemas que limitan el control de las poblaciones, entre ellos:

- La incertidumbre que se tiene acerca de si se está tratando con un complejo de especies o con diferentes poblaciones de la misma especie, lo que provoca que los métodos de control no sean eficientes para todas las poblaciones (Usinger 1944, Bustamante *et al.* 2004, Calderón *et al.* 2004, Calderón *et al.* 2005).
- La diversidad de hábitats que la especie puede ocupar, su amplia distribución y su alta tasa de dispersión y movilidad (Usinger 1944, Zeledón 1981, Monroy *et al.* 2003b).
- La relación genética que poseen en algunos lugares las poblaciones de distintos ecotopos, así como la alta heterogeneidad morfológica, epidemiológica y genética de la especie, como posible causa de las respuestas diferentes a los métodos de control (Usinger 1944, Zeledón 1981, Monroy *et al.* 2003b).

Para poder establecer si las poblaciones de Triatominos que presentan características morfológicas similares pertenecen a una misma unidad evolutiva se han utilizado herramientas tanto fenéticas como genéticas. Actualmente, el estudio de las especies mediante el análisis comparativo de la genitalia externa, entre las especies del mismo género y entre los géneros de la misma tribu y entre las tribus de la subfamilia, ha permitido dilucidar las relaciones filogenéticas entre estos organismos (Jurberg, 2003).

La presente investigación pretendía establecer la posibilidad de utilizar la genitalia como un marcador fenético para la diferenciación de poblaciones aisladas geográficamente y de distintos ecotopos en estudios de poblaciones de *Triatoma dimidiata*. Para esto se disectó la genitalia de machos de 6 diferentes poblaciones y se compararon sus estructuras. A su vez, se determinó si el análisis de poblaciones mediante el uso de la genitalia externa refleja el patrón mostrado por otros estudios de morfología con cabeza y alas de estos organismos.

3. Antecedentes

3.1 Historia de los Hemípteros de la Sub familia Triatominae

Los hemípteros representan un orden antiguo cuyos restos fosilizados datan de entre 232 a 280 millones de años (Schofield, 1994). Constituyen uno de los mayores ordenes de exopterigotas con más de ochenta mil especies agrupadas en dos sub-ordenes Homóptera y Heteróptera, son en su mayoría fitófagos adaptados para alimentarse de la vegetación selvática; algunas familias de Heterópteros son predadores de insectos y pequeños invertebrados, algunos son hematófagos facultativos y la subfamilia Triatominae que son hematófagos obligatorios (Jurberg, 1996).

Los triatominos de hábitos hematófagos probablemente aparecieron en tiempos más recientes evolucionando de predadores asociados a una variedad de alteraciones fisiológicas, morfológicas, etológicas y demográficas (Jurberg, 1996). Actualmente la subfamilia Triatominae se constituye por un grupo de 137 especies distribuidos en 6 tribus y 19 géneros (Galvão, 2003).

Triatoma dimidiata Latreille es una de las especies conocidas desde hace mucho tiempo, esto es, la segunda en ser descrita del genero en 1811 como *Reduvidus dimidiatus*, de amplia distribución geográfica (México, Centro América y norte de Sur América), esta amplia distribución se refleja en su apariencia externa con una variación en el tamaño y coloración que llevo a muchos entomólogos a describir para un mismo taxón numerosas especies más tarde sinonimizadas por Lent y Wygodzinsky (1979). A lo largo del tiempo la especie fue estudiada por numerosos autores caracterizándola en géneros, especies y subespecies diferentes lo que llevó a considerarla hoy como el "Complejo dimidiata" (Lent y Jurberg, 1985).

3.2 Distribución Geográfica

La especie se encuentra distribuida en México (extremo norte de su distribución), en todos los países de Centro América y norte de Sur América (Colombia, Venezuela, Ecuador y Perú). En Guatemala puede encontrarse de altitudes tan bajas como el nivel del mar hasta altitudes de los 2,000 m.s.n.m. (Monroy, 1992).

3.3 Biología de *Triatoma dimidiata*

3.3.1 Genitalia externa del macho de *T. dimidiata*

La genitalia externa de los machos esta representada por el octavo y noveno (pigóforo) segmentos abdominales localizados ventralmente y en el interior del cuerpo del insecto. En reposo el octavo segmento permanece inserto dentro del cuerpo del insecto y envuelve la parte basal del pigóforo. El pigóforo es una cápsula globosa bastante quitinizada y en reposo su parte basal permanece dentro del cuerpo del insecto, representado en su mayoría por el noveno esternito, poseyendo tres aberturas: una basal y dos apicales una superior representada por el décimo segmento (X) tubuliforme y membranoso y el XI segmento que se proyecta dentro del décimo (Dupuis, 1955, 1963, 1970; Jurberg, 1978, 1991, 1996).

Sobre el tubo anal (X) esta localizada la apertura genital (AG) con algunas estructuras alrededor, lateralmente 1+1 placas denominadas Procesos superiores del pigóforo (PrSP) que sirven para limitar la abertura de la cámara genital (Figura 1); más externamente, están localizados 1+1 parámetros que funcionan como órganos auxiliares de la cópula y, bajo la abertura genital, el proceso mediando del pigóforo (PrP) representado por una estructura bastante quitinizada, fija, soldada al borde inferior y con una proyección más o menos saliente (Lent y Wygodzinsky, 1979; Lent y Jurberg, 1985).

En el interior del noveno segmento o pigóforo se localiza un órgano intromitente o falo constituido por el aparato articular (Apb) y por el edeago (Ae); en posición de reposo el falo se encuentra doblado con la parte articular localizada sobre el edeago (Figura 2). El falo se inserta internamente en el pigóforo a través de dos procesos capitados (PrC) localizados en el ápice de los brazos de la placa basal (Plb) donde a través de los músculos protractores y retractores realiza un movimiento giratorio de 180° para exteriorizarse durante la cópula (Figs. 2a, 3a y 3b). El aparato articular posee forma de letra "Y" invertida y esta constituido por cuatro estructuras con formas características: los brazos divergentes, cilíndricos denominados de placa basal (Plb), el brazo impar rectangular y laminar llamado extensión de la placa basal (Eplb) constituida por una placa laminar que una la placa basal al edeago, en cuya cara interna esta localizado el proceso del gonoporo (PrG) de forma cilíndrica, hueco y abierto longitudinalmente, unido a la parte superior del edeago y en la parte inferior a un asta cilíndrica maciza que se une al puente basal (PB) que une a los dos brazos de la placa basal (Lent y Jurberg, 1985).

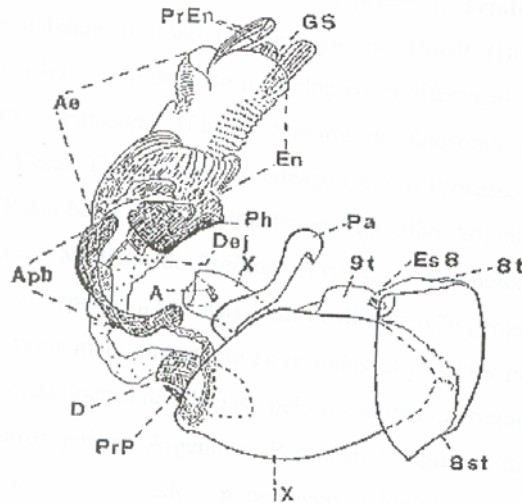


Figura 1. Genitalia disectada de macho de *Rhodnius prolixus* Stahl, 1859. (tomado de Jurberg 1996). Ver abreviaturas en el texto.

El aedeago, cuando retraído, es globoso y está constituido de seis estructuras: la más externa y superior, membranosa, es la conjuntiva (Cj); inferiormente y sirviendo de suelo está el falosoma (Ph), placa laminar y ovoide; dentro del falosoma están localizados el endosoma (En) que es membranoso y elástico y ocupa todo el interior teniendo apenas 1 + 1 procesos del endosoma (PrEn) que son pequeñas prolongaciones laterales aliformes, después de una vesícula (V) localizada en el ápice del edeago; en la cara interna del falosoma está soldada una estructura de base cilíndrica de donde parten dos astas laterales paralelas que pueden estar soldadas o no al ápice, que es denominado soporte del falosoma (SPh) (Lent y Jurberg, 1985).

Por último en la cara interna del noveno segmento, en el exterior, se encuentra el proceso mediano del pigóforo que es triangular, corto de punta redondeada, aspecto común del género (Figura 3b). También se encuentran 1+1 parámetros que son unos apéndices externos movibles, homólogos, de forma más o menos cilíndrica con ápices curvados localizados lateralmente en la apertura genital, cada uno saliendo de un orificio propio; internamente su base esta ligada al falo a través del proceso capitado (PrC) (Dupuis, 1955, 1963, 1970; Jurberg, 1978, 1991, 1996) (Figura 2c). Los ápices de los parámetros, cuando están en reposo, se juntan en el proceso mediano del pigóforo.

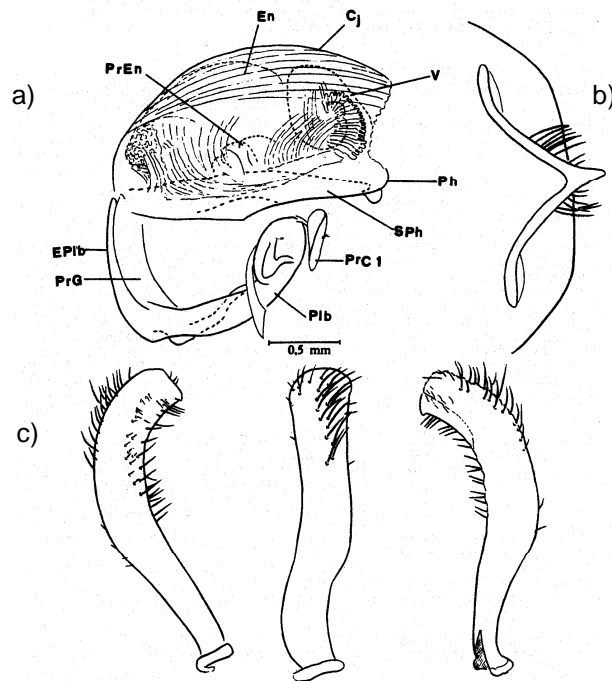


Figura 2. Genitalia externa de *Triatoma dimidiata*. a) Falo de perfil, en reposo; b) proceso mediano del pigóforo; c) parámetros en tres aspectos. (Tomado de Jurberg, 1985)

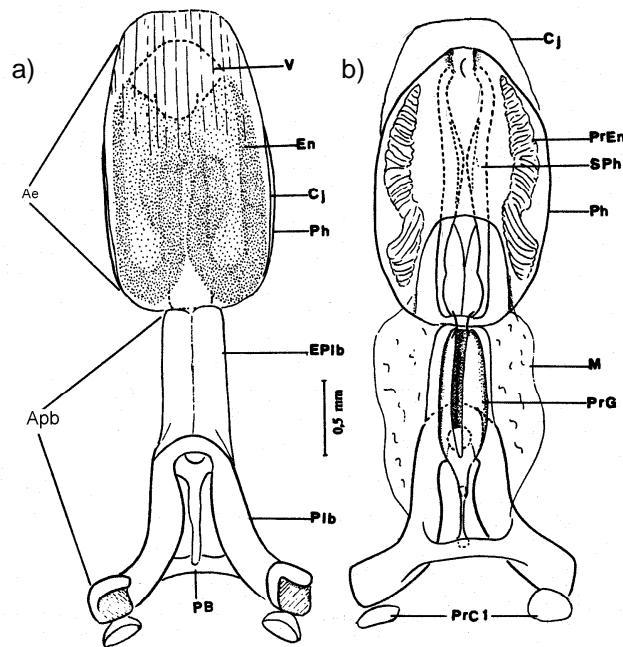


Figura 3. Fallo extendido de *Triatoma dimidiata*. a) vista dorsal; b) vista ventral. (Tomado de Jurberg, 1985).

3.3.2 Ecotopo y Ciclo Vital

Se ha encontrado en variedad de ecotopos selváticos; en montones de rocas, cuevas u hoyos ocupadas por murciélagos (*Desmodus*), en nidos de roedores o marsupiales (*Didelphys marsupialis*), y en árboles huecos. Las ninfas tienen hábitos crípticos, a menudo camuflándose la superficie dorsal con polvo (Monroy 1992; Schoefield 1994).

Bajo condiciones de laboratorio el ciclo de vida toma de 8 a 11 meses, en condiciones de campo es de aproximadamente un año o un poco más dependiendo de la temperatura. La especie es hematófaga obligada y su preferencia de alimentación es variada, comprendida de sangre de mamíferos, aves e incluso reptiles. La cantidad de sangre ingerida aumenta con el estadio ninfal, siendo en promedio de 4.5 mg para los primeros estadios y de 421.3 mg para los quintos estadios. Las hembras adultas consumen un promedio de 282.6 mg de sangre en una alimentación, mientras que los machos 220 mg. (Zeledón *et al.*, 1970a; Zeledón *et al.*, 1970b).

Es capaz de colonizar viviendas humanas, especialmente aquellas construidas de adobe o bajareque, donde se resguarda dentro de las grietas de las paredes (Monroy, 1992). La especie puede ser infectada por *Trypanosoma cruzi* aunque muchas veces se ha encontrado infectada con *T. rangeli* (Sherlock, 2000).

3.4 Importancia de *Triatoma dimidiata* como Vector de la Enfermedad de Chagas

Los triatomíneos son capaces de transmitir el agente etiológico de la tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas, *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae). La tripanosomiasis tiene un ciclo silvestre y otro doméstico que involucra a los humanos (Enfermedad de Chagas Humana). Los triatomíneos son responsables por más del 80% de la transmisión de ECH (Chagas 1912). Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud existen 16 millones de personas infectadas y 90 millones se encuentran en riesgo, a cada año se estiman 500 mil nuevos casos en áreas donde no existe control (Moncayo, 1993).

T. dimidiata es una de las principales especies vectoras de *Trypanosoma cruzi* en Centroamérica, junto con *Rhodnius prolixus*. *T. dimidiata* es el primer vector en Guatemala, El Salvador, Nicaragua y Costa Rica, mientras que en Honduras es el segundo vector principal, siendo el primero *Rhodnius prolixus* (OPS, 2003).

En Guatemala, entre el 30% y 34% de *T. dimidiata* se encuentra infectado con *T. cruzi*, aunque esto varía dependiendo de la región (Monroy 1992). Las condiciones de las viviendas en nuestro país son propicias para la colonización por triatomíneos: 85% de las casas mantienen animales domésticos adentro, 77% tienen cocinas de leña adentro, la mayoría de camas se localizan en esquinas oscuras y sin ventanas, un 60% de las casas en áreas rurales están construidas con paredes de lodo (adobe) (Tabaru *et al.*, 1999). De un total de 2,749 casas encuestadas en Guatemala de 1995-1997 6.5% fueron positivas para los vectores de la enfermedad de Chagas, de los insectos colectados el 64.6% pertenecía a *T. dimidiata* (Tabaru *et al.*, 1999). A pesar de que *Triatoma dimidiata* tiene la mayor distribución en el país, es la especie que presenta menor índice de seroprevalencia (Paz-Bailey *et al.* 2002).

3.5 El Control de *Triatoma dimidiata*

La estrategia de control utilizada en Guatemala inició en el año 2000, mediante el rociamiento de insecticidas piretroides en áreas domiciliarias y peri domiciliarias. Este rociamiento se realiza una vez al año en todas las localidades infestadas después de una evaluación entomológica preliminar de 20 viviendas. Actualmente en algunas áreas se han realizado ya tres rociamientos y los índices de infestación de *T. dimidiata* se han reducido, sin embargo, en algunas áreas, poblaciones residuales o de re infestación permanecen en el domicilio (Nakagague *et al.* 2003).

A pesar de los esfuerzos realizados, la situación del control de *T. dimidiata* se ve complicada por varios factores, a saber:

- a) *Triatoma dimidiata* presenta gran plasticidad fenotípica, lo cual se refleja en la variación de coloración y tamaño según las condiciones ambientales en las que se encuentre (Dujardin *et al.* 1999a). Dujardin y colaboradores (1999b), también sugieren que debido a la rápida adaptación a nuevas condiciones, pueden surgir nuevas unidades evolutivas que aún compartan un antecedente genético, así como que formas similares pueden derivarse de diferentes unidades genéticas que se adaptan a los mismos ecotopos.
- b) La diversidad de hábitats que la especie puede ocupar (selvático, doméstico y peri doméstico) (Petana 1971, Zeledón 1981, Dumonteil *et al.* 2002, Monroy *et al.* 2003b), así como la relación genética tan cercana entre poblaciones de los distintos ecotopos en algunas regiones (Calderón *et al.* 2004, Ramírez *et al.* 2004).

- c) Su amplia distribución, alta tasa de dispersión y movilidad de la especie (vuelos estacionales, migraciones anuales y alto flujo genético en algunas poblaciones): ya que supone que el tratamiento con insecticidas en localidades infestadas promueva y elimine la especie domiciliada y críe la posibilidad de la reintroducción de la misma especie o de otras a los ambientes domésticos y peri domésticos, si no existe una vigilancia constante (Petana 1971, Jurberg 1996, Dumonteil et al. 2002, Dorn et al. 2003, Monroy et al. 2003c).
- d) La alta heterogeneidad de la especie con diferencias morfológicas, epidemiológicas y genéticas (Usinger 1944, Zeledón 1981, Monroy et al. 2003b).
- e) La incertidumbre que se tiene acerca de si se esta tratando con un complejo de especies o con diferentes poblaciones de la misma especie, así como la necesidad de establecer marcadores genéticos y morfológicos más específicos (Usinger 1944, Bustamante et al. 2004, Calderón et al. 2004, Calderón et al. 2005).
- f) La falta de información de indicadores de movilidad que den una idea de los problemas a ser enfrentados por los programas de control (p. ej. Índices de movilidad utilizando: proporción de los sexos, asimetría de las alas) (Monroy com. pers.).
- g) El rol y la importancia de los hábitats peri domésticos en la re infestación y recolonización de las especies debe ser evaluado, debido a que los procedimientos de control hasta ahora aplicados no son efectivos (Gürtler, et al.. 2004) puesto que se ha reportado re infestación después del rociamiento (Dumonteil et al. 2002, Nakagague et al. 2003) y es común encontrar poblaciones residuales (Monroy et al., en preparación).
- h) La falta de conocimiento acerca del deterioro ambiental y la destrucción de los bosques y su asociación con la colonización de las especies en los domicilios.

3.6 La Genitalia externa como una herramienta para la taxonomía de Triatominos:

La importancia de la genitalia en estudios del Orden Hemiptera fue evidenciada por Singh-Pruthi en 1925 y por Davis en 1966, mostrando la variación y complejidad que la genitalia externa podría tener en un gran número de Familias (Jurberg, 1985, 1996; Carcavallo et al. 1999).

En relación a Triatominae, Pinto (1926) fue el primero que puso atención a los detalles de la genitalia masculina, dándole relevancia solamente a los parámetros y al proceso mediano del pigóforo, sin estudiar el falo, posteriormente Galliard en 1935-36 aumento el estudio de la genitalia de ambos sexos y varias publicaciones fueron realizadas mencionando la morfología de los órganos y las estructuras (Jurberg, 1985, 1996; Carcavallo et al. 1999).

Fue hasta en 1955 que Dupuis publicó una revisión de los términos utilizados, permitiendo el estudio de la genitalia y la comprensión de sus partes, revisión que el autor incrementó en 1963 (Jurberg, 1985, 1996; Carcavallo et al., 1999).

La taxonomía de Triatominae ganó una nueva herramienta desde 1965 cuando las estructuras fállicas empezaron a ser analizadas de manera comparativa y asociadas a la morfología externa entre las diferentes especies (Lent y Jurberg 1965, Lent y Wygodzinsky, 1979). La complejidad de la interpretación se hizo útil

puesto que el gran número de estructuras abrió la posibilidad de realizar suficientes comparaciones entre las especies. Se inicio estudiando la genitalia de ambos sexos hasta que se verificó que la genitalia externa femenina no mostraba características propias que pudiesen ser reconocidas por la forma cuando varias especies eran comparadas, entonces a partir de 1965 se decidió estudiar únicamente la genitalia masculina (Jurberg, 1996; Carcavallo *et al.* 1999).

De las 137 especies, 6 tribus y 19 géneros de Triatominos hoy conocidos (Galvão *et al.* 2003) e grupo fue bien estudiado por Lent y Wygodzinsky (1979) y Carcavallo *et al.* (1998,1999) y un gran número de especies son conocidas por sus parámetros fálcos. Hoy el estudio de las especies por si solo y el análisis comparativo entre las especies del mismo genero y entre los géneros de la misma tribu y entre las tribus de la subfamilia, ha permitido establecer relaciones filogenéticas. (Jurberg, 2003).

Algunos de los estudios realizados han logrado establecer la diferenciación de los taxa de la familia Phaelidae con sus dos géneros, diferenciación de especies de Psammolestes estableciendo una nueva especie (*P. tertius* Lent y Jurberg 1965), la revalidación del género *Mepraia* con la especie *Mepraia spinolai*, ubicar nuevas especies de Triatoma. Así mismo, esta herramienta se ha utilizado para diferenciar poblaciones de Triatominos de Sur América de los géneros *Triatoma* y *Rhodnius* (Jurberg, 2003).

3.7 Otras Herramientas utilizadas en taxonomía de triatominos

3.7.1 Morfometría:

La morfometría agrupa un conjunto de métodos para la descripción cuantitativa, análisis e interpretación de la forma biológica y de su variación (Rhof, 1990).

La comparación de las formas se utilizó en un principio en estudios taxonómicos, para clasificar a las especies en base a su apariencia fenotípica. Posteriormente, la morfometría se fue aplicando en estudios de variación morfológica, para analizar los efectos ambientales en los organismos, los cambios a lo largo del desarrollo de los mismos y los procesos de adaptación (Dujardin *et al.* 2000).

Distintas caracterizaciones morfométricas han sido usadas para detectar diferenciación geográfica de los triatominos, para representar relaciones filogenéticas entre especies y medir la variación métrica asociada a algún proceso (Dujardin *et al.*, 2000). La morfometría también se ha propuesto como un marcador de las especies de triatominos que se están adaptando a ecotopos domésticos (Bustamante, 2001).

Los métodos de morfometría tradicional y geométrica aplicados para estudios de *Triatoma dimidiata* y *T. nítida* demostraron la existencia de diferenciación métrica intra específica al estudiar insectos de diferentes localidades estableciendo que las diferencias cuantitativas observadas entre poblaciones puede ser el resultado de procesos evolutivos persuadido por el aislamiento (Bustamante, 2001, 2004; Monroy *et al.*, 2003a; Menes-Menes, 2004).

Las relaciones morfométricas en Triatominae han probado correlacionarse muy bien con la reconstrucción filogenética (Dujardin *et al.* 1999).

3.7.2 Marcadores genéticos:

Los marcadores genéticos permiten detectar especies biológicas inseparables morfológicamente, estimar las relaciones filogenéticas entre especies o de apreciar los flujos génicos de poblaciones locales de una misma especie. (Dujardin *et al.*, 2000).

Varios investigadores (Panzera 1996; García 1998; Noireau 1999 en Calderón 2002; Calderón 2002, Landaverde 2004, entre otros) han utilizado marcadores genéticos en Triatomíneos para diferenciar poblaciones y especies, estableciendo que la técnica puede evidenciar migraciones, fuentes de reinfestación, procesos de especiación, así como también la correlación entre distancias geográficas y genéticas.

Cabe mencionar que, mediante el uso de marcadores genéticos, muchas veces los análisis de los resultados no coinciden con las explicaciones obtenidas mediante técnicas fenéticas (morfometría y genitalia) (Jurberg, 2003).

4. Justificación

Debido a que *Triatoma dimidiata* se encuentra entre los tres principales vectores de la enfermedad de Chagas se hace necesario el conocimiento de la dinámica poblacional de la especie y de sus características genéticas y morfológicas (morfométricas y de la genitalia), para poder distinguir y comparar poblaciones en regiones diversas que tengan patrones epidemiológicos similares para efectos de control. Actualmente se han realizado estudios morfométricos de cabeza y alas, así como también estudios genéticos, que sugieren que esta especie incluye varias poblaciones en proceso de evolución divergente, con aislamiento geográfico como posible causa (Bustamante, 2001; Calderón, 2002; Menes-Menes, 2004; Landaverde, 2004).

Así mismo, la comparación de la genitalia externa de machos ha demostrado ser una herramienta de gran utilidad para explicar la diferenciación entre las poblaciones de Triatominos (Jurberg, 2003). Se tiene conocimiento de que la variación en la genitalia externa puede representar una barrera física para el apareamiento entre poblaciones contribuyendo así al proceso de evolución divergente, sin embargo, hasta ahora en el país no se han realizado investigaciones de este tipo; no se cuenta con una descripción de la morfología de la genitalia externa y tampoco se han hecho estudios comparativos de la genitalia externa de machos entre las poblaciones existentes en el país. Por todo lo mencionado anteriormente, se piensa que el estudio de la genitalia externa aportará información clave acerca de la diferenciación de las poblaciones en el país.

5. Objetivos

5.1 General

Establecer si el uso de la genitalia externa por si solo es un buen indicador para separar a las poblaciones de acuerdo a características morfológicas.

5.2 Específico

Determinar si las variaciones de las estructuras genitales presentan los mismos patrones de agrupamiento de poblaciones que los demostrados por otros caracteres morfológicos externos (alas y cabeza).

6. Hipótesis

- 6.1 La genitalia externa de machos de distintas poblaciones presenta una variabilidad morfológica a nivel del falosoma, soporte del falosoma, proceso del endosoma, vesícula, proceso mediano del pigóforo y parámetros que permiten realizar diferenciación entre poblaciones.
- 6.2 La variación en la morfología de la genitalia externa agrupa a los individuos según ecotopo y localidad de la misma manera que lo hacen otros parámetros fenéticos (cabeza y alas).

7. Materiales y Métodos

7.1 Análisis Estadístico

7.1.1 Universo de Estudio

El universo de estudio estuvo constituido por individuos de *Triatoma dimidiata* de dos distintos ecotopos (domiciliar y silvestre) de Guatemala, El Salvador y México, como se indica en la Tabla 1.

Tabla 1. Cantidad de individuos y poblaciones estudiadas según país, localidad y ecotopo.

País	Departamento	Localidad	Ecotopo	No. de individuos
Guatemala	Jutiapa	La brea	Domiciliar	10
	Jutiapa	Carrizal	Domiciliar	10
	Petén	Yaxhá	Silvestre	10
	Alta Verapaz	Lankín	Silvestre	8
México	Veracruz	Tuxpan	Domiciliar	10
El Salvador	Santa Ana	La primavera	Domiciliar	10

7.1.2 Selección y Tamaño de la muestra

Para la comparación de las estructuras genitales se puede trabajar con 2 a 3 individuos (Jurberg, com. pers.). Se trabajaron, por conveniencia, 10 organismos de cada localidad excepto Lankín¹, escogiendo los individuos con los que ya se ha trabajado anteriormente con otros marcadores fenéticos (alas y cabeza) para posteriormente poder determinar si las variaciones de las estructuras genitales presentan los mismos patrones de agrupamiento.

Las variables a estudiar fueron la forma del falosoma, soporte del falosoma, proceso del endosoma, vesícula, proceso mediano del pigóforo y parámetros, también se tomaron medidas de longitud. Cada estructura fue medida y analizada individualmente mediante el estadístico de prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis debido a que en algunos casos las poblaciones estadísticas no cumplían con los requisitos necesarios para las pruebas paramétricas (normalidad y homogeneidad de varianzas).

Para poder determinar si existían diferencias en las sumas de los rangos dentro de más de dos poblaciones se realizó la Prueba de Comparaciones Múltiples de Dunn. Para establecer las similitudes entre las poblaciones se realizó un análisis de agrupamiento jerárquico utilizando promedios ponderados.

¹ Debido a que no se cuentan con más especímenes en la colección de referencia.

7.2 Materiales

7.2.1 Equipo:

- Cámara Olympus OLY-750
- Estereoscopio Olympus SZ-STS
- Agujas de disección No.5
- Pinzas entomológicas
- Tijeras entomológicas
- 2 Cajas de Petri
- 70 Micro viales

7.2.2 Reactivos

- Alcohol 90%
- Glicerina
- Agua destilada
- KOH al 10%

7.3 Métodos

7.3.1 Preparación de los Insectos

Se utilizaron especímenes de la colección de referencia del Laboratorio de Investigación en Entomología y Parasitología de la Escuela de Biología (LENAP), los cuales se encuentran conservados en una solución de alcohol con glicerina al 95% en un refrigerador a 4° C.

7.3.2 Disección del aparato genital

A cada individuo le fue retirado el 9º segmento (pigóforo) halándolo suavemente con la ayuda de una pinza de disección No. 5, colocada más o menos perpendicular a ambos lados, entre los segmentos VII y VIII o entre el VIII y el pigóforo. Una vez seccionado fue colocado en KOH al 10% durante 1 a 3 minutos, dependiendo del tamaño y grado de dureza del integumento del insecto; posteriormente fue pasado a una caja de petri con agua destilada donde se procedió a remover el material blando de la cavidad interna del pigóforo y a la extracción del fallo. El fallo fue extendido, halando cuidadosamente el endosoma por las áreas más resistentes y por los procesos endosomales presentes en su superficie, a manera de dejarlos todos al descubierto junto con los sacos y lóbulos membranosos presentes. A continuación las estructuras genitales fueron lavadas en una dilución de ácido acético y transferidas a un microvial con etanol/glicerina al 80%. Este último fue identificado convenientemente, mediante un código que permitía conocer su procedencia (modificado de Carrera y Osuna, 1993).

7.3.3 Toma de datos

Una vez extraídas todas las estructuras fueron fotografiadas con un sistema de video (Cámara Olympus OLY-750, conectada a un estereoscopio Olympus SZ-STS). Las imágenes captadas por el video fueron transmitidas a una computadora en donde se archivaron por medio del software Video Highway Xtreme (AIMS Lab. Inc. 1997). Se tomaron medidas de longitud del falsoma, parámetros y aparato articulado con el programa tpsDig ver. 2.05. La información fue trasladada a una base de datos en Excel y luego analizada con el programa GraphPad InStat version 3.06 for Windows 95 (GraphPad Software, San Diego California USA, www.graphpad.com) en donde se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y la prueba post hoc de Dunn. Las estructuras tratadas fueron observadas bajo un estereoscopio de cámara clara y se esquematizaron, anotando en una boleta las características observadas con la respectiva identificación del individuo.

8. Resultados

Se trabajaron en total 58 organismos de las seis localidades, escogiendo los individuos con los que ya se han hecho estudios con otros marcadores fenéticos (alas y cabeza).

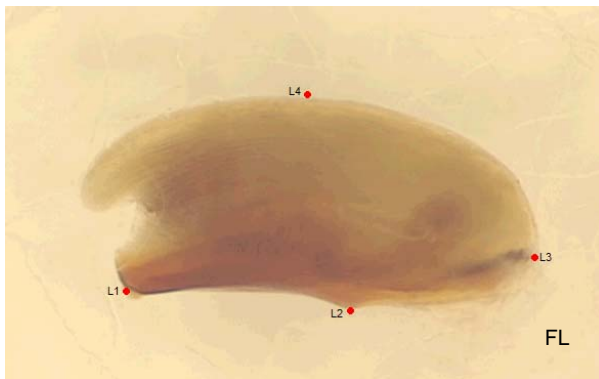
Se utilizaron especímenes de la colección de referencia del Laboratorio de Investigación en Entomología y Parasitología de la Escuela de Biología (LENAP), los cuales se encuentran conservados en una solución de alcohol con glicerina al 95% en un refrigerador a 4° C.

Las variables fueron estudiadas cualitativa y cuantitativamente. Entre los análisis cualitativos se tomaron en cuenta la forma del falosoma, soporte del falosoma, aparato articulado basal, parámetros, vesícula, proceso mediano del pigóforo y proceso del endosoma. Para el análisis cuantitativo se tomaron medidas de longitud de las primeras cuatro estructuras mencionadas.

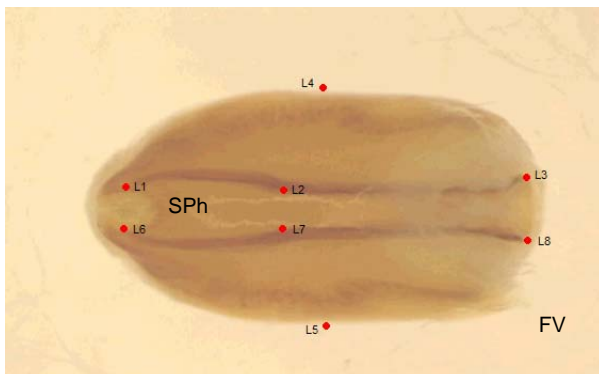
De los 58 individuos seleccionados no siempre fue posible obtener todas las medidas debido al grado de deterioro de los especímenes, por lo que el número de individuos de las poblaciones varió según la estructura medida.

A continuación se presentan las estructuras y las distancias tomadas en cada una de ellas. Para facilitar el análisis se asignaron códigos a las estructuras y a las distancias tomadas.

Falosoma



Falo Vista Lateral (FL)	Código
Ancho	L2L4
Largo	L1L3



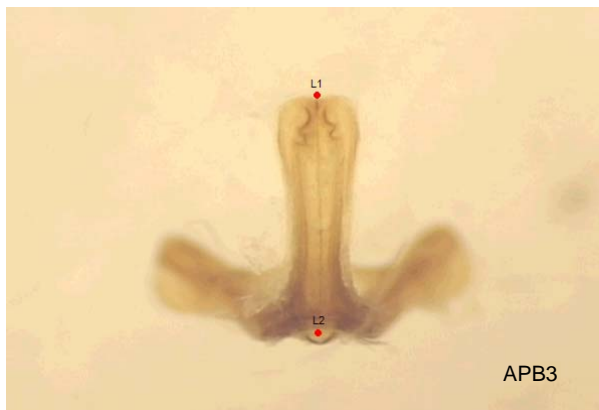
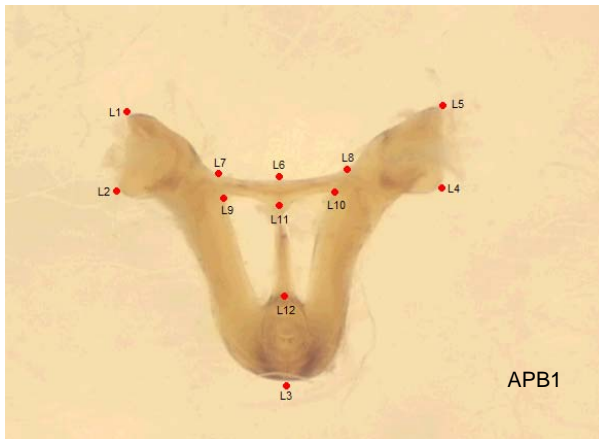
Falo Vista Ventral (FV)	Código
Ancho	L4L5
Largo Soporte del falosoma (SPh)	L1L3
Apertura SPh proximal	L1L6
Apertura SPh distal	L3L8
Distancia curva media	L2L7

Parámetros



Paramero derecho (ParD)	Código
Ancho	L1L2
Largo	L1L4
Paramero izquierdo (ParIz)	
Ancho	L1L2
Largo	L1L4

Aparato Articulado Basal



Aparato Articulado Basal (APB1)	Código
Ancho	L1L5 L2L4
Largo	L1L3 L2L3 L3L4 L3L5
Largo de la placa basal	L7L8 L9L10
Alto de la placa basal	L3L6 L3L11 L3L12 L6L12
Ancho de la placa basal	L1L2 L1L7 L4L5 L5L8 L6L11 L7L9
Aparato Articulado Basal (APB3)	
Largo	L1L2

8.1 Análisis Cuantitativo de la genitalia externa de *T. dimidiata*:

Se tomaron en cuenta las medidas de longitud de las estructuras en las que se consideró que era posible encontrar diferencias. Cada estructura fue medida y analizada individualmente mediante el estadístico de prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. El valor crítico (H) para un $\alpha = 0.05$, con g.l.= 5 fue de 11.07 ($p < 0.05$) y de esta forma se estableció si estas eran significativas en el momento de diferenciar las poblaciones. Los valores obtenidos se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Valores de Kruskal-Wallis (Hc) y diferencias significativas (p) obtenidas para cada una de las estructuras medidas.

Estructura	Kruskal-Wallis (Hc)	p
Falo Lateral		
L1L3	40.339	1.276 e ⁻⁷
L2L4	31.831	6.416 e ⁻⁶
Falo Ventral		
L1L3	33.850	2.551 e ⁻⁶
L4L5	33.073	3.605 e ⁻⁶
L1L6	42.704	4.841 e ⁻⁸
L3L8	20.627	9.448 e ⁻⁴
L2L7	36.522	7.634 e ⁻⁷
Parameros		
ParD L1L2	7.257	0.2022
ParD L1L4	26.528	7.047 e ⁻⁵
Parlz L1L2	8.019	0.1349
Parlz L1L4	29.037	2.280 e ⁻⁵
APB 1		
L1L2	15.972	6.035 e ⁻³
L1L3	19.104	3.975 e ⁻⁴
L1L5	23.275	1.40 e ⁻⁴
L1L7	16.063	1.495 e ⁻³
L2L3	17.574	8.288 e ⁻⁴
L2L4	21.713	9.919 e ⁻⁵
L3L4	16.993	0.001
L3L5	20.159	1.782 e ⁻⁴
L3L6	20.070	2.396 e ⁻⁴
L3L11	17.625	7.045 e ⁻⁴
L3L12	11.164	1.434 e ⁻²
L4L5	16.875	8.937 e ⁻³
L5L8	17.212	3.063 e ⁻⁴
L6L11	10.086	6.629 e ⁻²
L6L12	15.448	4.616 e ⁻³
L7L8	16.337	4.467e ⁻³
L7L9	5.288	0.196
L9L10	15.806	3.184 e ⁻³
APB3		
L1L2	15.985	5.507 e ⁻³

En base a estos resultados se determinó que por lo menos alguna de las poblaciones presentaba diferencia significativa para todas las estructuras, excepto para (ParD) L1L2, (Parlz) L1L2, (APB1) L6L11 y (APB1) L7L9, por lo que no fueron tomadas en cuenta para el resto del análisis.

Para poder determinar qué poblaciones presentaban diferencias se realizó la Prueba de Comparaciones Múltiples de Dunn y se realizó una tabla de valores en donde se colocaron las medidas de las estructuras que presentaron alguna diferencia para alguna combinación de poblaciones (Ver Tablas 3 y 4). Cabe mencionar que no fue posible incluir a la población de Carrizal para comparar el Aparato Articulado Basal puesto que en 8 de los 10 individuos la estructura estaba muy deteriorada. Entonces, se realizaron dos cuadros comparativos, uno que incluía todas las poblaciones y todas las estructuras excepto APB1, y el otro con todas las estructuras y todas las poblaciones excepto la de Carrizal.

Tabla 3. Cuadro comparativo de las estructuras² que presentan diferencia significativa entre las combinaciones de las seis poblaciones y su aporte (%) para establecer el grado de similitud entre las poblaciones.

Estructura	FL		FV					ParD	Pariz	APB3	Total %
	L1L3	L2L4	L1L3	L1L6	L2L7	L4L5	L3L8	L1L2	L1L2	L1L2	
Población											
B - C	X		X								20
B - L				X							10
B - M	X		X				X				30
B - S					X						10
B - Y	X	X	X	X	X	X				X	70
C - L			X								10
C - M							X				10
C - S		X									10
C - Y		X		X	X	X		X	X		60
L - M	X		X				X				30
L - S											0
L - Y	X	X	X		X	X		X			60
M - S							X				10
M - Y		X				X					20
S - Y	X			X				X	X		40
Total %	40	33.33	40	26.67	26.67	26.67	26.67	20	13.33	6.67	

² Este cuadro toma en cuenta la población de Carrizal y excluye la estructura APB1.

Tabla 3. Cuadro comparativo de las estructuras que presentan diferencia significativa entre las combinaciones de las cinco poblaciones y su aporte (%) para establecer el grado de similitud entre las poblaciones.

Población	APB1														
	L1L2	L1L3	L1L5	L1L7	L2L3	L2L4	L3L4	L3L5	L3L6	L3L11	L4L5	L5L8			
B - L															
B - M											X				
B - S															
B - Y															
L - M	X														
L - S	X														
L - Y	X														
M - S															
M - Y															
S - Y															
TOTAL %	30	30	30	20	30	30	30	30	20	20	20	20	20	20	20

Tabla 3 (Continuación). Cuadro comparativo de las estructuras que presentan diferencia significativa entre las combinaciones de las cinco poblaciones y su aporte (%) para establecer el grado de similitud entre las poblaciones.

Población	APB1				FL		FV						ParD	ParIz	APB3	Total %
	L6L11	L6L12	L7L8	L9L10	L1L3	L2L4	L1L3	L1L6	L2L7	L4L5	L3L8	L1L2	L1L2	L1L2		
B - L							X									3.85
B - M					X			X			X					19.23
B - S								X								3.85
B - Y					X	X	X	X	X					X		57.69
L - M					X	X					X					26.92
L - S																3.85
L - Y	X		X	X	X	X	X	X	X	X		X				73.08
M - S											X					3.85
M - Y									X							15.38
S - Y			X	X	X	X	X	X				X	X	X		50.0
TOTAL %	10	10	20	20	50	40	40	30	30	30	30	20	10	10	10	

En base a esto se hicieron rangos para determinar la combinación de mediciones que mejor explican las diferencias entre las poblaciones y se estableció que aquellas con un porcentaje > 30 % son las que aportan información suficiente para explicar dichas diferencias (Tabla 5).

Tabla 5. Rangos establecidos para determinar la combinación de mediciones que mejor explican las diferencias entre las poblaciones.

Rango (%)		
0-14 %	No explican las diferencias o las explican muy poco	No aportan información suficiente
15-29%	Explican poco las diferencias	No aportan información suficiente
> 30 %	Explican las diferencias	Aportan información suficiente

Con estos mismos datos se realizó un Análisis de Agrupamiento Jerárquico utilizando promedios ponderados, basado en el número de disimilitudes que presentaba cada estructura en cada una de las poblaciones. Entonces, a menor cantidad de disimilitudes encontradas en cada una de las estructuras, mas similares son las poblaciones (ver Tabla 6). Se realizaron dos análisis: en el primero se incluyó a la población de Carrizal y se excluyó la estructura APB1 y el segundo viceversa. En ambos casos se obtuvieron dos grupos: uno con las poblaciones del Norte y el otro con las poblaciones localizadas al Sur. (Ver Gráfica 1).

Tabla 6. Cuadro de disimilitudes entre las poblaciones con el análisis de promedios ponderados.

a)

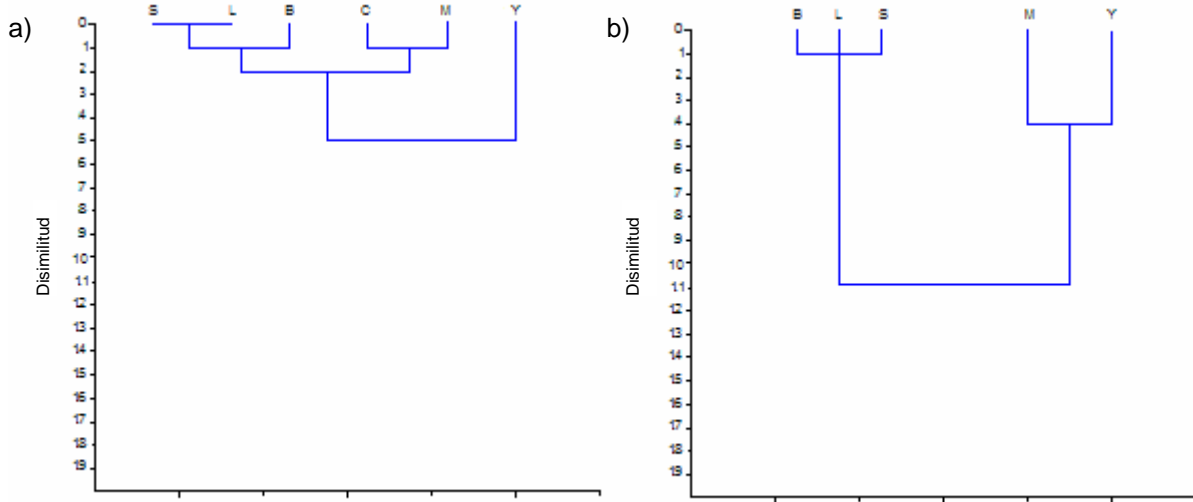
No. de disimilitudes encontradas entre poblaciones					
	Carrizal	Lankín	México	El Salvador	Yaxhá
Brea	2	1	3	1	7
Carrizal		1	1	1	6
Lankín			3	0	6
México				1	2
El Salvador					4

b)

No. de disimilitudes encontradas entre poblaciones				
	Lankín	México	El Salvador	Yaxhá
Brea	1	5	1	15
Lankín		7	1	19
México			5	4
El Salvador				13

Tabla 6. Cantidad de disimilitudes encontradas en las diferentes estructuras entre poblaciones a) Cuadro que incluye la población de Carrizal y excluye la estructura APB1. b) Cuadro que excluye la población de Carrizal e incluye la estructura APB1. La identidad de la estructura no es tomada en cuenta ya que no es útil para este análisis.

Grafica 1. Análisis de Agrupamiento Jerárquico basado en el número de disimilitudes presentes en las estructuras para cada población.



Se presentan los análisis realizados mediante agrupamiento jerárquico basado en el número de disimilitudes presentes en las estructuras para cada población. A menor cantidad de disimilitudes más similares las estructuras y por lo tanto las poblaciones. a) Análisis realizado incluyendo a la población de Carrizal y sin la estructura APB1 y b) Análisis realizado excluyendo a la población de Carrizal y con la estructura APB1, aquí se pueden observar básicamente 2 agrupaciones según localización geográfica: al Norte México-Yaxhá y al Sur Lankin-Brea-Carrizal y el Salvador.

8.2 Análisis Cualitativo de la genitalia externa de *T. dimidiata*:

Las estructuras tratadas fueron observadas bajo un estereoscopio de cámara clara y fueron esquematizadas, luego se anotaron en una boleta las características observadas con la respectiva identificación del individuo. Se encontraron diferencias a nivel de forma en todas las estructuras observadas. El falosoma presentó formas que se pueden clasificar como elípticas, ovoides o rectangulares (figura 4). El proceso del endosoma pudo diferenciarse debido a la presencia o ausencia de espinas (figura 9); el soporte del falosoma se clasificó según si se encontraba abierto o cerrado en la parte apical (figura 8), así como dependiendo de su curvatura y divergencia. Las diferencias en los parámetros y en el proceso mediano del pigóforo fueron menos evidentes. Los parámetros se diferenciaron según si eran de tamaño largo, medianos o cortos y según velloso (figura 5). El proceso mediano del pigóforo varió según su proyección en la parte apical (figura 7). La diferencia más evidente encontrada en el aparato articulado basal (APB1) fue el grosor y el largo (figura 6). También se encontraron diferencias en la forma de la vesícula (figura 10). La descripción detallada de las diferencias en la forma de las estructuras se encuentra en la Tabla 7.

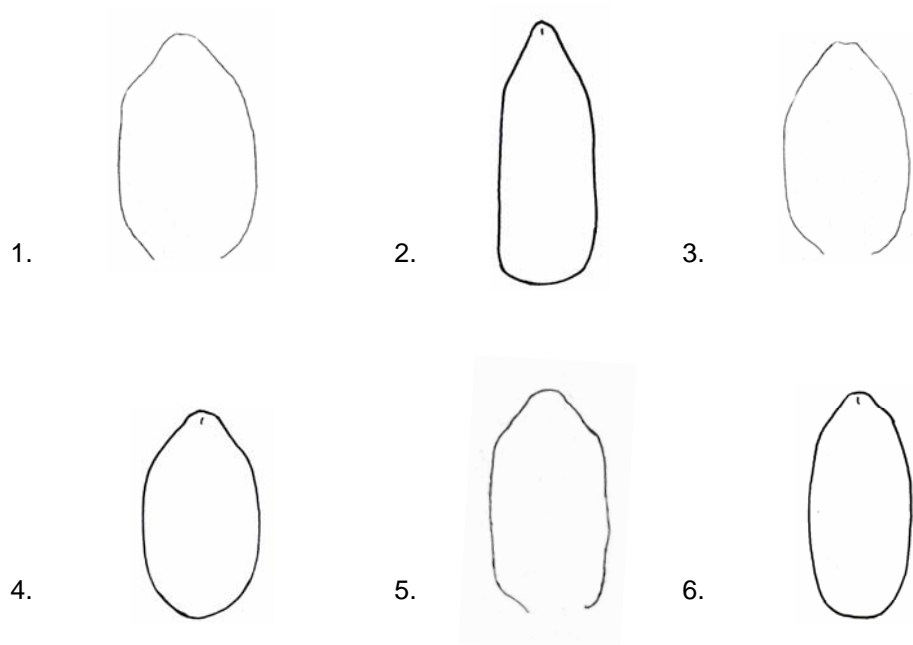


Figura 4. Cuadro comparativo del Falosoma de un ejemplar de las seis poblaciones estudiadas. 1. Brea 2. Lankín 3. Carrizal 4. México 5. Yaxhá y 6. El Salvador.

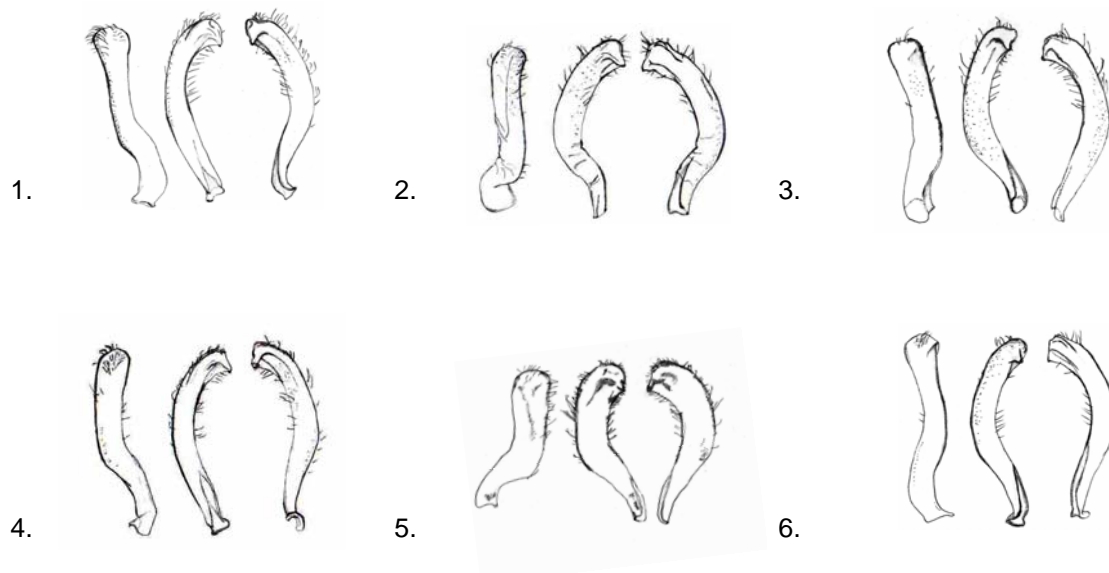


Figura 5. Cuadro comparativo de los Parámetros de un ejemplar de las seis poblaciones estudiadas (en tres posiciones). 1. Brea 2. Lankín 3. Carrizal 4. México 5. Yaxhá y 6. El Salvador.

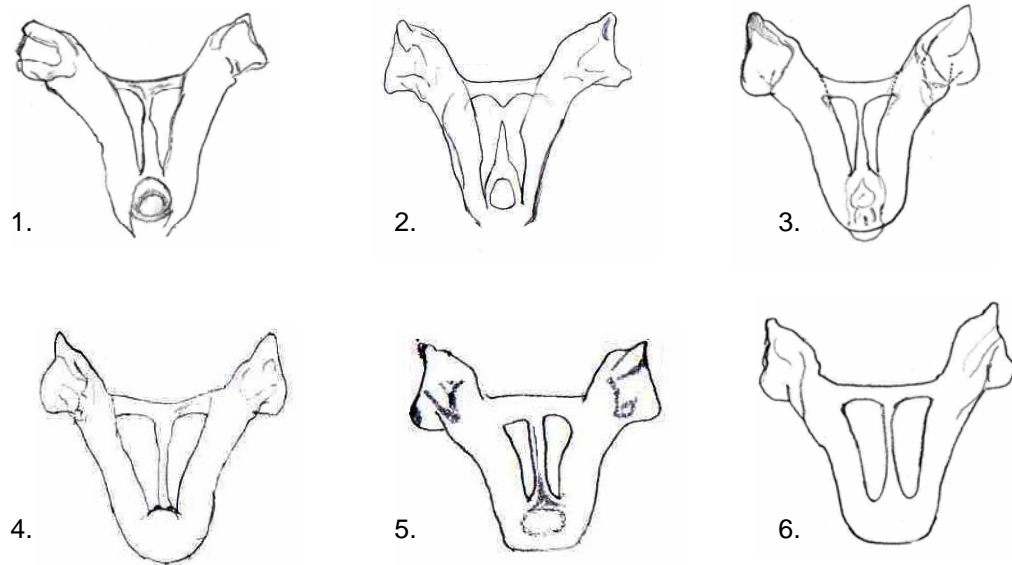


Figura 6. Cuadro comparativo del Aparato Articulado Basal (APB1) de un ejemplar de las seis poblaciones estudiadas. 1. Brea 2. Lankín 3. Carrizal 4. México 5. Yaxhá y 6. El Salvador.

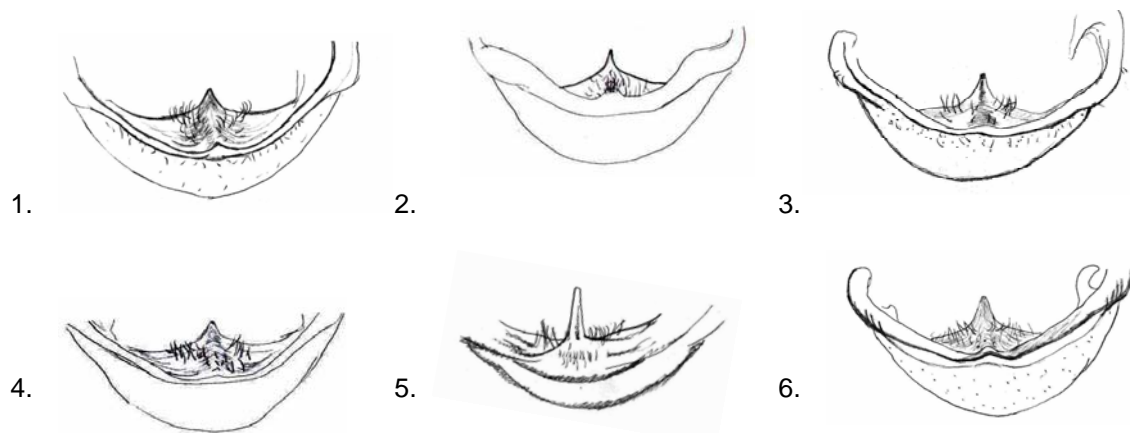


Figura 7. Cuadro comparativo del Proceso Mediano del Pigóforo de un ejemplar de las seis poblaciones estudiadas. 1. Brea 2. Lankín 3. Carrizal 4. México 5. Yaxhá y 6. El Salvador.

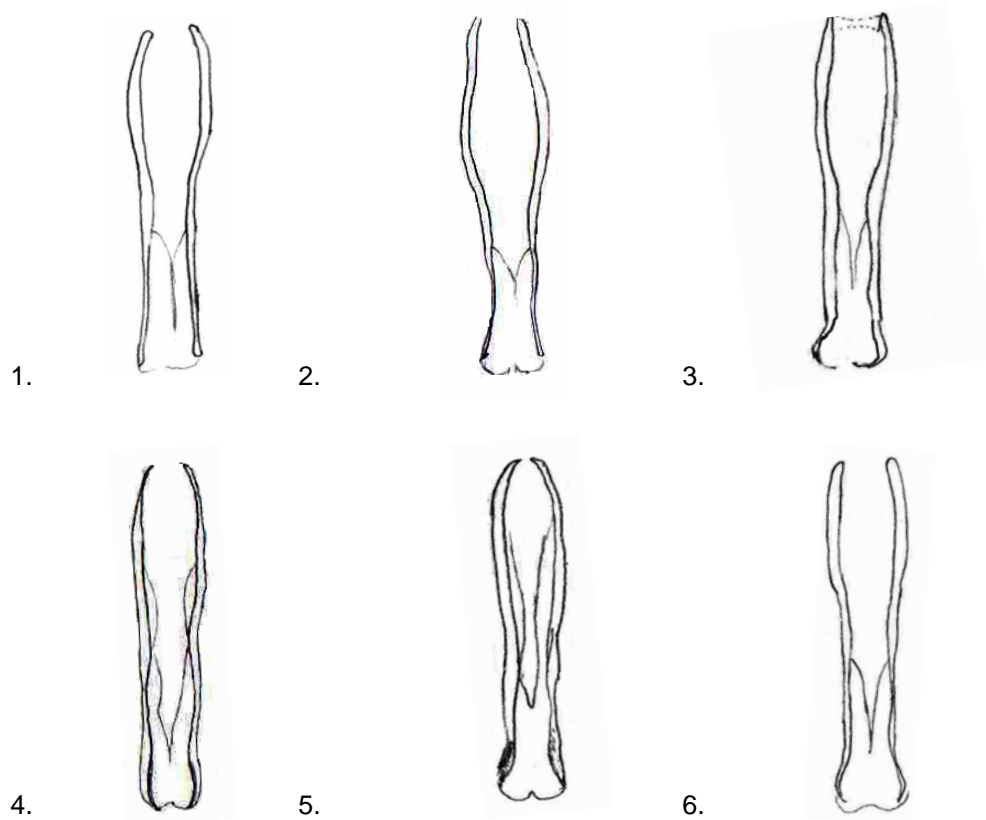


Figura 8. Cuadro comparativo del Soporte del Falosoma (SPh) de un ejemplar de las seis poblaciones estudiadas. 1. Brea 2. Lankín 3. Carrizal 4. México 5. Yaxhá y 6. El Salvador.

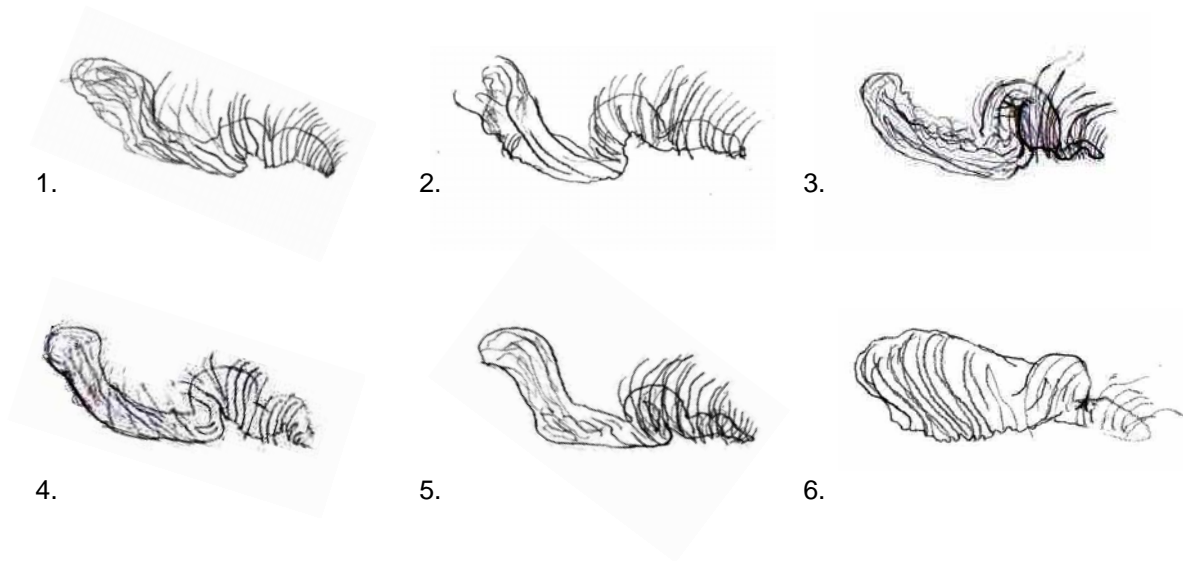


Figura 9. Cuadro comparativo del Proceso del Endosoma de un ejemplar de las seis poblaciones estudiadas. 1. Brea 2. Lankín 3. Carrizal 4. México 5. Yaxhá y 6. El Salvador.

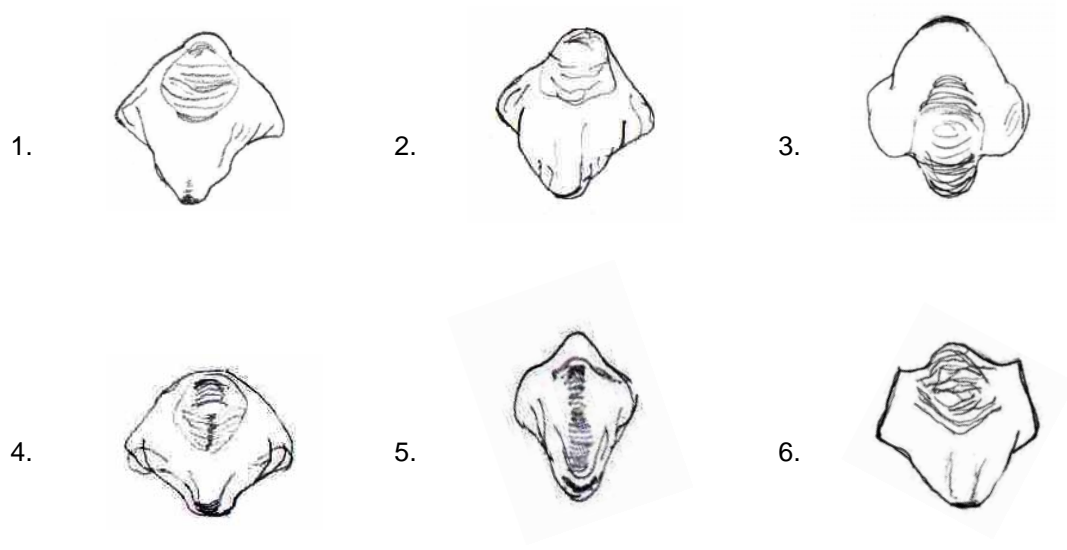


Figura 10. Cuadro comparativo de la Vesícula de un ejemplar de las seis poblaciones estudiadas. 1. Brea 2. Lankín 3. Carrizal 4. México 5. Yaxhá y 6. El Salvador.

Tabla 7. Cuadro comparativo de las estructuras de la genitalia externa de machos de *Triatoma dimidiata* Latreille,

Estructura Localidad	PrEn	SPh	Ph	Parameros	PMed
Brea	Delgado alargado con muy pocas espinas	Abierto poco curveado	Ovoide con proyección apical	Largos delgados Poco curveados con muchos pelos gruesos	Agudo, triangular, pequeño muy poco pronunciado ápice redondeado
Lankin	Grueso Corto con espinas	Abierto recto	Rectangular, largo, con proyección apical (ápice agudo)	Medianos delgados curveados con pocos pelos	Agudo, triangular, medianamente pronunciado
Carrizal	Delgado alargado Sin espinas	Abierto con membrana, apariencia divergente poco curveado	Ovoide, sin proyección apical	Largos delgados Poco curveados con muchos pelos gruesos	Agudo, triangular pequeño poco pronunciado
Salvador	Delgado Mediano Sin espinas	Abierto curveado	Elíptico Sin proyección apical	Largos, delgados poco curveados, sin pelos o con muy pocos pelos y finos	Agudo, triangular, mediano, poco pronunciado ápice puntudo
México	Delgado mediano Con espinas	Abierto curveado	Ovoide con proyección apical	Largos, delgados muy poco curveados, sin pelos o con muy pocos pelos y finos	Agudo, triangular, mediano, poco pronunciado ápice puntudo
Yaxhá	Delgado corto Con muchas espinas	Abierto mas recto que curveado	Rectangular sin proyección apical	Cortos, gruesos, muy curveados con muchos pelos finos	Agudo, triangular, largo, ápice muy pronunciado

9. Discusión de Resultados

9.1 Selección de las poblaciones estudiadas:

Las poblaciones estudiadas fueron seleccionadas en base a tres condiciones: su importancia epidemiológica, su hábitat (domiciliar y silvestre) debido a la capacidad de reinfestación o colonización que presenta la especie, y los resultados que han presentado estas poblaciones en otros estudios genéticos y morfológicos esto último con fines comparativos para establecer la precisión del método utilizado.

9.2 Del uso de Genitalia externa del macho de *T. dimidiata* como marcador fenético:

De acuerdo con Jurberg (1977, 1996, 2003) los órganos genitales externos de los machos de diferentes especies de triatominos pueden a veces presentar características muy particulares en ambos, el aparato articulado y en el aedeago. Esto puede ser evaluado mediante la presencia, ausencia o localización (y con este estudio el tamaño) de las estructuras, siendo adecuadas para el desarrollo de métodos sistemáticos a nivel de especies, géneros, tribus y subfamilias.

9.2.1 Diferencias Cuantitativas en la genitalia externa:

En un estudio realizado por Rocha *et al.* (1998) se hizo una primera aproximación para un método cuantitativo al cuantificar el número de espinas presentes en el proceso del endosoma. Sin embargo, hasta ahora ningún estudio realizado había comparado métricamente caracteres morfológicos de la genitalia externa de Triatominos. En el presente trabajo se realizaron mediciones de la genitalia externa y se obtuvieron resultados que, en general concuerdan con los encontrados mediante técnicas genéticas y fenéticas (morfometría de cabeza y alas) utilizadas para separar poblaciones de *T. dimidiata*.

Mediante las técnicas métricas y los análisis utilizados para el presente trabajo se logró establecer que la combinación de medidas que mejor explica las diferencias entre las poblaciones (aquellas cuyo rango fue > 30 %) son: largo del soporte del falosoma (FV SPh L1L3), largo del falo (FL L1L3), ancho del falo (FL L2L4) y aparato articulado basal (APB1 L1L2; L1L3; L1L5; L2L3; L2L4; L3L4 y L3L5).

Teniendo en cuenta lo anterior se realizaron dos análisis: el primero que incluía a las seis poblaciones, excluyendo una estructura (APB1) y el segundo que excluía a la población de Carrizal e incluía todas las estructuras que presentaban diferencias significativas. Los resultados obtenidos mediante el análisis jerárquico en el primer caso diferencian tres grupos: el primero, en donde se agruparon las poblaciones de El Salvador con Lankín, a este grupo se le une la Brea, el segundo grupo que lo conforma Carrizal y México y el tercero, Yaxhá, como una población totalmente diferente. Las relaciones presentadas entre las poblaciones (al no tomar en cuenta una estructura) son totalmente distintas a las encontradas con otros métodos y no tienen una relación lógica al basarnos en los conocimientos que se tienen acerca de la biología de la especie.

En el segundo análisis se tomó en cuenta a APB1 y se excluyó la población de Carrizal. Aquí el agrupamiento jerárquico separó a las poblaciones en dos grupos: Norte y Sur. En el Norte se encuentran agrupadas a las poblaciones de México y Yaxhá y en el Sur las poblaciones de Lankín, La Brea y El Salvador. Las agrupaciones Norte-Sur encontradas mediante el análisis jerárquico, en general, coinciden con los resultados de los estudios realizados por Solís-Mena (2000) y por Menes-Menes (2004) con morfometría de alas y cabeza y también con las separaciones planteadas por Usinger (1944) en donde propone la existencia de tres subespecies conforme su distribución geográfica: *macaulipenis* para la forma mexicana, *dimidiata* para la forma centroamericana y *capitata* para la forma sudamericana (Colombia). Sin embargo, la población de Lankín, que en otros estudios ha demostrado ser totalmente diferente a las poblaciones de Norte y Sur, aquí aparece asociada a las otras dos poblaciones del sur. Este hecho sugiere un posible error en el método y por lo tanto este debe ser afinado, ya sea re-localizando los puntos, aumentando la cantidad de medidas tomadas en cada estructura (según sea posible), incrementando el número de especímenes muestreados, o todos los anteriores.

Este segundo análisis también resaltó la importancia que tiene tanto el APB1, como el número de estructuras tomadas en cuenta para los resultados obtenidos. La estructura APB1 (debido a la localización y cantidad de medidas que le pueden ser tomadas) es la que aporta mayores diferencias, por lo que se plantea que esta estructura podría ser tratada con morfometría tradicional o geométrica y la posibilidad de que por sí sola permita separar a las poblaciones según localización geográfica.

Es importante señalar que en las agrupaciones encontradas mediante el análisis métrico de la genitalia, al igual que en el análisis de morfometría de cabeza y alas (Menes-Menes, 2004), en el de proteínas salivales (Pineda, 2005) y en el de frecuencias génicas (Landaverde, 2004) las poblaciones no se diferenciaron por ecotopos (silvestre y doméstica), lo que nos indica la posibilidad de que exista flujo genético entre las poblaciones de los distintos ecotopos.

Por último, se pudo establecer que las medidas que en este caso no son útiles para diferenciar las poblaciones (cuyo rango fue < 30%) son: apertura del soporte del falosoma proximal (FV L1L6) y distal (FV L3L8), distancia curva media (FV L2L7), ancho del falo (FV L4L5), largo de los parámetros (ParD L1L4; ParL L1L4), aparato articulado basal (APB1 L1L7, L3L6, L3L11, L4L5, L5L8, L6L11, L6L12, L7L8 y L9L10) así como también el largo del aparato articulado basal (APB3 L1L2). Sin embargo, es posible que al aumentar el número de muestra varíe el nivel de significancia para algunas de estas estructuras y puedan ser incluidas para la separación de las poblaciones, por lo que se recomienda que sean tomadas en cuenta para los estudios posteriores hasta que la técnica pueda ser afinada.

9.2.2 Diferencias Cualitativas en la genitalia externa:

Para el análisis cualitativo fueron tomadas en cuenta las seis poblaciones. Aquí, todas las estructuras de la genitalia externa de los machos presentaron leves diferencias cualitativas entre las poblaciones y es posible separarlas mediante estas diferencias y así como también realizar ciertas agrupaciones: las poblaciones del norte México y Yaxhá tienden a tener estructuras genitales más pequeñas y en ocasiones más robustas en comparación con las poblaciones del sur y de allí la posibilidad de separar norte y sur.

Las poblaciones agrupadas al Norte mediante el análisis métrico, aunque son similares en tamaño difieren en las formas de las estructuras. Esto se puede observar claramente en que en la población de Yaxhá la forma del falosoma que tiende a ser más rectangular que ovoide, los párameros son más gruesos y cortos, el aparato articulado basal es más pequeño y grueso, y el proceso mediano del pigóforo tiene el ápice más pronunciado en comparación con la población de Tuxpan, México. Según el estudio realizado por Panzera *et al.* (2006), la población de Yaxhá pertenece a un cito-tipo diferente (cito-tipo 3) de las poblaciones de México (cito-tipo 2) y de las poblaciones del sur de Guatemala (cito-tipo 1). Aun así, se encuentra más estrechamente relacionada con las especies mexicanas que con las especies del sur (Marcilla *et al.*, 2000 y Calderón *et al.* 2004), lo que apoya la relación encontrada en el presente estudio con el análisis de agrupamiento jerárquico.

Las poblaciones del sur presentaron formas bastante similares en estructuras tales como el soporte del falosoma, párameros, proceso mediano del pigóforo y aparato articulado basal. Dos estructuras presentaron diferencias básicas: la forma del falosoma, que varió para la población de El Salvador (aquí, el falosoma presentó una forma elíptica mientras que en las poblaciones de la Brea y Carrizal este fue ovoide) y el proceso del endosoma (que presentó espinas en la población de La Brea y no así en la de Carrizal y El Salvador). Sin embargo, el resto de las similitudes halladas en las formas y mediante la técnica métrica permiten establecer una relación consistente entre estas poblaciones.

En general, de todas las diferencias encontradas en todas las poblaciones la más evidente fue la variación del número de espinas presentes en el proceso del endosoma. Esta variación fue observada por primera vez por Lent y Jurberg (1985) en especímenes de *T. dimidiata* y *T. infestans* y luego cuantificada en *T. infestans* por Rocha *et al.* (1998) lo que permitió establecer diferencias entre poblaciones de Brasil y Bolivia.

En el presente estudio no se cuantificó el número de espinas, sin embargo se pudo observar un gradiente de “transición” entre las poblaciones del norte y las del sur, donde el carácter va variando gradualmente. Es decir, las poblaciones de México y Yaxhá presentan gran cantidad de espinas, Lankín y La Brea presentan menor cantidad de espinas y en los individuos de Carrizal y El Salvador el carácter no se presentó.

Debido a que según análisis genéticos recientes el posible origen de la especie es en la Península de Yucatán (Ramsey *et al.* 2005), en donde las poblaciones estudiadas son de origen principalmente silvestre o peri doméstico, puede ser que la presencia de espinas en el proceso del endosoma sea un carácter ancestral que podría estar asociado al hábitat de la especie y por esto el carácter es compartido entre los individuos provenientes de las regiones de origen más antiguo (en este caso las regiones de origen cárstico Tuxpan, Peten y Lankín). Así mismo, la ausencia del carácter parece estar asociada a regiones de origen más reciente

(Carrizal y El Salvador). Con lo anterior se puede decir que estas características tienden a estar asociadas al hábitat de la especie. Cabe mencionar que en el estudio realizado por Rocha y colaboradores (1998) con *T. infestans* también se encontró una tendencia consistente entre el número de espinas presentes en el endosoma y el hábitat de la especie.

Bajo la hipótesis de hábitat podría explicarse el caso de la asociación Lankín-Brea-El Salvador, encontrada con la técnica métrica en el dendrograma. Es probable que los individuos de estas poblaciones sean principalmente de origen silvestre (probablemente cuevas) que recientemente hayan colonizado las viviendas y hayan conservado algunos caracteres de tamaño. Sin embargo, ciertas características de la forma de las estructuras de la población de Lankín suelen ser bastante distintas a las del resto de las poblaciones del Norte y del Sur (ver Tabla 5). La población de Lankín también ha presentado diferencias en los perfiles de hidrocarburos cuticulares (Calderón et al. 2005a), así mismo presenta fuertes diferencias morfométricas (en alas y cabeza) con respecto a otras poblaciones de *T. dimidiata* (Menes, 2004), además de que existe aislamiento reproductivo (Monroy, com. pers.). Lo anterior sugiere que la población de Lankín se encuentra en un proceso de especiación, por lo que se propone tratar a esta población aparte, sin formar parte de las agrupaciones presentadas en el dendrograma.

Los resultados obtenidos con las poblaciones estudiadas demuestran dos aspectos de suma importancia: el primero, que existen dos líneas evolutivas diferentes (norte y sur) lo cual tiene implicaciones básicas para el control de las poblaciones, por lo que es necesario el esclarecimiento de los orígenes y de las relaciones que existen entre ambas líneas.

El segundo aspecto a considerar es que mediante el uso de la genitalia como un marcador fenético es posible diferenciar poblaciones aisladas geográficamente y que estas diferencias se encuentran tanto de manera cualitativa como cuantitativa. Sin embargo, aunque el método cuantitativo permite diferenciar poblaciones de una misma especie parece ser débil al momento de diferenciar poblaciones de diferentes especies. Esto se deriva del hecho de que en las técnicas métricas sólo se están tomando en cuenta medidas de largos y anchos en las estructuras, esto significa que puede existir cierto error al momento de introducir datos de especies cercanamente emparentadas que presenten tamaños similares, puesto que pueden resultar agrupaciones inter-específicas como se observó en este caso con la población de Lankín.

Entonces para poder esclarecer el caso de la asociación encontrada con la población de Lankín y establecer si el método utilizado es confiable para hacer separaciones intra e inter-específicamente es necesario realizar otros estudios que incluyan individuos de especies cercanamente emparentadas.

10. Conclusiones

- 10.1. La genitalia como un marcador fenético permite diferenciar poblaciones aisladas geográficamente y estas diferencias se encuentran tanto de manera cualitativa como cuantitativa.
- 10.2. Los análisis cuantitativos (métricos) y los cualitativos en las poblaciones estudiadas permitieron diferenciar dos grupos dentro de la especie: 1) Norte de Guatemala y México y 2) Lankín-Brea-Carrizal-El Salvador.
- 10.3. Las agrupaciones encontradas mediante el análisis de la genitalia coinciden en general con las encontradas por los análisis genéticos y los morfométricos (cabeza y alas) excepto para la población de Lankín.
- 10.4. Al igual que con otras técnicas, no es posible separar a las poblaciones por ecotopos (silvestre y doméstica) mediante el análisis de la genitalia, lo que sugiere que existe flujo genético entre los individuos de los distintos ecotopos.
- 10.5. El método cuantitativo permite diferenciar poblaciones de una misma especie pero parece ser débil al momento de diferenciar poblaciones de especies emparentadas.
- 10.6. Existe una tendencia fuerte de las características cualitativas a estar asociadas al hábitat de la especie.

11. Recomendaciones

- 11.1 Afinar el método ya sea mediante la re-localización de los puntos, el aumento de la cantidad de medidas tomadas en cada estructura (según sea posible), el incremento del número de especímenes muestreados, o todos los anteriores.
- 11.2 Realizar otros estudios que incluyan individuos de especies cercanamente emparentadas para poder establecer si el método utilizado es confiable para hacer separaciones intra e inter-específicamente.
- 11.3 Evaluar la posibilidad de hacer análisis morfométricos a la estructura APB1 para establecer si se pueden separar las poblaciones intra e inter-específicamente utilizando únicamente esta estructura.
- 11.4 Reunir los datos que se han obtenido mediante todos los estudios para hacer análisis filogenéticos y de esta manera poder esclarecer el origen de la especie y la situación taxonómica de la población de Lankín.

12. Referencias

1. Bustamante D., Monroy C., Menes M., Rodas A., Salazar-Schettino PM., Rojas G., Pinto N., Ghul F., Dujardin JP. 2004. Metric Variation Among Geographic Populations of the Chagas Vector *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) and Related Species *Med. Entomol.* 41(3): 000-000
2. Calderón, C. 2002. Variabilidad genética de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) en tres poblaciones silvestres del Atlántico y tres poblaciones domesticas del Pacifico de Guatemala, utilizando la técnica de amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPD). Tesis Biólogo. Fac. Ciencias Químicas y Farmacia. USAC. Guatemala. 116pp
3. Calderón, C. Dorn P., Melgar S., Chavez J., Rodas A., Rosales R., Monroy C. 2004. A preliminary assessment of genetic differentiation of *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) in Guatemala by Random Amplification of Polymorphic DNA-polymerase Chain Reaction. *J. Med Entomol* 41(5): 882-887
4. Calderón G., Juárez M., Monroy C., Menes M., Bustamante D., Mijailovsky S. 2005a. Intra specific variability in *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) population from Guatemala based on Chemical and Morphometric Analyses. *J. Med Entomol* 42(1): 29-35
5. Calderón G., Juárez M., Ramsey, J. 2005b. Cuticular hydrocarbon variability among *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) populations from Mexico and Guatemala. *J. Med Entomol* 42: 719-725.
6. Carcavallo, R.U; Galíndez-Giron, I. ; Jurberg, J. & Lent, H. 1998/1999. Atlas of Chagas Disease Vectors in the Americas. Vol 3. Editora Fiocruz. Río de Janeiro. pág 85-104.
7. Carcavallo, R.U., Rabinovitch, J.E. & Tonn R.J. 1985. Factores Biológicos y Vectores: Organización Panamericana de la Salud (OPS). Servicio Nacional de Chagas. Argentina. 230pp.
8. Carrera, Z. & Osuna, E. 1993. Morfología de la Genitalia Externa Masculina de la Tribu Harpactorini (Reduviidae: Harpactorinae). Parte 1ª: Morfología General del Fallo. *Bol. Entomol. Venez. N.S.* 11(1): 1-9.
9. Castellan, J., Siegel S. 1988. Non-Parametric Statistics for the Behavioral Sciences. 2nd Edition. Mc Graw-Hill, Inc. USA. 385 pp.
10. Chagas, C. 1912. Sobre um trypanosomo do tatú, *Tatusia novemcincta*, transmitido pela *Triatoma geniculata* (Latr. 1811). Possibilidade de ser o tatú um depositario do *Tripanosoma cruzi* no mundo exterior. (Nota previa). *Brazil-Med.*, 26 (30): 305-306.
11. Daniel, W. 1998. Bioestadística. Trad. F. León. 3 ed. Uthea. México. 878 pp.
12. Dorn P. Melgar S., Rouzier V., Gutierrez 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
13. Dujardin, J.P, Chavez T., Moreno JM, Machane M, Noireau F, Schofield CJ. 1999a. Comparison of isoenzyme electrophoresis and morphometric analysis for phylogenetic reconstruction of the Rhodniini (Hemiptera: Reduviidae:Triatominae). *J. Med Entomol* 36: 653-659
14. Dujardin, J.P. Panzera, F. Schofield, C.J. 1999b. Triatominae as a Model of Morphological Plasticity under Ecological Pressure. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 94(1): 223-228.
15. Dujardin, J.P. Panzera, F. Schofield, C.J. 2000. Les vecteurs de la maladie de Chagas: Recherches taxonomiques, biologiques, et génétiques. Academie Royale des Sciences d'Outre-met. 162 pp.

16. Dumonteil, E. Ruiz-Piña H., Rodriguez-Felix E., Barrera-Pérez M., Ramírez-Sierra M. Rabinovich J., & Menu F. 2004. Re-infestation of houses by *Triatoma dimidiata* after intradomicile insecticide application in the Yucatan Peninsula, Mexico. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 99(3): 253-256
17. Dupuis, C. 1955. Les genitalia des Hémiptères. *Mem. Mus. Nat. Hist. Natur.*, ser A, Zool., n.s., 6 (4): 183-278, figs. 1-7.
18. Dupuis, C. 1963. Progrès récents de l'étude des genitalia des Hémiptères (Etude bibliographique). Thèse à Faculté des Sciences de l'Université, Paris, 100 pp., *Mus. Nat. Hist. Natur.*, Paris ed., Paris.
19. Dupuis, C. 1970. Heteroptera in taxonomist's glossary of genitalia in insects. – Edited S.L. Tuxen-Compehagen. 359 pp.
20. Galvão, C.; Carcavallo, R.U.; Rocha, D.S. & Jurberg J. 2003. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera: Reduviidae) and their geographical distribution with nomenclatural and taxonomic notes. *Zootaxa* 202:1-36.
21. Gürtler R., Canale D., Spillmann C., Stariolo R. Salomon O., Blanco S. & Segura E. 2004. Effectiveness of residual spraying of peridomestic ecotopes with deltamethrin and permethrin on *Triatoma infestans* in rural western Argentina: a district-wide randomized trial. *Bull. Of World Health Organization* 82: 196-205
22. Jurberg, J. 1978. Contribuição ao estudo comparativo da genitália externa em sub famílias de Reduviidae (Hemiptera, Heteroptera) Tesis de Maestria. Universidad Federal Rural de Río de Janeiro.
23. Jurberg, J. 1991. A Taxonomia Dos Triatomíneos Baseada Nas Estruturas Fállicas. X Congr. Latino Am. Parasitol. Montevideo Uruguay. (Resúmenes)
24. Jurberg, J. 1996. A Taxonomia dos Triatomíneos Baseada Nas Estruturas Fállicas (Hemiptera, Reduviidae). Brasil. Universidad Federal Rural de Río de Janeiro. Tesis de Doctorado, Instituto de Biología. 59 pp.
25. Jurberg, J. 2003. Ferramentas usadas em taxonomia de Triatomíneos o uso múltiplo. *Entomol. Vect.* 10 (4): 497-509.
26. Landaverde, P. 2004. Comparación de poblaciones silvestres y domésticas de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) de México y Centro América por medio de la técnica de ampliación aleatoria del ADN polimórfico (RAPD-PCR). Tesis Biólogo. Fac. Ciencias Químicas y Farmacia. USAC. Guatemala. 108 pp.
27. Lent, H. & P. Wygodzinsky. 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bull. Amer. Mus. Of Natur. Hist.* 163(3): 123-520.
28. Lent, H., & J. Jurberg. 1985. Sobre a variação intra-específica em *Triatoma dimidiata* (Latreille) e *Triatoma infestans* (Klug) (Hemiptera, Reduviidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 80: 285-299.
29. Menes-Menes, M. 2004. Diferencias Métricas entre poblaciones de *Triatoma dimidiata* Latreille (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) de México, Centro América y Colombia: Efecto de la procedencia geográfica y el ecotopo. Tesis Biólogo. Fac. Ciencias Químicas y Farmacia. USAC. Guatemala. 107pp
30. Moncayo, A. 1993. Feasibility of interruption of transmission in the Southern cone countries World. Health Organization CTD/MIP/WP 93-12.
31. 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

32. Monroy, C. Bustamante, D. Rodas, A. Mejia, M. Rosales, R. & Tabaru, Y. 2003a. Geographic distribution and Morphometric differentiation of *Triatoma nitida* Usinger 1939 (Hemiptera, Reduviidae: Triatominae) in Guatemala. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 98 (1): 37-43.
33. Monroy, C. Rodas, A. Mejia, M. Rosales, & R. Tabaru, Y. 2003b Epidemiology of Chagas Disease in Guatemala: infection rate of *T. dimidiata*, *T. nitida* and *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae) with *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 98 (3): 305-310.
34. Monroy, C. Bustamante, D. Rodas, A. Mejia, M. Rosales, R. Tabaru, Y. 2003c Dispersion and invasion of sylvatic *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Petén, Guatemala. *J. Med Entomol* 40(6): 800-806.
35. Nakagagua, J. Cordón-Rosales, C. Juarez, J. Itzep, C. Nonam T. 2003. Impact of Residual Spraying on *Rhodnius prolixus* and *Triatoma dimidiata* in the Department of Zacapa in Guatemala. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 98 (2): 347-352.
36. OPS/ OMS. 2003. Iniciativa de los Países de Centro América (IPCA) para la Interrupción de la Transmisión Vectorial y Transfusional de la enfermedad de Chagas. Sexta Reunión de la Comisión Intergubernamental de la Iniciativa de los Países de Centro América, para la Interrupción de la Transmisión Vectorial de la Enfermedad de Chagas. Tegucigalpa, Honduras.
37. Panzera, F., Ferrandis, J., Ramsey, J., Ordoñez, R., Salazar-Schettino P.M., M.C. Monroy, M.D. Barges, & S. Mas-Coma. 2006. Chromosomal variation and genomic size support existence of cryptic species of *Triatoma dimidiata* with different epidemiological importance as Chagas disease vectors. *Tropical Medicine and International Health.* 11(7): 1092-1103.
38. Paz-Bailey G., Monroy C., Rodas A., Rosales R., Tabaru R. Davies C. & J. Lines. 2002. Incidence of *Trypanosoma cruzi* infection in two Guatemalan communities. *Trans. Roy. Soc. of Trop. Med. and Hyg.* 96:48-52.
39. Petana W. 1971. American Trypanosomiasis in British Honduras X: Natural habitats and ecology of *Triatoma dimidiata* in the El Cayo and Toledo Districts and the prevalence of infection with *Trypanosoma cruzi* in wild caught bugs. *Ann. Trop. Med. Parasito.* 65:169-178.
40. Pineda S. 2006. Comparación del patrón electroforético de las proteínas salivales de las poblaciones del principal vector de la enfermedad de Chagas en Guatemala: *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) y otras especies relacionadas de Reducidos. Tesis Biólogo. Fac. Ciencias Químicas y Farmacia. USAC. Guatemala. 69 pp.
41. Ramsey, JM., Ordoñez R., Ojeda-Barranda R., Mendez de Lira J., Hidalgo-Sosa L., & Monroy C. 2005. Morphometric analysis of *Triatoma dimidiata* populations (Reduviidae: Triatominae) from México and Northern Guatemala. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 100 (5):477-482.
42. Reynolds, J., Ludwig J. 1988. *Statistical Ecology.* Wiley-Interscience Publication. John Wiley & Sons, Inc. USA. 337 pp.
43. Rohlf, J. 1990. Morphometrics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 21:299-316.
44. Rice N, Jones A. Multilevel models and health economics. *Health Econ* 1997;6:561-75.
45. Rocha H., Barbosa S., Maronari C., Jurberg J., & Diotaiuti L. 1998 Variations of the external male genitalia in three populations of *Triatoma infestans* Klug, 1834. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 93: 479-483.
46. Sherlock, I. 2000. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. En Brener, Z. Andrade, Z. Barral- Neto, M. (Editors). 2ª ed. Guanabra Koogan, Río de Janeiro. 431 pp.
47. Schoefield, C.J. 1994 *Triatominae (Biología y Control).* Trad. S. Tims y C.J. Schoefield. Eurocommunica Publications. Reino Unido 80 pp.

48. Solis-Mena, S. 2000. Genetic Variability and Morphometrics of *Triatoma dimidiata* (Latreille 1811) geographical populations. London School of Hygiene and Tropical Medicine. London. 17 pp.
49. Tabaru, Y. Monroy, C. Rodas, A. Mejia, M. & Rosales, R. 1999. The geographical distribution of vectors of Chaga's disease and populations at risk of infection in Guatemala. *Med. Entomol. Zool.* 50(1): 9-17.
50. Usinger R. 1944. The Triatominae of North and Central America and the west Indies and their public health significance. Public Health Bulletin 288, 83 pp.
51. Zeledón, R. Guardia, V. Zúñiga, A. & Swartzwelder, J.C. 1970a. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811), I. Life cycle, amount of blood ingested, resistance to starvation, and size of adults. *J. Med. Ent.* 7(3): 313-319.
52. Zeledón, R. Guardia, V. Zúñiga, A. & Swartzwelder, J.C. 1970b. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811), II. Life span of adults and fecundity and fertility of females. *J. Med. Ent.* 7(4): 462-469.
53. Zeledón, R. 1981. El *Triatoma dimidiata* y su relación con la Enfermedad de Chagas. EUNED. San José Costa Rica 164 pp.

ANEXOS

Anexo 1. Vista ventral del falosoma con el soporte del falosoma de un ejemplar de *T. dimidiata* de las seis poblaciones estudiadas

Brea



Carrizal



Lankin



Mexico



Salvador



Yaxha



Anexo 2. Vista del aparato articulado basal (APB3) de un macho de *T. dimidiata* de las seis poblaciones estudiadas

Brea



Carrizal



Lankin



Mexico



Salvador



Yaxha



Anexo 3. Vista ventral del aparato articulado basal (APB1) de un macho de *T. dimidiata* de las seis poblaciones estudiadas

Brea



Carrizal



Lankín



México



Salvador



Yaxhá



Anexo 4. Vista interior de los parámetros izquierdo y derecho de un macho de *T. dimidiata* de las seis poblaciones estudiadas

Brea



Carrizal



Lankín



México



Salvador



Yaxhá



Anexo 5. Vista superior del proceso mediano del pigóforo de un macho de *T. dimidiata* de las seis poblaciones estudiadas

Brea



Carrizal



Lankín



México



Salvador



Yaxhá



Anexo 6. Vista superior de la vesícula de un macho de *T. dimidiata* de las seis poblaciones estudiadas

Brea



Carrizal



Lankín



México



Salvador



Yaxhá

