

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



Ligia María de la Luz Díaz Morales

Bióloga

Guatemala, noviembre de 2008

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



**Morfometría de Opérculos y Huevecillos de Triatominos  
(Hemiptera: Reduviidae), como una Herramienta para la  
Diferenciación de Especies y Subespecies**

Informe de Tesis  
presentado por

LIGIA MARIA DE LA LUZ DÍAZ MORALES

para optar al título de

Bióloga

Guatemala, noviembre de 2008

**JUNTA DIRECTIVA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

Decano	Oscar Manuel C3bar Pinto, Ph.D.
Secretario	Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto
Vocal I	Licda. Lillian Raquel Irving Antill3n, M.A.
Vocal II	Licda. Liliana Vides de Ur3zar
Vocal III	Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jim3nez
Vocal IV	Br. Andrea Alejandra Alvarado 3lvarez
Vocal V	Br. Anibal Rodrigo Sevillanos Cambroner

## **DEDICATORIA**

A Dios, por permitirme conocer y apreciar la maravilla de sus creaciones.

A mi abuelito Silverio Morales Ortíz (Q.E.P.D), más que abuelo, un padre y consejero. ¡Ya salí papá Bello!

A mi madre María Morales Escobar, por su ejemplo, su sacrificio y su amor. Gracias mami, este logro es tuyo.

A mi hermano Daniel, porque sin su apoyo no habría sido posible la realización de este sueño; y a mi hermana Azucena, por ser mi amiga inseparable.

A mis tíos, en especial a mi tío Gonzalo por todo su apoyo y consejos.

A mi esposo Donald, por estar siempre conmigo apoyándome.

A mis amigos Bárbara, Maura, Rox, Claudia, Oscar, Mónica, Sandy, Anaité, Fernando, Inga y Alejandro con quienes compartimos muchos recuerdos a lo largo de los años.

## **AGRADECIMIENTOS**

A todo el personal del Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología -LENAP-, en especial a la Dra. Carlota Monroy, por permitirme realizar este trabajo de tesis, por sus ideas, comentarios y ayuda. A la Licda. Antonieta Rodas, por todas sus enseñanzas. A Marianela Menes, por sus comentarios y apoyo en el desarrollo de este trabajo. A Sandy Pineda, por ayudar en la colecta de individuos y mantenimiento de cultivos. A Dulce Bustamante, por apoyarme en el área estadística. A Paty Landaverde y Eunice Enríquez, por los comentarios realizados. A Bárbara Moguel, por la ayuda brindada y por tomar como propios algunos trámites.

Al personal del Laboratorio de Biología de Parásitos, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de México, en especial a la Dra. Paz María Salazar Schettino y Licda. Gloria Rojas, por el material biológico proporcionado.

A Silvia Bor y Carlos Ávila, por la ayuda en la colecta de especímenes para cultivo y a Sharon van Tuylen por la colaboración en el análisis de datos.

## INDICE

1	Resumen .....	1
2	Introducción.....	3
3	Antecedentes.....	5
3.1	Enfermedad de Chagas .....	5
3.2	Sub-Familia Triatominae .....	6
3.2.1	Triatoma dimidiata (Latreille, 1811): .....	9
3.2.2	Triatoma longipennis (Usinger, 1939): .....	9
3.2.3	Triatoma nitida (Usinger, 1939):.....	10
3.2.4	Triatoma pallidipennis (Stål, 1872): .....	10
3.2.5	Triatoma ryckmani (Ponce y Zeledón, 1972): .....	11
3.3	Ciclo de Vida en Triatominos .....	11
3.4	Morfología de Huevecillos de Triatominos .....	12
3.4.1	Huevecillos de Triatoma: .....	13
3.5	Morfometría.....	14
3.5.1	Estudios de Morfometría en Huevecillos de Triatominae: .....	15
4	Justificación .....	16
5	Objetivos .....	18
5.1	General.....	18
5.2	Específicos .....	18
6	Hipótesis .....	19
7	Materiales y Métodos .....	20
7.1	Universo .....	20
7.2	Materiales .....	21
7.3	Metodología.....	22
7.3.1	Obtención de Material Biológico: .....	22
7.3.2	Preparación de Material: .....	23
7.3.3	Obtención de Datos:.....	23
7.3.4	Análisis de Resultados: .....	25
8	Resultados .....	26

8.1	Descripción Cualitativa .....	26
8.2	Morfometría.....	29
8.2.1	Análisis 1 (Cinco especies del género Triatoma y cinco poblaciones de Triatoma dimidiata): .....	30
8.2.2	Análisis 2 (Cinco Especies del Género Triatoma):.....	34
8.2.3	Análisis 3 (Cinco Poblaciones de T. dimidiata):.....	36
9	Discusión .....	40
9.1	Selección de la muestra .....	40
9.2	Uso de la técnica.....	41
9.3	Diferenciación de Complejos.....	42
9.4	Diferenciación de Especies .....	44
9.5	Diferenciación de Poblaciones de <i>T. dimidiata</i> .....	44
9.6	Implicaciones para el Control Vectorial.....	46
10	Conclusiones .....	48
11	Recomendaciones .....	49
12	Referencias .....	50

## 1 RESUMEN

Debido a la importancia del estudio de los vectores de la enfermedad de Chagas, y a que constantemente se ha sugerido la realización de estudios fenéticos que complementen los estudios genéticos que se realizan sobre estas especies, se realizó un análisis de la morfometría de los huevecillos y opérculos de cinco especies del género *Triatoma* (*T. dimidiata*, *T. longipennis*, *T. nítida*, *T. ryckmani* y *T. pallidipennis*), para comprobar la utilidad de este método para la separación de especies. De la misma forma se analizaron cinco poblaciones de *T. dimidiata* de Guatemala (Amatitlán, Jutiapa, Lanquín, Petén y Quiché), con la finalidad de determinar si el método puede ser utilizado para la diferenciación de poblaciones.

Se midieron el largo, ancho y abertura opercular del corion (huevecillos eclosionados), así como el largo y ancho del opérculo generando las variables LH, AH, AOp, LO y AO, respectivamente, los resultados fueron analizados mediante análisis no paramétrico (Kruskal-Wallis) y pruebas *a posteriori* (Dunn), realizando a continuación agrupamientos jerárquicos.

Los resultados obtenidos mostraron una diferenciación en cuanto a tamaño únicamente, ya que el método empleado no involucra la forma de las estructuras. Al realizar las comparaciones múltiples de Dunn, no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.005$ ) entre las especies *T. pallidipennis* y *T. longipennis*, así como entre las poblaciones de Quiché, Jutiapa y Amatitlán de *T. dimidiata*. La población de Petén no presentó diferencias significativas ( $p > 0.005$ ) con las especies *T. nítida* y *T. ryckmani*, lo cual apoya la teoría de que podría tratarse de un taxa distinto a *T. dimidiata* (Bargues, *et al* 2008). La población de Amatitlán mostró diferencia no significativa

en cuanto a tamaño de los huevecillos con la población de Petén, mientras que para las variables del opérculo no se encontró diferencia significativa ( $p > 0.005$ ) entre ésta y las poblaciones domésticas de *T. dimidiata* (Quiché y Jutiapa).

Según los resultados obtenidos la morfometría de huevecillos y opérculos funcionó para la diferenciación de las especies y poblaciones estudiadas.

## 2 INTRODUCCIÓN

El mal de Chagas es un problema de salud pública en Latinoamérica, en donde se calcula que alrededor de 16 a 19 millones de personas están infectadas con el protozoo *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909), agente causal de la enfermedad (Schofield, 1994).

*T. cruzi* es transmitido por varios insectos hematófagos de la subfamilia Triatominae (familia Reduviidae), entre los cuales los de mayor importancia epidemiológica en Guatemala son *Rhodnius prolixus* (Stål, 1858) y *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811). En México tiene importancia epidemiológica: *T. dimidiata*, *T. barberi* (Usinger 1939), *T. longipennis* (Usinger 1939), *T. pallidipennis* (Stål 1945) y *T. picturata* (Usinger 1939) (Martínez-Ibarra, *et al.* 2001 ).

Debido al hábito hematófago que tienen las especies de la familia Triatominae, todas son potenciales vectores, especialmente con el avance de la frontera agrícola, ya que al disminuir su hábitat natural migran a los domicilios en busca de alimento. Por esta razón es primordial la realización de estudios en cuanto a biología y comportamiento de estas especies, lo cual servirá tanto para mejorar las estrategias de control, como para confirmar o cambiar la posición taxonómica de los grupos.

Con este fin se han realizado varios estudios genéticos y fenéticos, tanto en individuos adultos de las distintas especies como en ninfas y huevecillos. El estudio de huevecillos es muy importante, ya que según Barata (1981), en triatominos, la forma de las células del exocorion tiene importancia taxonómica. Otros autores han medido la abertura opercular de los mismos para diferenciar poblaciones silvestres y de laboratorio (Rosa *et al.* 2003).

En este trabajo se comparó el largo, ancho y abertura opercular en el corion (huevecillo sin opérculo), así como el largo y ancho en opérculos de huevecillos de *T. longipennis*, *T. pallidipennis*, *T. nitida*, *T. ryckmani*, además de cinco poblaciones de *T. dimidiata* de Guatemala (Petén, Lanquín, Amatitlán, Jutiapa, y Quiché), con el objetivo de observar la existencia de diferencias significativas en estas variables entre especies de triatominos y poblaciones de *T. dimidiata*.

### **3 ANTECEDENTES**

#### **3.1 ENFERMEDAD DE CHAGAS**

Según el Banco Mundial, el mal de Chagas es la enfermedad parasitaria más importante de Latinoamérica, y una de las tres de mayor importancia en todo el mundo, después de la malaria y la esquistosomosis (Schofield, 1997). Esta enfermedad causada por el protozoo *Tripanosoma cruzi* (Chagas, 1909), y transmitido por varios insectos triatominos (Carcavallo, 1981).

Éste es un problema que afecta a toda América Latina, especialmente en las áreas rurales, ya que la cercanía de palmas, cuevas y otros sitios donde naturalmente se encuentran los triatominos vectores, aunado a las construcciones hechas de barro, las cuales se agrietan y constituyen un buen refugio para los insectos, hace que estas áreas sean más susceptibles (Schofield, 1994).

Para el año 2000 se calculaba que sólo en Centro América y México se encontraban infectadas 2.3 millones de personas (Schofield, 2000). Según la Organización Mundial de la Salud, cada año se infectan alrededor de 500,000 personas, de las cuales 300,000 son niños (Guhl, 1997).

La infección con *T. cruzi* tiene un período de incubación que dura entre 4 y 10 días, generalmente asintomático, al que sigue una fase aguda, la cual puede no presentar síntomas, sin embargo la mayoría de veces presenta una parasitemia relativamente alta, acompañada de fiebre y adenopatía generalizada, esplenomegalia moderada y se observan alteraciones al realizar electrocardiogramas (Schofield, 1994).

Esta etapa dura de 2 a 4 meses, luego de la cual se presenta la fase crónica, la cual dura toda la vida del enfermo, y se caracteriza porque los parásitos penetran en los tejidos y se multiplican causando cardiomiopatías, megaesófago, megacolon, dificultad para tragar o de tránsito de las heces. Muchas veces la muerte se produce por insuficiencia cardíaca o distorsión intestinal (Schofield, 1994).

Debido a que la infección por *T. cruzi* sólo es curable en las etapas iniciales, los esfuerzos se centran en el control y erradicación de las especies domésticas de triatominos (Schofield, 1994). Para lograr un control de los vectores es necesario conocer su biología y fisiología, por lo que es de suma importancia la realización de estudios que contribuyan a mejorar este conocimiento.

### **3.2 SUB-FAMILIA TRIATOMINAE**

Los triatominos pertenecen al Orden Hemiptera, Clase Insecta. En América se conocen alrededor de 118 especies de triatominos, de las cuales, aproximadamente 60 han presentado infección natural o experimental con *T. cruzi*. Tanto las ninfas como los adultos son hematófagos, por lo que todas las especies pueden considerarse como potenciales vectores (Schofield, 1994).

La sub-familia Triatominae incluye insectos bastante grandes, con forma corporal característica, su tamaño varía de 5 mm (*Alberprosenia* sp.) a 45 mm (*Dipetalogaster* sp.), generalmente la hembra es de mayor tamaño que el macho. La mayoría de especies tienen el cuerpo de color marrón o negro, y pueden tener bandas amarillas, naranja, rosa o rojo sobre el conxivo o las patas, muchas veces característico de cada especie (Schofield, 1994; Brener, *et al.* 2000).

Los catorce géneros de la familia Triatominae están agrupados dentro de cinco tribus, las cuales se han separado en base a características principalmente morfológicas tales como la presencia de tubérculos ocelares, forma de la cabeza, clípeo, entre otras, así como la similitud entre ninfas (Ibáñez-Bernal & Paz-Rodríguez, 1998).

Según esta clasificación, el género *Triatoma* (Laporte, 1832) pertenece a la tribu Triatomini, la cual también incluye a los géneros: *Dipetalogaster* (Usinger, 1939), *Eratyrus* (Stål, 1859), *Panstrongylus* (Berg, 1879) y *Paratriatoma* (Barber, 1938) (Ibáñez-Bernal & Paz-Rodríguez, 1998).

Según la clasificación realizada por Lent & Wygodzinsky (1979), el género *Triatoma* se divide en dos grandes grupos, diferenciados según la morfología de ninfas de primer y quinto estadio. Uno de estos grupos es el grupo *Protracta*, dentro del cual las ninfas de primer estadio, de las distintas especies, carecen de pelos especializados en el metatarso, los cuales están presentes en las ninfas del grupo *Rubrofasciata*.

El grupo *Protracta* incluye dos complejos: *Lecticularia* y *Protracta*, este último se caracteriza porque los individuos poseen un cuerpo fusiforme y las patas de los adultos son relativamente cortas. Este complejo incluye las siguientes especies: *T. barberi*, *T. neotomae*, *T. protracta*, y por confirmar *T. incrassata*, *T. nítida*, *T. peninsularis*, y *T. sinaloensis* (Ibáñez-Bernal & Paz Rodríguez, 1998).

Dentro del grupo *Rubrofasciata* se ubican seis complejos: *Rubrofasciata*, *Spinolai*, *Flavida*, *Nigromaculata*, *Phyllosoma* y *Recurva*. El complejo *Phyllosoma* se caracteriza por el abdomen ancho y la presencia de tubérculos torácicos prominentes. Este complejo es uno de los más importantes en cuanto a la epidemiología de la enfermedad de Chagas. Incluye las especies *T. phyllosoma*, *T.*

*dimidiata*, *T. mazzottii*, *T. mexicana*, *T. longipennis*, *T. pallidipennis* y *T. picturata* (Ibáñez-Bernal & Paz Rodríguez, 1998).

La posición de varias especies y subespecies aún es controversial, por lo que aún se necesitan más estudios tanto moleculares como morfométricos, que contribuyan a confirmar o modificar las clasificaciones actuales (Ibáñez-Bernal & Paz-Rodríguez, 1998; Brenière, S. *et al.* 2003).

A continuación se presenta la clasificación de las especies que fueron utilizadas para este estudio:

Clase	Insecta
Orden	Hemiptera
Familia	Reduviidae
Subfamilia	Triatominae
Tribu	Triatomini
Género	<i>Triatoma</i>
Grupo	Protracta
	Complejo Protracta
	Especie <i>T. nítida</i>
Grupo	Rubrofasciata
	Complejo Phyllosoma
	Especies <i>T. dimidiata</i>
	<i>T. longipennis</i>
	<i>T. pallidipennis</i>

La especie *T. ryckmani* aún no ha sido incluida en ningún complejo, aunque se ha sugerido su inclusión en el complejo Phyllasoma (Dujardin, 2000 en Bustamante *et al.* 2004)

### **3.2.1 *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811):**

Esta especie se distribuye desde el sur de México hasta la parte norte de América del Sur. Los machos miden de 24.5 a 32.0 mm, mientras que las hembras de 24.5 a 35.0 mm. El conexivo tiene un color de amarillo pálido a amarillo anaranjado. El corium posee una mancha oscura que puede ser apenas perceptible o muy extendida, formando una banda transversal en el hemélitro (Lent y Wygodzinsky, 1979).

*T. dimidiata* se ha encontrado en una variedad de ecotopos selváticos como cuevas, rocas apiladas, leña, entre otros. Las ninfas tienen hábitos crípticos, confundiéndose con su entorno, ya que se impregnan del polvo del ambiente.

Esta especie se ha encontrado parasitada naturalmente con *T. cruzi*, y en Centro América es uno de los principales vectores de la enfermedad de Chagas (Lent y Wygodzinsky, 1979; Schofield, 1994). Según Schofield (2000) *T. dimidiata* puede constituir una serie de subpoblaciones con poco flujo genético entre ellas, por lo que es de suma importancia la realización de estudios genéticos y fenéticos de estas poblaciones, para mejorar las estrategias de control.

### **3.2.2 *Triatoma longipennis* (Usinger, 1939):**

Es una de las especies de mayor importancia epidemiológica en México, debido a su abundancia y amplia distribución (Martínez-Ibarra, *et al.* 2001). El color del cuerpo varía de café oscuro a negro, con manchas amarillas o anaranjadas en corium y conexivo. En algunos especímenes se observan pequeñas manchas anaranjadas en el húmero. El largo del macho es de 29 a 34 mm, y el de la hembra de 30 a 37 mm (Lent y Wygodzinsky, 1979).

*T. longipennis* se ha encontrado infectada naturalmente con *T. cruzi* tanto en ambientes domésticos como peridomésticos, y se ha

sugerido su asociación con cuevas de murciélagos (Lent y Wygodzinsky, 1979).

### **3.2.3 *Triatoma nitida* (Usinger, 1939):**

Se encuentra distribuida desde México hasta Costa Rica. Se ha encontrado infectada naturalmente con *T. cruzi*, y aunque se ha encontrado dentro de viviendas, su importancia vectorial no ha sido establecida aún, sin embargo, tiene el potencial de convertirse en un importante vector de la enfermedad de Chagas (Galvão, *et al.* 1995; Monroy, *et al.* 2003).

Los machos miden de 19.5 a 21.5 mm y las hembras de 21.0 a 22.5 mm. El color del cuerpo varía de café oscuro a negro con manchas amarillo anaranjadas en la cabeza, cuello, pronoto, corium y conexivo (Lent y Wygodzinsky, 1979).

### **3.2.4 *Triatoma pallidipennis* (Stål, 1872):**

Es uno de los vectores más importantes de la enfermedad de Chagas en México. Se ha encontrado parasitado naturalmente con *T. cruzi*, habitando gallineros y casas (Martínez-Ibarra & Katthain-Duchateau, 1999). En ambientes silvestres se ha encontrado en cuevas de armadillos y en madrigueras de otros mamíferos pequeños (Lent y Wygodzinsky, 1979).

Los machos miden de 31 a 34 mm y las hembras de 32 a 35 mm. El cuerpo es ancho con alas relativamente angostas. El color del cuerpo varía de café oscuro a negro, con marcas rojo anaranjadas en el conexivo; el corium es amarillento (Lent y Wygodzinsky, 1979).

Según Bautista, *et al.* (2001), *T. pallidipennis* puede alimentarse de varios hospederos, lo que aumenta la posibilidad de infección por *T. cruzi*.

### **3.2.5 *Triatoma ryckmani* (Ponce y Zeledón, 1972):**

Es una especie pequeña y poco conocida, que se ha encontrado principalmente en ambientes naturales, como bromelias, corteza de árboles, etc. (Sherlock y Morera, 1988). Según Monroy, *et al.* (2004) esta especie tiene una gran capacidad de dispersión y colonización, por lo que puede llegar a convertirse en un riesgo potencial, especialmente cuando las personas llevan a su casa bromelias o plantas que puedan llevar en su interior a *T. ryckmani*. Además con la comercialización de especies vegetales, existe riesgo de introducción de esta especie a otros países (Marroquín, *et al.* 2004).

*T. ryckmani* se encuentra distribuido desde México hasta Costa Rica; en Guatemala se ha encontrado principalmente en el bosque seco (Marroquín, *et al.* 2004; Monroy, *et al.* 2004).

## **3.3 CICLO DE VIDA EN TRIATOMINOS**

Después de 10 a 20 días de la primera cópula, se lleva a cabo la oviposición. Los huevecillos son ovoides, blancos o rosados, que se hacen más oscuros a medida que el embrión se desarrolla (Schofield, 1994). Cada especie presenta una arquitectura distinta, por lo que esta característica tiene importancia taxonómica (Barata, 1981).

La eclosión se produce de 10 a 40 días después de la oviposición, dependiendo de la especie y la temperatura. Las ninfas son capaces de alimentarse a los 2 o 3 días de la eclosión; pueden ingerir entre 8

y 9 veces su peso, mientras que los adultos sólo toman entre 2 y 4 veces (Schofield, 1994).

Todos los triatominos pasan por cinco estadíos ninfales; al final de cada uno, se produce una muda para pasar al siguiente estadío. *Triatoma dimidiata*, puede tardar de 1 a 2 años en completar su ciclo de vida

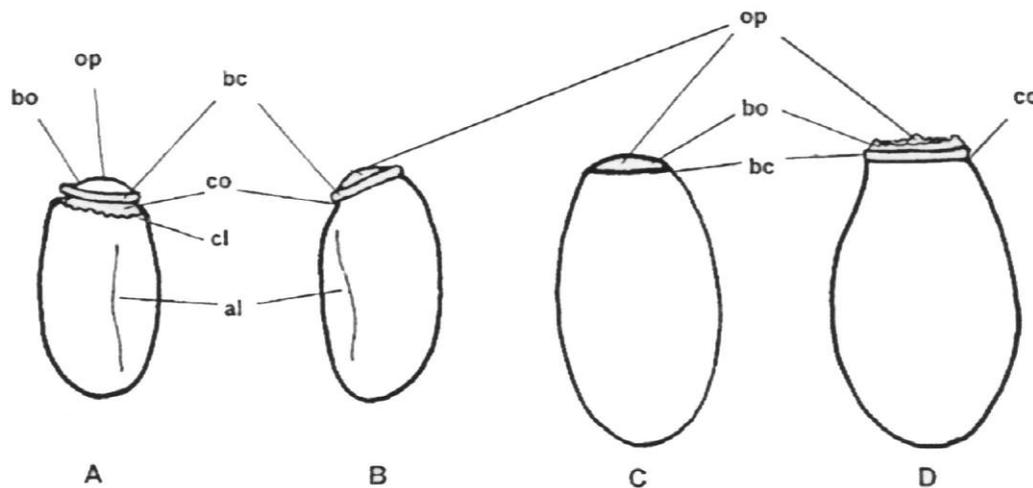
### **3.4 MORFOLOGÍA DE HUEVECILLOS DE TRIATOMINOS**

Según un estudio realizado por Barata (1981), existe una gran variedad de formas y medidas entre los huevecillos de los distintos géneros de triatominos. El tamaño varía desde 0.96 mm (*Alberprosenia malheiroi*), hasta 4.01 mm (*Dipetalogaster maxima*), y la forma desde cilíndrica (*Psammolestes arthurî*) hasta casi esférica (*Panstrongylus rufotuberculatus*).

Ciertas estructuras en el huevecillo, tales como el "cuello", el "collar" o la presencia de un achatamiento lateral, así como los diseños, tanto del exocorion como del opérculo, son importantes para la identificación de géneros y especies (Barata, 1981).

La forma de los huevos ha sido utilizada desde hace varios años para la diferenciación entre especies; tal como el estudio de Galliard (1935), en el cual el autor compara la morfología de los huevos de algunas especies de triatominos, observando que las diferencias en la ornamentación de éstos podrían ser utilizadas para diferenciación entre especies.

Algunos autores consideran el estudio de la morfología de los huevos de triatominos como fundamental para la taxonomía de los mismos (Araújo Silva, *et al.* 2005).



**Figura 1.** Aspectos macroscópicos de huevecillos de Triatominos. A: *Rhodnius neglectus*, B: *R. prolixus*, C: *Triatoma infestans*, D: *T. delpontei*. al: achatamiento lateral; cl: collar; co: cuello; bc: borde corial; op: opérculo; bo: borde opercular (Tomado de Barata, 1981).

### 3.4.1 Huevecillos de *Triatoma*:

La mayoría de especies del género *Triatoma* oviponen huevecillos de forma elipsoide, frecuentemente simétricos y sin achatamiento lateral evidente, con un largo promedio de 2.05 mm y un diámetro promedio de 1.14 mm; no son traslúcidos, pero dejan ver el embrión (Barata, 1981).

El opérculo no es prominente en la mayoría de especies, excepto en *T. delpontei* y *T. protracta*, las cuales poseen un opérculo con estructuras macroscópicas complejas (Barata, 1981).

Barata (1981) divide en dos grupos las especies estudiadas, en base a la morfología del exocorion. El primero está conformado por especies en las que el exocorion está formado por células hexagonales, con perforaciones dispersas, de diversos tamaños y formas; los huevecillos de este grupo no tienen cuello o collar (*T. arthurneivai*, *T. brasiliensis*, *T. circummaculata*, *T. lenti*, *T. maculata*, *T. oliverai*, *T. pseudomaculata*, *T. rubrovaria*, *T. sordida* y *T. infestans*).

El segundo grupo no tiene forma definida en el exocorion, variando desde solamente ausencia de células hexagonales, hasta la presencia de estructuras complejas. A pesar de que en este grupo tampoco se observa cuello o collar, es característicamente diferente al grupo anterior (*T. barberi*, *T. delpontei*, *T. lecticularia* y *T. platensis*). Dentro de este grupo se encuentran las especies que oviponen sus huevos adheridos al sustrato.

### **3.5 MORFOMETRÍA**

La morfometría es una rama de la biometría, que cuantifica el tamaño o la conformación de los individuos, ya sea a través de distancias o coordenadas. En otras palabras es el estudio de la covariación de caracteres entre organismos en diferentes contextos ambientales, en diferentes estados de desarrollo o entre especies diferentes (Dujardin, 2000).

La morfometría se ha utilizado en estudios taxonómicos, genéticos y ecológicos de varios organismos, ya sea utilizando los organismos completos, órganos o aún las células (Rohlf, 1990).

Existen dos tipos de morfometría: la tradicional, en la cual se toman las distancias de un punto a otro, y la geométrica, que utiliza las coordenadas de estos puntos sobre un sistema de ejes cartesianos; a partir de estas coordenadas se puede visualizar el aspecto de la estructura medida (Dujardin, 2000).

Tanto la morfometría tradicional como la geométrica han sido utilizadas para los estudios de triatomíneos, utilizando principalmente alas y cabezas de dichos organismos (Menes, 2004; Bustamante, 2001; Dujardin, 2000), aunque también se han utilizado otras estructuras.

### **3.5.1 Estudios de Morfometría en Huevecillos de Triatominae:**

Los estudios de morfometría de huevecillos han sido realizados para comparar poblaciones de una misma especie, como en la investigación realizada por Costa, *et al.* (1997), quienes comparan el largo y el ancho de los huevecillos de cuatro poblaciones de *T. brasiliensis*, encontrando diferencias significativas entre ellas.

Da Rosa *et al.* (2003) compararon tres poblaciones de *Panstrongylus megistus* encontrando diferencias significativas en largo, ancho y diámetro de la abertura opercular entre una población silvestre y dos poblaciones de laboratorio.

Otra aplicación es la comparación de varias especies, tal como el estudio realizado por Oliveira & Rosa (2003), quienes compararon tres especies (*T. williami*, *T. costalimai*, y *T. guazu*) encontrando diferencias en largo, ancho y diámetro de la abertura opercular.

Da Rosa, *et al.* (2000) compararon el largo y ancho de los huevecillos de *T. circummaculata* y *T. rubrovaria*, encontrando diferencias significativas entre las dos especies.

Por otra parte Chávez, *et al.* (2003) midieron huevecillos de *Rhodnius prolixus* durante su desarrollo y encontraron un aumento únicamente en el ancho, y un largo constante.

Lo anterior demuestra que la morfometría de huevecillos es un marcador fenético que puede ser de utilidad para la diferenciación entre especies y poblaciones de triatominos.

#### 4 JUSTIFICACIÓN

Según el Banco Mundial, la enfermedad de Chagas es la tercera enfermedad parasitaria más importante del mundo, y se considera que en Latinoamérica es la número uno (Schofield, 1997). El control de la enfermedad está enfocado especialmente en la vigilancia de los triatominos vectores, de los cuales, en Guatemala, *Triatoma dimidiata* es el principal. Esta especie presenta una gran diversidad en morfología, ecología y capacidad vectorial, por lo que se cree que constituye un complejo de distintas especies, lo que de ser dilucidado repercutiría en el mejoramiento de las estrategias de control, ya que para el establecimiento de dichas estrategias se deben tomar en cuenta las variaciones y la diversidad de hábitats de *T. dimidiata* (Dorn, *et al.* 2006).

Anteriormente se han realizado estudios moleculares y fenéticos con el objetivo de aclarar la posición taxonómica de las poblaciones de *T. dimidiata*, sin embargo es necesaria la realización de estudios de los estadios poco conocidos (tal como los huevecillos) de ésta y otras especies de importancia vectorial (Barata, 1998), ya que éstos podrían constituir una herramienta taxonómica que ayude a confirmar la existencia de grupos distintos o explicar el comportamiento de la especie.

La morfometría de huevecillos de triatominos ha sido utilizada en diversos estudios para diferenciación de especies, poblaciones (Rosa, *et al.* 2003) e incluso variantes cromáticas de una misma especie, siendo de utilidad en su diferenciación aún cuando otros marcadores fenéticos no lo fueron (Costa, *et al.* 1997). Debido a la importancia de estas estructuras, en este trabajo se comprobó la utilidad de la morfometría del corion y de opérculos de huevecillos para verificar si

éstos permiten la diferenciación inter e intraespecífica lo cual constituye un aporte de utilidad en los programas nacional y centroamericano de control de los vectores de la enfermedad de Chagas.

## **5 OBJETIVOS**

### **5.1 GENERAL**

- 5.1.1 Establecer diferencias dentro de cinco especies del género *Triatoma* por medio de morfometría de huevecillos.
- 5.1.2 Establecer diferencias dentro de cinco poblaciones de *T. dimidiata* por medio de morfometría de huevecillos.

### **5.2 ESPECÍFICOS**

- 5.2.1 Evaluar si existen diferencias significativas en los caracteres métricos de los opérculos de huevecillos de cinco especies del género *Triatoma*.
- 5.2.2 Determinar si la morfometría del corion (huevecillo sin opérculo) presenta diferencias significativas entre cinco especies del género *Triatoma*.
- 5.2.3 Determinar si la morfometría del corion permite la separación de cinco poblaciones de *T. dimidiata*.
- 4.2.3 Establecer si es posible la diferenciación de cinco poblaciones de *T. dimidiata* utilizando morfometría de opérculos de huevecillos.

## **6 HIPÓTESIS**

Existe diferencia significativa entre los caracteres métricos de los opérculos y el corion, de las cinco especies del género *Triatoma* y las cinco poblaciones de *T. dimidiata* estudiadas.

## 7 MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 UNIVERSO

El universo de estudio fue conformado por cinco especies del género *Triatoma* y cinco poblaciones de *Triatoma dimidiata* de Guatemala, tal como se presenta en la Tabla 1. El número de muestra fue elegido por conveniencia.

**Tabla 1:** Tamaño de muestra utilizado y procedencia de los cultivos por especie

<b>Especie</b>	<b>n (Corion)</b>	<b>n (Opérculos)</b>	<b>Procedencia del Cultivo</b>
<i>Triatoma longipennis</i>	47	36	Morelos, México (Cultivo UNAM)
<i>Triatoma nítida</i>	44	50	Quiché, Guatemala (Cultivo LENAP)
<i>Triatoma pallidipennis</i>	50	23	Jalisco, México (Cultivo UNAM)
<i>Triatoma ryckmani</i>	50	32	El Progreso, Guatemala (Cultivo LENAP)
<i>Triatoma dimidiata</i>	50	50	Yaxhá y Nakum, Petén, Guatemala (Cultivo LENAP)
	41	21	Amatitlán, Guatemala (Cultivo LENAP)
	46	50	Jutiapa, Guatemala (Cultivo LENAP)
	50	50	Quiché, Guatemala (Cultivo LENAP)
	48	50	Lanquín, Alta Verapaz, Guatemala (Cultivo LENAP)

n: Número de muestra

## 7.2 MATERIALES

- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Solución de Hoyer (Hidrato de cloral, 200gr; agua destilada, 50 mL; goma arábiga, 30 mL; glicerina, 20 mL)
- Solución de alcohol glicerina (95%)
- Cinta adhesiva de doble cara (3M)
- Pinzas
- Agujas de disección
- Pinceles
- Tubos ependorff
- Viales de vidrio con tapadera
- Cajas de Petri
- Cámara de video digital (Olympus OLY-750)
- Programas TVR, SPSS, Excel, TPSdig, GraphPad
- Papel limpiantes
- Computadora
- Estereoscopio Olympus SZ-STS
- Huevecillos y opérculos de *Triatoma longipennis*, *T. nítida*, *T. pallidipennis*, *T. ryckmani* y de cinco poblaciones de *T. dimidiata* de Guatemala (Petén, Lanquín, Jutiapa, Quiché y Amatitlán)

## 7.3 METODOLOGÍA

### 7.3.1 Obtención de Material Biológico:

Se obtuvieron huevecillos eclosionados (corion) y opérculos de 5 especies de triatominos, provenientes de los cultivos del Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología -LENAP-, de la Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Así como del Laboratorio de Biología de Parásitos, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de México, por medio de intercambios entre estas dos instituciones.

Tanto el número de huevecillos eclosionados como el de opérculos fueron seleccionados por conveniencia y disponibilidad, tomando en cuenta el número de muestra utilizado en otros estudios de este tipo (Costa, *et al.* 1997; Chávez, *et al.* 2003; Rosa *et al.*, 2003). En la Tabla 2 se presenta el ecotopo de donde provenían los individuos con los cuales se iniciaron los cultivos presentados en la Tabla 1.

**Tabla 2:** Ecotopo de los cultivos de las distintas especies de *Triatoma* utilizadas

<b>Especie</b>	<b>Ecotopo</b>	<b>Procedencia del Cultivo</b>
<i>Triatoma longipennis</i>	ND	ND, Morelos, México
<i>Triatoma nítida</i>	Doméstica	Domicilios de Quiché, Guatemala.
<i>Triatoma pallidipennis</i>	ND	ND, Jalisco, México
<i>Triatoma ryckmani</i>	Silvestre	Bromelias provenientes de Tulumaje, El Progreso, Guatemala
<i>Triatoma dimidiata</i>	Silvestre	Cuevas de Lanquín, Alta Verapaz, Guatemala
	Silvestre	Cuevas y chultunes de Nakum y Yaxhá, Petén, Guatemala
	Doméstica	Domicilios de Amatitlán, Guatemala, Guatemala

Especie	Ecotopo	Procedencia del Cultivo
	Doméstica	Domicilios de Quezada, Jutiapa, Guatemala
	Doméstica	Domicilios de Quiché, Guatemala

ND: No disponible.

### 7.3.2 Preparación de Material:

Los opérculos fueron montados entre porta y cubreobjetos con solución de Hoyer, el cual es un medio de montaje permanente. Se colocaron en posición cóncava, con la finalidad de que todos estuvieran orientados de la misma manera. Cada uno se identificó según la especie, procedencia y número correlativo. En cada portaobjetos se colocaron 6 opérculos.

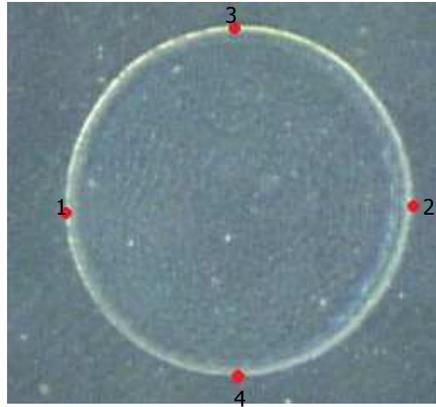
Cada corion fue montado en portaobjetos utilizando una cinta adhesiva de doble cara, e identificándolo de la misma manera que los opérculos (especie, procedencia y número correlativo). Al igual que los opérculos, se colocaron 6 en cada portaobjetos.

### 7.3.3 Obtención de Datos:

Se tomaron las imágenes de cada opérculo y de cada corion, utilizando un sistema de video (cámara Olympus OLY-750, conectada a un estereoscopio Olympus SZ-ST5), el cual transfiriere las imágenes a la computadora por medio del software FlyVIDEO2000.

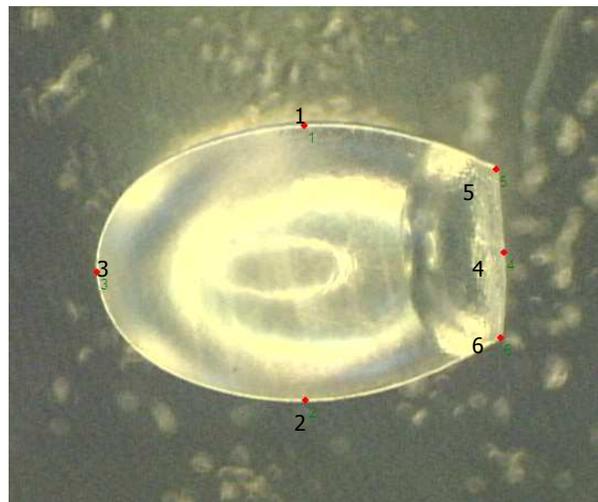
En las imágenes de los opérculos se obtuvieron las coordenadas de cuatro puntos según se observa en la Figura 2, utilizando un programa que permite la digitalización de puntos en imágenes de estructuras anatómicas (TpsDig, Rohlf, 2001). A partir de estas coordenadas se calculó la distancia entre los puntos 1-2 y 3-4, para

obtener largo y ancho de cada opérculo (variables LO y AO, respectivamente).



**Figura 2.** Ubicación de puntos en el opérculo de huevecillos de triatominos.

Para la medición del corion, se obtuvieron las coordenadas de seis puntos según se observa en la figura 3, utilizando el programa TpsDig (Rohlf, 2001). A partir de estas coordenadas se calculó la distancia entre los puntos 1-2, 3-4 y 5-6, para obtener ancho, largo y abertura opercular de cada corion (variables AH, LH y AOp, respectivamente).



**Figura 3.** Ubicación de puntos en el corion de triatominos.

#### **7.3.4 Análisis de Resultados:**

Las 5 variables métricas (LO, AO, LH AH y AOp) fueron evaluadas por separado para saber si existían diferencias significativas entre los grupos estudiados. En primer término se evaluó la homogeneidad de varianzas y la normalidad de los residuos, los cuales constituyen los supuestos del Análisis de Varianza (ANDEVA), el cual se llevaría a cabo en el caso de cumplirse dichos supuestos, primero comparando entre especies y luego entre poblaciones de *T. dimidiata*.

La homogeneidad de varianzas y la normalidad de residuos se determinaron por medio de los análisis de Kolmogorov-Smirnov y Levene, respectivamente, utilizando el programa SPSS para Windows (SPSS Inc. 1999).

Debido a que la mayoría de variables no cumplieron con los supuestos del ANDEVA (normalidad de residuos y homogeneidad de varianzas), se optó por el equivalente no paramétrico de este análisis (Kruskal-Wallis), el cual se calculó con el programa SPSS. Posteriormente se realizaron comparaciones múltiples de Dunn, por medio del programa GraphPad InStat versión 3.06 para Windows.

Se llevaron a cabo tres análisis:

**Análisis 1:** Con las cinco especies de *Triatoma* y las cinco poblaciones de *T. dimidiata*

**Análisis 2:** Únicamente con las cinco especies de *Triatoma*, tomando la población de Jutiapa como representativa de *T. dimidiata*

**Análisis 3:** Utilizando las cinco poblaciones de *T. dimidiata*

Con la finalidad de establecer las similitudes entre las especies y poblaciones se realizó un análisis de agrupamiento jerárquico utilizando promedios ponderados, tal como lo propone van Tuyen (2007).

## 8 RESULTADOS

### 8.1 DESCRIPCIÓN CUALITATIVA

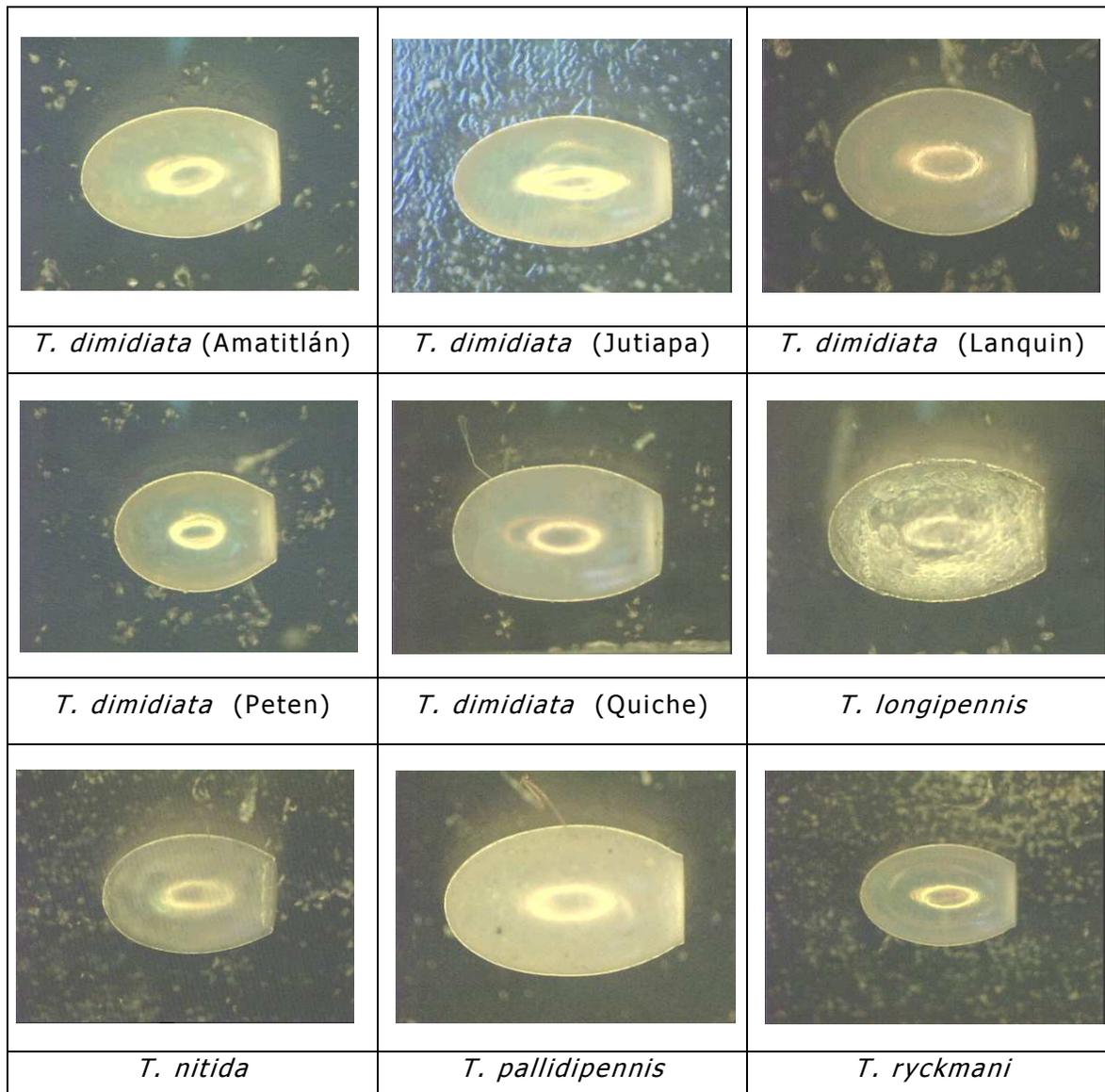
Se midieron y analizaron 426 huevecillos eclosionados (corion<sup>1</sup>) y 362 opérculos de cinco especies del género *Triatoma*, y cinco poblaciones de *T. dimidiata*, tal como se muestra en el Cuadro 1. Los huevecillos evaluados mostraron diferencias en tamaño y forma al ser observados al estereoscopio, como se observa en la Figura 4, en donde se aprecia que los huevecillos de la especie *T. dimidiata* muestran diferencias según la población de la que proceden, ya que los pertenecientes a Amatitlán, Jutiapa y Quiché son alargados, mientras que la forma de los huevecillos de Lanquín y Petén es redondeada. Sin embargo, estas dos últimas difieren en tamaño, ya que la población de Petén es sumamente pequeña, semejándose al tamaño (variable LH) de los huevecillos de *T. nítida* y *T. ryckmani*, los cuales presentan una forma alargada. Las especies *T. pallidipennis* y *T. longipennis* fueron las que presentaron el mayor tamaño.

Las hembras de *T. ryckmani*, las cuales fueron mantenidas en cultivo junto a los machos desde mayo de 2005, ovipositaron hasta octubre y noviembre de ese mismo año. Los huevecillos de esta especie presentaron un color rosa pálido, a diferencia de las demás especies, las cuales tienen un color blanco cremoso, tornándose de rosa a rosa oscuro cuando se acerca el momento de la eclosión.

---

<sup>1</sup> Corion: Huevecillo sin opérculo

**Figura 4.** Huevecillos eclosionados (corion) de cinco especies del género *Triatoma* y cinco poblaciones de *T. dimidiata*

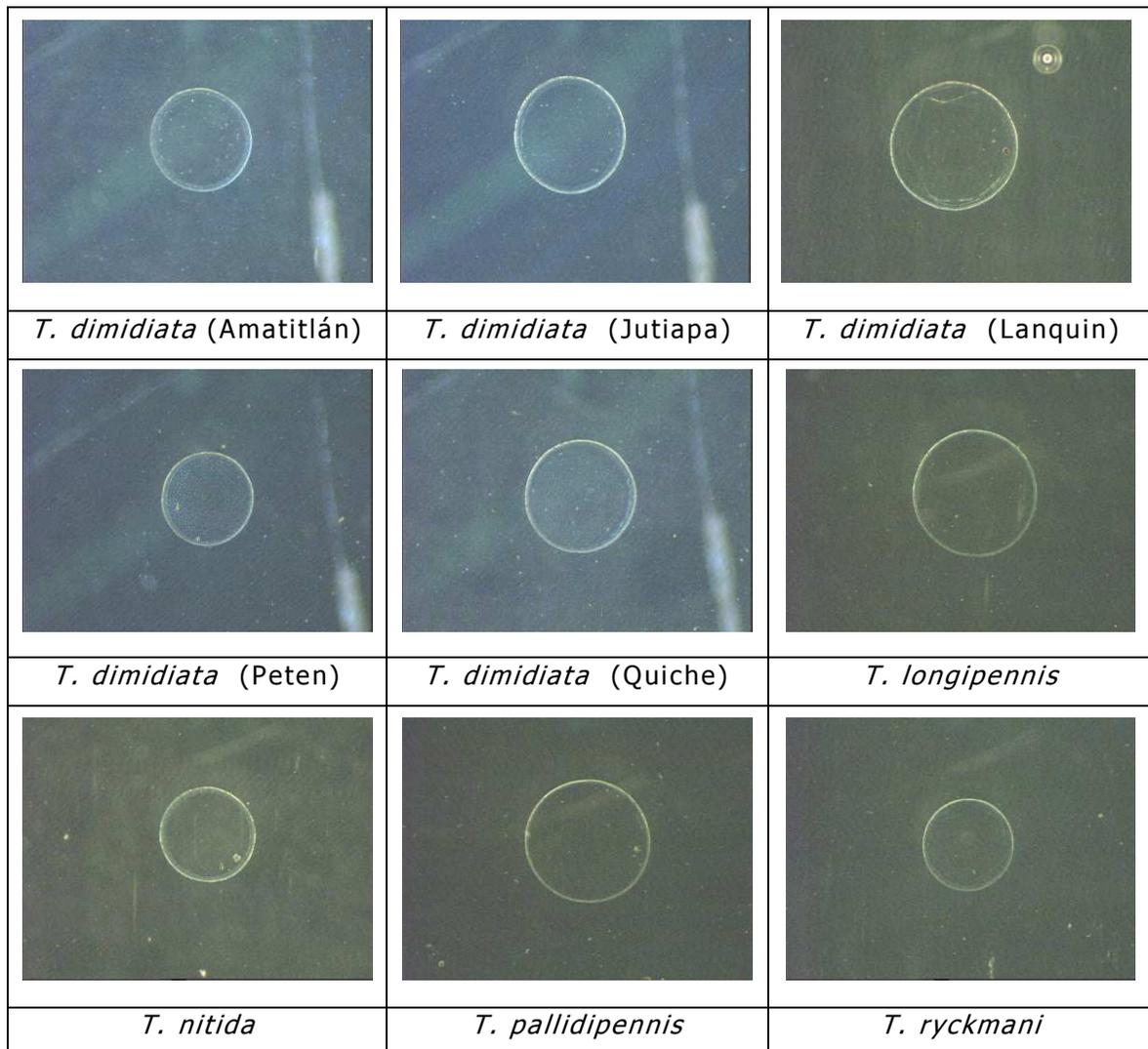


Fotografías: L. Díaz.

Todas las especies y poblaciones analizadas provenían de cultivos de donde se tomaron los huevecillos eclosionados (corion) y los opérculos. Debido a que varios huevecillos se encontraban dentro de cada recipiente de cultivo, era imposible conocer a que corion correspondía cada opérculo, por lo que los análisis se hicieron por separado sin correlacionar estas dos estructuras en ningún momento.

En los opérculos, el mayor tamaño (variable LO) se observó en la población de Lanquín seguida por las especies *T. pallidipennis* y *T. longipennis*, las cuales también presentaron el mayor tamaño en la variable de abertura opercular (AOp) del corion. En la Figura 5 se observan los opérculos de cada especie y población.

**Figura 5.** Opérculos de los huevecillos de cinco especies del género *Triatoma* y cinco poblaciones de *T. dimidiata*



Fotografías: L. Díaz.

## 8.2 MORFOMETRÍA

A cada corion se le midió largo, ancho y abertura opercular (LH, AH y AOp), mientras que a los opérculos se les midió largo y ancho (LO y AO), y para cada variable se comprobaron los supuestos del análisis de varianza (ANDEVA). En la Tabla 3 se presentan los resultados obtenidos a partir de estas dos pruebas.

**Tabla 3:** Resultados de las pruebas de Kolmogorov-Smirnov (Normalidad de Residuos) y Levene (Homogeneidad de Varianzas) para las variables del Corion y del Opérculo

Estructura	Variables	Kolmogorov-Smirnov	p	Levene	P
Corion	AH	0.765	0.601	7.637	0.000
	LH	0.906	0.385	6.860	0.000
	AOp	0.448	0.988	1.940	0.053
Opérculo	AO	0.946	0.333	7.377	0.000
	LO	0.620	0.837	5.205	0.000

Los valores de  $p > 0.05$  indican que se aceptan las hipótesis de normalidad de residuos (Kolmogorov-Smirnov) y homogeneidad de varianzas (Levene).

Según los resultados de la Tabla 3, al realizar la prueba de Kolmogorov-Smirnov, todas las variables tanto del corion como del opérculo, mostraron un valor de  $p > 0.05$ , lo cual indica que los residuos de las variables presentan una distribución normal. Al realizar la prueba de Levene, únicamente la variable AOp (abertura opercular) mostró un valor de  $p > 0.05$ , el cual sugiere que existe Homogeneidad de Varianzas.

El supuesto más importante del análisis de varianza es la homogeneidad de ésta (Gondar, 2001), por lo que se decidió evaluar las variables utilizando la variante no paramétrica de esta prueba (Kruskal-Wallis).

### 8.2.1 Análisis 1 (Cinco especies del género *Triatoma* y cinco poblaciones de *Triatoma dimidiata*):

Se llevaron a cabo las pruebas de Kruskal Wallis con todas las variables (AH, LH, AOp, LO y AO), observándose diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre todas las especies de *Triatoma* y las poblaciones de *T. dimidiata* evaluadas, por lo que se realizaron Comparaciones Múltiples de Dunn para conocer los grupos que eran significativamente diferentes.

En la Tabla 4 se muestran los resultados de estas pruebas para las variables del corion, mientras que en la Tabla 5 se presentan los resultados para las variables del opérculo. Ambos cuadros incluyen únicamente las parejas con por lo menos una variable en la que no fueron significativamente diferentes.

**Tabla 4:** Comparaciones Múltiples de Dunn para las variables del corion de todas las especies de *Triatoma* y poblaciones de *T. dimidiata*

Grupo 1	Grupo 2	Variables del Corion			Diferencias Significativas
		AH	LH	AOp	
<i>T. dimidiata</i> (Amatitlán)	<i>T. dimidiata</i> (Jutiapa)	> 0.05	< 0.001	> 0.05	1
	<i>T. dimidiata</i> (Lanquín)	< 0.001	> 0.05	< 0.001	2
	<i>T. nitida</i>	< 0.05	> 0.05	< 0.01	2
	<i>T. dimidiata</i> (Peten)	> 0.05	< 0.01	< 0.01	2
	<i>T. dimidiata</i> (Quiche)	> 0.05	> 0.05	> 0.05	0
<i>T. dimidiata</i> (Jutiapa)	<i>T. dimidiata</i> (Lanquin)	< 0.001	> 0.05	< 0.001	2
	<i>T. longipennis</i>	< 0.001	> 0.05	< 0.001	2
	<i>T. dimidiata</i> (Quiche)	> 0.05	> 0.05	> 0.05	0
<i>T. dimidiata</i> (Lanquin)	<i>T. longipennis</i>	> 0.05	< 0.001	> 0.05	1
	<i>T. pallidipennis</i>	> 0.05	< 0.001	> 0.05	1

Grupo 1	Grupo 2	Variables del Corion			Diferencias Significativas
		AH	LH	AOp	
	<i>T. dimidiata</i> (Quiche)	< 0.01	> 0.05	< 0.001	2
<i>T. longipennis</i>	<i>T. pallidipennis</i>	> 0.05	> 0.05	> 0.05	0
	<i>T. dimidiata</i> (Quiche)	< 0.001	< 0.001	> 0.05	2
<i>T. nitida</i>	<i>T. dimidiata</i> (Petén)	> 0.05	> 0.05	> 0.05	0
	<i>T. ryckmani</i>	> 0.05	> 0.05	> 0.05	0
<i>T. dimidiata</i> (Petén)	<i>T. ryckmani</i>	< 0.001	> 0.05	> 0.05	1

AH: Ancho del corion, LH: Largo del corion, AOp: Abertura opercular. Se muestran únicamente las parejas que presentaron por lo menos una variable en la que no fueron significativamente diferentes.

Las poblaciones de Amatitlán y Quiché de *T. dimidiata* no mostraron diferencias significativas en ninguna de las tres variables evaluadas (AH, LH y AOp), al igual que las especies *T. longipennis* y *T. pallidipennis*.

Las especies *T. nitida* y *T. ryckmani* tampoco mostraron diferencias significativas en ninguna de las tres variables; lo cual también se observó en las poblaciones de Quiché y Jutiapa de *T. dimidiata*.

**Tabla 5:** Comparaciones Múltiples de Dunn para las variables del opérculo de todas las especies de *Triatoma* y las poblaciones de *T. dimidiata*

Grupo 1	Grupo 2	AO	LO	Diferencias Significativas
<i>T. dimidiata</i> (Amatitlán)	<i>T. dimidiata</i> (Jutiapa)	> 0.05	> 0.05	0
	<i>T. nitida</i>	< 0.05	> 0.05	1
	<i>T. dimidiata</i> (Quiche)	> 0.05	> 0.05	0
<i>T. dimidiata</i> (Jutiapa)	<i>T. dimidiata</i> (Quiche)	> 0.05	> 0.05	0
<i>T. dimidiata</i> (Lanquin)	<i>T. longipennis</i>	> 0.05	> 0.05	0
	<i>T. pallidipennis</i>	> 0.05	> 0.05	0

<b>Grupo 1</b>	<b>Grupo 2</b>	<b>AO</b>	<b>LO</b>	<b>Diferencias Significativas</b>
<i>T. longipennis</i>	<i>T. pallidipennis</i>	> 0.05	> 0.05	0
<i>T. nitida</i>	<i>T. dimidiata</i> (Petén)	> 0.05	> 0.05	0
<i>T. dimidiata</i> (Petén)	<i>T. ryckmani</i>	> 0.05	> 0.05	0

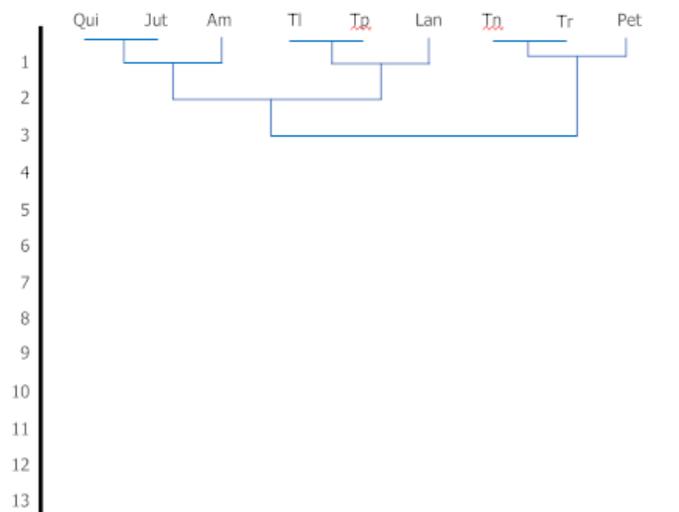
AO: Ancho del opérculo; LO: Largo del opérculo. Se muestran únicamente las parejas que presentaron por lo menos una variable en la que no fueron significativamente diferentes.

En la Tabla 5 se observa que no se presentaron diferencias significativas en las variables del opérculo entre las poblaciones de Amatitlán, Quiché y Jutiapa de *T. dimidiata*, al igual que entre la población de Lanquín de *T. dimidiata* y las especies *T. longipennis* y *T. pallidipennis*, así como entre *T. nitida* y la población de Petén de *T. dimidiata*; esta última tampoco mostró diferencias significativas con la especie *T. ryckmani*.

Utilizando el método propuesto por van Tuylen, 2007 (Análisis Jerárquico utilizando promedios ponderados), se presentan gráficamente los resultados obtenidos. Los resultados del corion y del opérculo se analizaron por separado, ya que estas dos estructuras no correspondían entre sí.

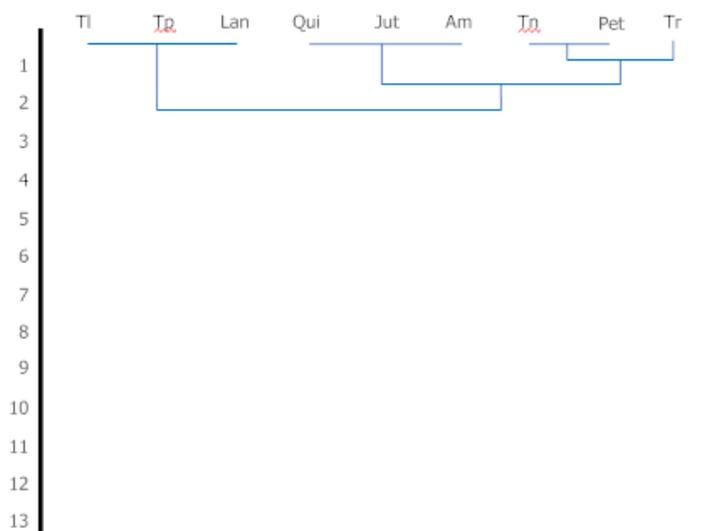
En este fenograma se agrupan los huevecillos de las poblaciones domésticas de *T. dimidiata* (Quiché y Jutiapa) con la población de Amatitlán, de la cual no se tiene certeza de su procedencia. Además, se agrupan las especies *T. longipennis* y *T. pallidipennis* con la población de Lanquín de *T. dimidiata*, las cuales son las de mayor tamaño. Otro grupo formado es el de las especies *T. nitida* y *T. ryckmani* con *T. dimidiata* de Petén.

**Figura 6.** Análisis agrupamiento jerárquico basado en el número de disimilitudes entre las variables de huevecillos de cinco especies de *Triatoma* y cinco poblaciones de *T. dimidiata*



Qui: *T. dimidiata* de Quiché; Jut: *T. dimidiata* de Jutiapa; Am: *T. dimidiata* de Amatitlán; TI: *T. longipennis*; Tp: *T. pallidipennis*; Lan: *T. dimidiata* de Lanquín; Tn: *T. nítida*; Tr: *T. ryckmani*; Pet: *T. dimidiata* de Petén.

**Figura 7.** Análisis agrupamiento jerárquico basado en el número de disimilitudes entre las variables del opérculo de cinco especies de *Triatoma* y cinco poblaciones de *T. dimidiata*



### 8.2.2 Análisis 2 (Cinco Especies del Género *Triatoma*):

Para evaluar por separado las cinco especies de *Triatoma* se utilizó la población de Jutiapa como representativa de *T. dimidiata*. Las variables fueron analizadas mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, encontrándose diferencias significativas entre todas ( $p < 0.05$ ), por lo que se realizaron pruebas *a posteriori* de Dunn, las cuales mostraron que las únicas especies que no presentaron diferencias significativas tanto para las variables del corion como del opérculo fueron *T. longipennis* y *T. pallidipennis*, tal como se muestra en la Tabla 6 y Tabla 7.

**Tabla 6:** Resultados de los análisis *a posteriori* de Dunn para las variables del corion de cinco especies del género *Triatoma*

Grupo 1	Grupo 2	AH	LH	AOp	Diferencias Significativas
<i>T. longipennis</i>	<i>T. pallidipennis</i>	> 0.05	> 0.05	> 0.05	0

Se muestran únicamente las especies que presentaron por lo menos una variable en la que no fueron significativamente diferentes.

**Tabla 7:** Resultados de los análisis *a posteriori* de Dunn para las variables del opérculo de cinco especies del género *Triatoma*

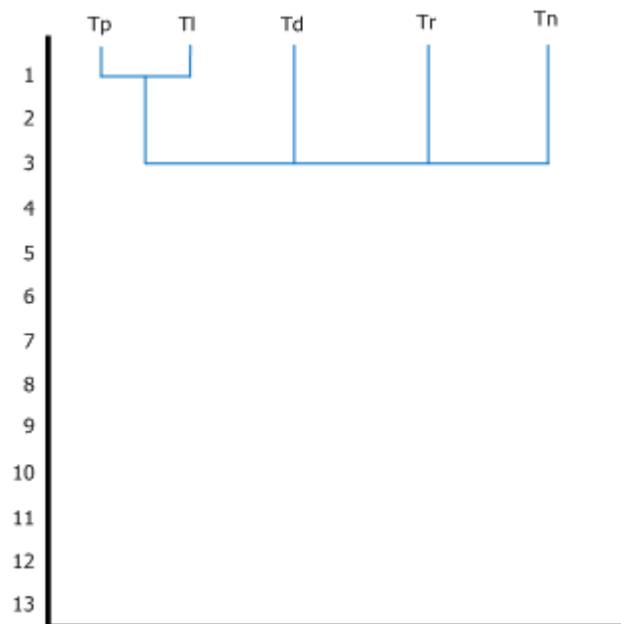
Grupo 1	Grupo 2	AO	LO	Diferencias Significativas
<i>T. longipennis</i>	<i>T. pallidipennis</i>	> 0.05	> 0.05	0

Se muestran únicamente las especies que presentaron por lo menos una variable en la que no fueron significativamente diferentes.

Utilizando el método de agrupamiento mencionado anteriormente, se realizaron fenogramas para las variables de los huevecillos y de los

opérculos de las cinco especies del género *Triatoma* que fueron evaluadas. El fenograma de los huevecillos se presenta como Figura 8, y como Figura 9, el fenograma de opérculos con este mismo método.

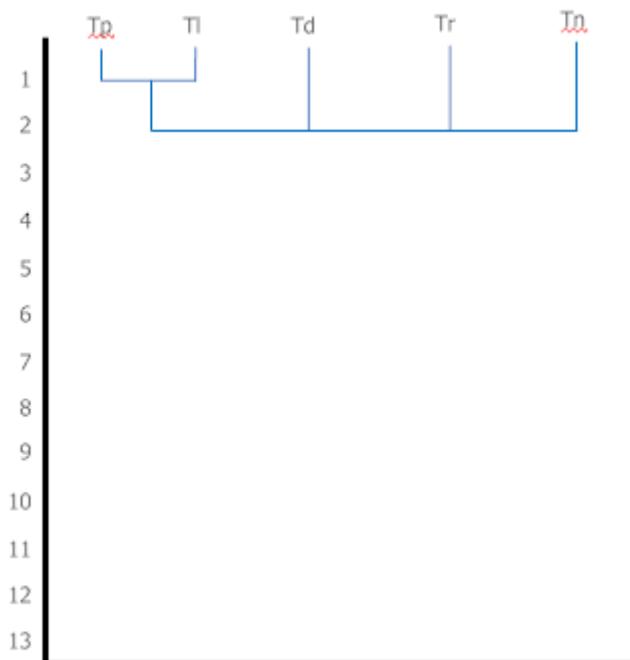
**Figura 8.** Análisis de agrupamiento jerárquico basado en las disimilitudes de huevecillos de cinco especies del género *Triatoma*



Tl: *T. longipennis*; Tp: *T. pallidipennis*; Tn: *T. nítida*; Tr: *T. ryckmani*.

Tanto el fenograma de huevecillos como el de opérculos muestran la agrupación de las especies *T. longipennis* y *T. pallidipennis*, mientras que las otras tres especies se encuentran independientes.

**Figura 9.** Análisis de agrupamiento jerárquico basado en las disimilitudes de opérculos de cinco especies del género *Triatoma*



Tl: *T. longipennis*; Tp: *T. pallidipennis*; Tn: *T. nítida*; Tr: *T. ryckmani*.

### 8.2.3 Análisis 3 (Cinco Poblaciones de *T. dimidiata*):

Se analizaron dos poblaciones silvestres (Lanquín y Petén), dos domésticas (Quiché y Jutiapa), y una que ha sido poco estudiada, pero que se cree que empieza a colonizar las viviendas (Amatitlán). Los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis mostraron diferencias significativas entre todas las poblaciones ( $p < 0.05$ ), por lo que se realizaron Comparaciones Múltiples de Dunn para conocer las parejas de poblaciones que eran significativamente diferentes. En la Tabla 8 se muestran únicamente las poblaciones con por lo menos una variable en la que no fueron significativamente diferentes.

**Tabla 8:** Resultados de la prueba de Comparaciones Múltiples de Dunn para las variables del corion de cinco poblaciones de *Triatoma dimidiata*

Grupo 1	Grupo 2	AH	LH	AOp	Diferencias Significativas
<i>T. dimidiata</i> (Amatitlán)	<i>T. dimidiata</i> (Jutiapa)	< 0.01	< 0.001	> 0.05	2
	<i>T. dimidiata</i> (Petén)	> 0.05	< 0.001	< 0.001	2
	<i>T. dimidiata</i> (Quiche)	< 0.001	< 0.01	> 0.05	2
<i>T. dimidiata</i> (Jutiapa)	<i>T. dimidiata</i> (Quiche)	> 0.05	< 0.001	> 0.05	1
<i>T. dimidiata</i> (Lanquin)	<i>T. dimidiata</i> (Quiche)	< 0.001	> 0.05	< 0.001	2

Se muestran únicamente las parejas que presentaron por lo menos una variable en la que no fueron significativamente diferentes.

Las poblaciones de Jutiapa y Quiché fueron las únicas que mostraron dos variables en las que no fueron significativamente diferentes, todas las demás poblaciones coincidieron solamente en una característica.

En la Tabla 9 se muestran los resultados de las comparaciones Múltiples de Dunn para las variables del opérculo.

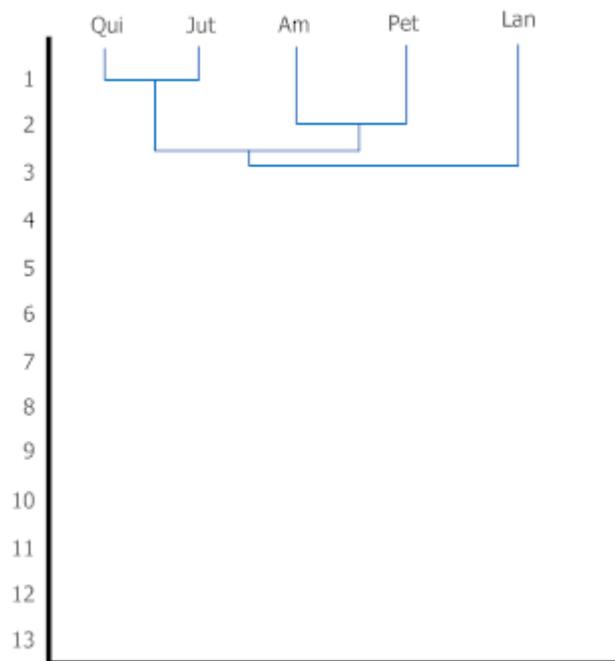
**Tabla 9.** Resultados de la prueba de Comparaciones Múltiples de Dunn para las variables del opérculo de cinco poblaciones de *Triatoma dimidiata*

Grupo 1	Grupo 2	AO	LO	Diferencias Significativas
<i>T. dimidiata</i> (Amatitlán)	<i>T. dimidiata</i> (Jutiapa)	> 0.05	> 0.05	0
	<i>T. dimidiata</i> (Quiche)	> 0.05	> 0.05	0
<i>T. dimidiata</i> (Jutiapa)	<i>T. dimidiata</i> (Quiche)	> 0.05	> 0.05	0

Se muestran únicamente las parejas que presentaron por lo menos una variable en la que no fueron significativamente diferentes.

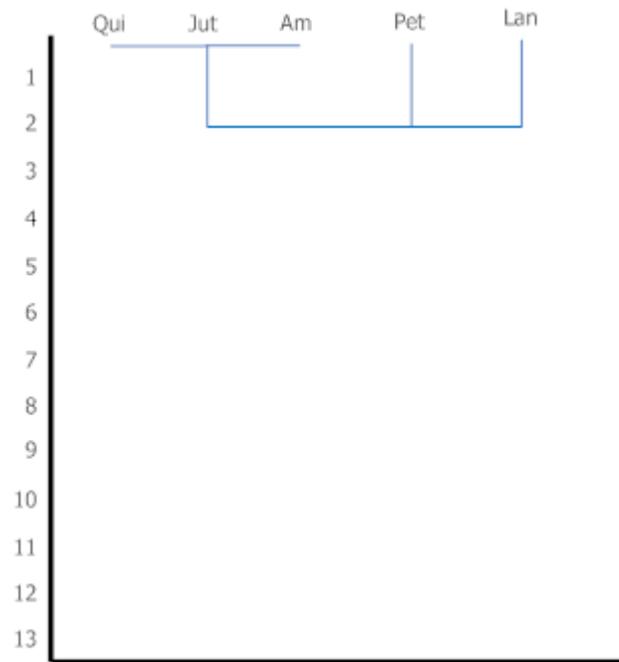
Únicamente entre las poblaciones de Jutiapa, Quiché y Amatitlán no se encontraron diferencias significativas en las variables del opérculo. Los fenogramas generados con estos resultados se muestran en la Figura 10 (huevecillos) y Figura 11 (opérculos).

**Figura 10.** Análisis de agrupamiento jerárquico basado en disimilitudes de los huevecillos de cinco poblaciones de *Triatoma dimidiata*



Este fenograma muestra la agrupación entre las poblaciones de Jutiapa y Quiché, y Amatitlán y Petén, quedando Lanquín afuera de las agrupaciones. El fenograma de los opérculos muestra la agrupación entre Amatitlán, Jutiapa y Quiché.

**Figura 11.** Análisis de agrupamiento jerárquico basado en disimilitudes de opérculos de cinco poblaciones de *Triatoma dimidiata*



## 9 DISCUSIÓN

### 9.1 SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Las especies utilizadas en este estudio fueron seleccionadas debido a la importancia epidemiológica que presentan y en algunos casos por el potencial impacto de las mismas sobre las poblaciones humanas, si llegaran a tener contacto con ellas, como en el caso de *T. rickmany*, la cual se convierte en un riesgo para la salud a medida que aumenta el transporte y comercialización de bromelias sin un adecuado control de plagas, así como la deforestación de su hábitat natural (Marroquín, *et al.* 2004).

En cuanto a las muestras de las especies *T. pallidipennis* y *T. longipennis*, la selección se basó en la disponibilidad de las mismas. Por otra parte, la especie *T. nítida* se escogió para determinar si la técnica permitía la diferenciación a nivel de los complejos *Protracta* (*T. nitida*) y *Phyllasoma* (*T. dimidiata*, *T. longipennis* y *T. pallidipennis*), para luego evaluar la diferenciación a nivel de especies y poblaciones.

Se seleccionaron cinco poblaciones de la especie *T. dimidiata*, debido a que otros estudios han mostrado que la misma presenta diferencias fenéticas, en caracteres como el color del corion, el tamaño del cuerpo, el largo de la cabeza, adaptaciones al ambiente y otras características (Bustamante, 2001; Calderón-Fernández, *et al.* 2005; Catalá, *et al.* 2005). Estas diferencias son especialmente evidentes en la población de Lanquín, de la cual se ha sugerido que se podría encontrar en un proceso avanzado de especiación (Bustamante, 2001; Landaverde, 2004) o incluso constituir una especie distinta (Dorn, *et al.* 2006). Otra población en la cual se han encontrado muchas

diferencias con las demás de *T. dimidiata* es la de Petén, sobre la cual, un estudio acerca de la cantidad, localización y comportamiento de la heterocromatina C durante la meiosis y mitosis mostró que esta población representa un citotipo distinto a las poblaciones domésticas y peridomésticas de Guatemala, El Salvador, el sur de México y Colombia (Panzera, 2006).

El estudio de las poblaciones silvestres es importante debido a que éstas podrían constituir focos de reinfestación en sitios donde se ha utilizado control químico para la especie (Nakawaga, *et al.* 2003; Calderón Fernández, *et al.*, 2005).

## **9.2 USO DE LA TÉCNICA**

La técnica de morfometría ha sido utilizada en varios estudios para la diferenciación de especies y poblaciones de triatomíneos, utilizando principalmente alas y cabezas. Debido a que constantemente se ha sugerido el uso de técnicas moleculares acompañadas de técnicas fenéticas que respalden sus resultados, se optó por la utilización de la morfometría del corion y su opérculo para probar la utilidad en la diferenciación de especies y poblaciones, ya que esta estructura no había sido utilizada previamente en los estudios de las poblaciones de *T. dimidiata* de Guatemala.

Anteriormente, algunos autores también han utilizado la morfometría del corion de otras especies (Costa *et al.* 1997; da Rosa, *et al.* 2000; Araújo Silva *et al.* 2005), encontrando diferenciación tanto entre especies como entre poblaciones silvestres y de laboratorio. Es importante resaltar que los resultados obtenidos en este estudio representan únicamente el análisis del tamaño de las estructuras, sin excluir la influencia de factores externos, ya que por la cantidad de

variables utilizadas no fue posible realizar un análisis de forma de las estructuras, sin embargo pueden hacerse algunas inferencias a partir de los resultados obtenidos, tal como se describirá más adelante.

### 9.3 DIFERENCIACIÓN DE COMPLEJOS

El análisis de huevecillos (corion) realizado con las cinco especies del género *Triatoma* y cinco poblaciones de *T. dimidiata* mostraron la diferenciación de dos grupos definidos, el primero formado por *T. longipennis*, *T. pallidipennis*, y las poblaciones de Lanquín, Quiché, Jutiapa y Amatitlán de *T. dimidiata*; y el segundo formado por las especies *T. nítida*, *T. ryckmani* y la población de Petén de *T. dimidiata*. A pesar de que el análisis realizado es únicamente de tamaño y no elimina el factor ambiental, esta división es parecida a la separación de complejos, dejando en un grupo las especies del complejo Phyllasoma (*T. longipennis*, *T. pallidipennis* y *T. dimidiata*) y en el otro a *T. nítida* del complejo Protracta.

Aunque a *T. ryckmani* aún no se le ha incluido en ningún complejo, en los resultados de un estudio llevado a cabo por Bustamante *et al.* (2004) con morfometría de cabezas, esta especie se encuentra intermedia entre los complejos Protracta (*T. nítida*) y Phyllasoma (*T. dimidiata* y *T. pallidipennis*), aunque más cercana a este último; previamente Dujardin *et al.* (2000, en Bustamante 2004), sugirieron la inclusión de esta especie en el complejo Phyllosoma, aunque en un estudio llevado a cabo por Bargues, *et al.* (2007) con ITS-2 se cuestiona la inclusión de esta especie al complejo Phyllosoma, ya que junto con *T. bolivari* se agrupa con *T. rubida* del complejo Rubrofasciata.

Como ya se mencionó antes, los resultados del presente estudio no excluyen el factor ambiental por lo que no serían una buena herramienta para fundamentar alguna teoría sobre el complejo al que pertenecería esta especie. Sin embargo en estudios posteriores, se podría aumentar el número de variables de tal manera que se pueda realizar un análisis de morfometría geométrica, el cual si permite hacer tales inferencias.

Con respecto a la población de Petén de *T. dimidiata*, estos resultados muestran una diferenciación importante de esta población con respecto a las demás poblaciones de *T. dimidiata*, situándola incluso más cerca del complejo Protracta (*T. nítida*) que de las demás poblaciones de *T. dimidiata*. Panzera, *et al* (2006) señalan que la población de Petén podría tratarse de una especie críptica<sup>2</sup>, lo cual podría explicar la diferenciación marcada, tanto en las medidas de los huevecillos como de los opérculos entre esta población y las demás de *T. dimidiata*.

La población de Lanquín también muestra una separación de las demás poblaciones de *T. dimidiata*, ya que se acerca más a las especies *T. longipennis* y *T. pallidipennis*.

Anteriormente, Araújo-Silva *et al* (2005) lograron diferenciar dos especies de complejos distintos por medio de las ornamentaciones y forma de las células del corion, lo cual también podría ser utilizado más adelante en las especies de este estudio a fin de verificar si se observa el mismo comportamiento que con la morfometría de estas estructuras.

---

<sup>2</sup> Especies crípticas: Especies que no se distinguen morfológicamente, aunque están aisladas reproductivamente (Panzera, 2006)

#### **9.4 DIFERENCIACIÓN DE ESPECIES**

Los análisis de agrupamiento mostraron la semejanza existente entre *T. longipennis* y *T. pallidipennis*, lo cual es evidente tanto en el corion como en el opérculo. Esto ya había sido descrito por Takashi Obara *et al.* (2007) quienes no encontraron diferencias significativas entre la arquitectura y medidas del exocorion de estas dos especies. Este y otros estudios genéticos (Brenière, *et al* 2003) sugieren una especiación reciente de éstas probablemente derivada de un ancestro común.

Según Barges, *et al.* (2008), las especies del complejo *Phyllosoma* (*T. longipennis*, *T. mazzotti*, *T. picturata*, *T. pallidipennis* y *T. phyllosoma*) tienen diferencias genéticas muy pequeñas, en algunos casos incluso nulas, por lo que podrían constituir subespecies de una misma especie.

#### **9.5 DIFERENCIACIÓN DE POBLACIONES DE *T. DIMIDIATA***

Varios estudios sugieren que *T. dimidiata* está constituida por un complejo de especies (Schofield, 1994) o poblaciones que divergen evolutivamente, en donde el aislamiento geográfico pareciera desarrollar una influencia importante con consecuencias fenéticas (Barges *et al.* 2008). Según Dorn *et al.* (2006) estas diferencias fenéticas son conocidas desde la primera descripción de la especie, y también son evidentes en el tamaño de los huevecillos de las poblaciones estudiadas en el presente trabajo, los cuales muestran la separación entre las poblaciones domésticas (Jutiapa, Quiché) y las silvestres de cuevas (Lanquín) y del bosque (Petén), estos patrones han sido descritos anteriormente por otros autores que han utilizado

estas mismas poblaciones para estudios del fenotipo de antenas (Catalá, *et al.* 2005), hidrocarburos cuticulares (Calderón-Fernández, *et al.* 2005) y morfometría de alas y cabezas (Bustamante, 2001).

La diferenciación entre la población de Petén y las demás de *T. dimidiata* utilizadas en este estudio es evidente tanto en los huevecillos como en los opérculos. Varios autores han encontrado diferencias fenéticas en la población de Petén (Bustamante 2001, Ordoñez 2002, Calderón-Fernández 2005) así como genéticas (Landaverde 2004, Calderón, *et al.* 2004, Panzera, 2006) que la separan de las demás poblaciones. Bagues *et al.* (2008), incluso proponen que la población de Petén pertenece a un taxa distinto al que denominan *T. sp. aff. dimidiata*.

La población de Lanquín también se diferencia de las demás, comportándose en algunos estudios incluso como una especie distinta (Bustamante, 2004). Según Bagues *et al.* (2008) el haplotipo de la población de Lanquín parece ser más parecido al del ancestro que dio origen a *T. dimidiata*.

Todos los agrupamientos realizados muestran una alta similitud entre las poblaciones de Quiché, Jutiapa y Amatitlán, ésta última ha sido poco estudiada, aunque al parecer es predominantemente silvestre (Monroy, com. per.). En este estudio, las variables del corion colocan a la población de Amatitlán cerca de Petén (tamaño pequeño) mientras que en las variables del opérculo se asemeja a las poblaciones domésticas (Jutiapa y Quiché).

Según Costa *et al.* (1997) las condiciones ambientales, como disponibilidad de alimento, temperatura y humedad, pueden afectar directa o indirectamente la morfología del huevo, sin embargo estos autores también encontraron diferencias significativas entre los huevos de cuatro formas crómicas de *T. brasiliensis* mantenidas en laboratorio bajo las mismas condiciones, lo cual muestra que tanto la

morfología como la morfometría de los huevecillos de triatominos puede proporcionar información valiosa para la separación incluso de poblaciones de una misma especie .

## **9.6 IMPLICACIONES PARA EL CONTROL VECTORIAL**

El control de las poblaciones de los triatominos vectores de *T. cruzi* es de especial preocupación en los sitios en donde estos insectos hematófagos son encontrados, ya que es una de las principales medidas para el control de la enfermedad (Schofield, 1994). Sin embargo, para este propósito es necesario conocer los patrones de comportamiento y dispersión de estas especies, así como las diferencias biológicas y genéticas de lo que parecerían ser especies politípicas<sup>3</sup> o crípticas (Dorn, *et al* 2006).

Las poblaciones silvestres de *T. dimidiata* analizadas en este estudio no tienen una alta importancia epidemiológica, ya que sus índices de infestación son bastante bajos y se encuentran relativamente aisladas por lo que no son relevantes como vectores (Dorn, *et al.* 2006), sin embargo podrían llegar a tener importancia a medida que aumenta la frontera agrícola y se destruye su hábitat natural.

Según un estudio llevado a cabo por Monroy *et al.* (2003a) la población de Petén tiene una alta capacidad de invasión, tanto por medio del vuelo (adultos) como por el traslado por vertebrados (ninfas), por lo que existe un riesgo potencial de infestación de viviendas, aunque hasta la fecha no se han reportado datos sobre esto.

---

<sup>3</sup> Politípica: Especie que consiste en distintas sub-especies que varían distanciadas geográficamente, pero capaces de reproducirse entre si (Dorn, *et al.* 2006)

Según Monroy (com. pers.) no se conoce el origen de la población de Amatitlán, pero al parecer llega volando a las viviendas y no las coloniza. Los resultados de este estudio muestran que esta población es similar a las poblaciones domésticas de Quiché y Jutiapa, por lo que podría colonizar las viviendas, y llegar a tener importancia para el control ya que se trata de un área semiurbana.

## 10 CONCLUSIONES

1. La morfometría de huevecillos y opérculos permite diferenciar entre los complejos de la subfamilia Triatominae estudiados (Protracta y Phyllasoma).
2. El tamaño del huevecillo de *T. ryckmani* es más parecido al del complejo Protracta (*T. nítida*) que al de Phyllosoma (*T. longipennis* y *T. pallidipennis*).
3. En ningún análisis se observaron diferencias significativas en las variables de huevecillos y opérculos entre las especies *T. pallidipennis* y *T. longipennis*.
4. La población de Lanquín de *T. dimidiata* no presentó diferencias significativas con las especies *T. longipennis* y *T. pallidipennis* tanto en las variables del corion como del opérculo.
5. La población de Petén de *T. dimidiata* mostró menor número de diferencias significativas con las especies *T. nítida* y *T. ryckmani* que con las demás poblaciones de su misma especie.
6. No se encontró ninguna diferencia significativa en las variables del corion y del opérculo de las poblaciones de Jutiapa y Quiché de *T. dimidiata*.
7. La población de Amatitlán de *T. dimidiata* presentó características semejantes a las poblaciones domésticas de la especie (Quiché y Jutiapa) en las variables del opérculo, mientras que en las variables del corion fue semejante a la población silvestre de Petén.
8. La población de Petén de *T. dimidiata* mostró una diferenciación importante de las demás poblaciones de esta especie en todas las variables estudiadas.

## 11 RECOMENDACIONES

1. Realizar análisis de la forma de las células del exocorion de las especies estudiadas para comprobar si es posible la diferenciación de complejos, especies y poblaciones, tal como con el tamaño de los huevecillos y opérculos.
2. Realizar un estudio similar, incluyendo otras poblaciones silvestres de *T. dimidiata*, para corroborar la agrupación obtenida en este estudio.
3. Realizar un estudio aumentado el número de variables a fin de realizar un análisis de morfometría geométrica con el que se observen diferencias en la conformación de las estructuras (huevecillos y opérculos) en las especies y poblaciones.

## 12 REFERENCIAS

1. Aldana E, Viera D, Lizano E, Ramón F, Valderrama A. 1997. Morfología de Huevos y Ninfas de *Psammolestes salazari* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). Caribbean Journal of Science, Vol. 33, No. 1-2, 70-74.
2. Araújo Silva MB, Jurberg J, Santos Barbosa H, da Silva Rocha D, Carcavallo R, Galvão C. 2005. Morfología comparada dos ovos e ninfas de *Triatoma vanda* Carcavallo, Jurberg, Rocha Galvão, Noireau & Lent, 2002 e *Triatoma williami* Galvão, Souza & Lima, 1965 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Brasil. Vol. 100 (6): 649-661.
3. Barata JMS. 1981. Macroscopic and Exocorial Structures of Triatominae Eggs (Hemiptera, Reduviidae). Atlas of Chagas' Disease Vectors in the Americas. Vol. II. Cap. 10: 409-448 p.
4. Barata JMS. 1995. Aspectos Morfológicos de Ovos de Triatominae. Taller Internacional sobre Genética Poblacional y Control de Triatomineos. Ecuador. 55-58 p.
5. Barges MD, Klisiowicz DR, González-Candelas F, Ramsey JM, Monroy C, Ponce C, Salazar-Schettino PM, Panzera F, Abad-Franch F, Sousa OE, Schofield CJ, Dujardin JP, Guhl F, Mas-Coma S. 2008. Phylogeography and Genetic Variation of *Triatoma dimidiata*, the Main Chagas Disease Vector in Central America, and Its Position within the Genus *Triatoma*. PLoS Negl. Trop. Dis. 2(5): e233. doi:10.1371/journal.pntd.0000233

6. Bautista N, Rojas G, De Haro I, Bucio M, Salazar PM. 2001. Comportamiento Biológico de *Triatoma pallidipennis* (Hemiptera: Reduviidae) en el Estado de Morelos, México. Bol. Chil. Parasitol. Vol. 57 n. 3-4.
7. Borges EC, Pires HHR, Barbosa SE, Nunes CMS, Pereira MH, Romanha RJ, Diotaiuti L. 1999. Genetic Variability in Brazilian Triatomines and the Risk of Domiciliation. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Vol. 94 Suppl. I: 371-373 p.
8. Brener Z, Andrade ZA, Barral-Netto M. eds. 2000. *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. 2 Ed. Editorial Ganabara Koogan, Río de Janeiro, Brasil. 431 pp.
9. Brenière S, Taveira B, Bosseno MF, Ordóñez R, Lozano-Kasten F, Magallón-Gastélum E, Ouaissi A, Ramsey J. 2003. Preliminary Results of Random Amplification of Polymorphic DNA among Triatominae of the Phyllosoma Complex (Hemiptera, Reduviidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 98(8): 1033-1038
10. Bustamante DM. 2001. Morfometría de Seis Poblaciones del Principal Vector de la Enfermedad de Chagas en Guatemala, *Triatoma dimidiata* (Latreille) 1811 (Hemíptera: Reduviidae: Triatominae), para la Caracterización Geográfica de la Especie. Tesis de Licenciatura, Escuela de Biología, Fac. Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 121 pp.
11. 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.
12. 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). Tesis de Licenciatura, Escuela de Biología, Fac. Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 116 pp.
  13. Calderón C, Dorn P, Melgar S, Chávez 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
  14. Calderón Fernández G, Juárez MP, Monroy MC, Menes M, Bustamante DM, Mijailovsky S. 2005. Intraspecific Variability in *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) Populations from Guatemala Based on Chemical and Morphometric Analyses. J. Med. Entomol. 42(1): 29-35.
  15. Carcavallo R, Jurberg J, Lent H, Noreau F, Galvão C. 2000. Phylogeny of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). Proposals for Taxonomic Arrangements. Entomología y Vectores. Vol. 7 (Supl. 1): 1-99.

16. Catalá S, Sachetto C, Moreno M, Rosales R, Salazar-Schettino PM, Gorla D. 2005. Antennal Phenotype of *Triatoma dimidiata* Populations and Its Relationship with Species of *Phyllosoma* and *Protracta* Complexes. J. Med. Entomol. 42 (5): 719-725.
17. Chávez LF, Añez N. 2003. Geometría de las células del exocorion de *Rhodnius prolixus*, Stål, 1859 (Heteroptera: Reduviidae). Entomotropica Vol. 18(1): 1-5, abril.
18. Chávez LF, Ramoni-Perazzi P, Lizano E, Añez N. 2003. Morphometrical Changes in Eggs of *Rhodnius prolixus* (Heteroptera: Reduviidae) During Development. Entomotropica Vol. 18(2): 83-88. Agosto
19. Costa JM, Jurberg J, Barth OM. 1991. Estudos Morfológicos de *Cavernicola lenti* Barrett & Arias, 1985 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 86(2):247-263 apr./jun.
20. Costa J, Barth OM, Marchon-Silva V, Almeida CE de, Freitas-Sibajev MGR, Panzera F. 1997. Morfological Studies on the *Triatoma brasiliensis* Neiva 1911 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) Genital Structures and Eggs of Different Chromatic Forms. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 92(4): 493-498, Jul./Aug.
21. Da Rosa JA, Barata JMS, Santos JLF, Cilense M. 2000. Morfología de ovos de *Triatoma circummaculata* e *Triatoma rubrovaria* (Hemiptera, Reduviidae). Rev. Saúde Pública, 34 (5): 538-42.

22. Da Rosa J, Justino H, Barata JMS. 2003. Differences in the size of eggshells among three *Panstrongylus megistus* colonies. Rev. Saúde Pública; 37(4): 528-30 p.
23. Dorn P, Monroy C, Curtis A. 2006. *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811): A Review of its Diversity Across its Geographic Range and the Relationship among Populations. Infect. Genet. Evol. doi:10.1016/j.meegid.2006.10.001
24. Dujardin JP. 2000. Introducción a la Morfometría. Con Énfasis en Triatominae y Phlebotominae. No publicado. La Paz, Bolivia.
25. Dumonteil E, Gourbière S, Barrera-Pérez M, Rodríguez-Félix E, Ruiz-Piña H, Baños-López O, Ramírez-Sierra MJ, Menu F, Rabinovich J. 2002. Geographic Distribution of *Triatoma dimidiata* and Transmission Dynamics of *Trypanosoma cruzi* in the Yucatan Peninsula of Mexico. Am. J. Trop. Med. Hyg. 67 (2): 176-183.
26. Espinoza-Gómez F, Maldonado-Rodríguez A, Coll-Cárdenas R, Hernández-Suárez CM, Fernández-Salas I. 2002. Presence of Triatominae (Triatominae: Reduviidae) and Risk of Transmission of Chagas Disease in Colima, México. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Vol. 97 (1): 25-30
27. Galvão C, Jurberg J, Lent H. 1996. Resistência ao Jejum de *Triatoma nítida* Usinger, 1939 em Laboratório (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 91 (5): 639-640

28. Galvão C, Jurberg J, Cunha V, Mello RP. 1995. Biología do *Triatoma nítida* Usinger, 1939 em Laboratorio (Hemiptera: Reduviidae) Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 90(5):657-663
29. Gondar Nores JE. 2001. UNIANOVA. Cuadrado Latino 1 Factor (LS). Data Mining Institute, S.L. Disponible en [www.estadistico.com/arts.html?20011015](http://www.estadistico.com/arts.html?20011015)
30. Ibáñez-Bernal S, Paz-Rodríguez R. 1998. Los complejos de Especies de *Triatoma* en México y Centroamérica. II Taller Internacional sobre Genética Poblacional y Control de Triatomineos. Tegucigalpa, Honduras. 86-90 p.
31. Junkum A, Jitpakdi A, Komalamisra N, Jariyapan N, Somboon P, Bates P, Choochote W. 2004. Comparative Morphometry and Morphology of *Anopheles aconitus* form B and C Eggs Under Scanning Electron Microscope. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo, 46(5):257-262, Sep-Oct.
32. Jurberg J, Galvão C, Barth M. 1991. Estudio Morfológico de Ovos e Ninfas de *Triatoma nitida* Usinger 1939 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Rev. Brasil. Biol., 51(2):365-372
33. Jurberg J, Araújo Silva MB, Galvão C, Silva Rocha D da, Santos Barbosa H, Carcavallo RU. 2002. Descrição dos Ovos e Dos Estádios Ninfais de *Triatoma jurbergi* Carcavallo, Galvão & Lent, 1998 Vistos Através de Microscopia Óptica e Eletrônica de Varredura (Hemiptera, Reduviidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 97 (2):209-216. Mar.

34. Krebs CJ. 1999. Ecological Methodology. 2da. Ed. Addison Wesley Longman. EEUU.620 p
35. 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 Polimorfico (RAPD-PCR). Tesis de Licenciatura. Escuela de Biología, Fac. Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 108 pp.
36. Lehmann P, Ordoñez R, Ojeda-Baranda R, Méndez de Lira J, Hidalgo-Sosa L, Monroy C, Ramsey JM. 2005. Morphometric analysis of *Triatoma dimidiata* populations (Reduviidae: Triatominae) from Mexico and Northern Guatemala. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Río de Janeiro, Vol. 100(5): 477-482, agosto.
37. Lent H, Jurberg J. 1992. A Comparative Study of the Male External Genitalia of *Triatoma neotomae* Neiva, 1911 and *Triatoma nitida* Usinger, 1939 (Hemiptera: Reduviidae) Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 87, Suppl. I, 123-130
38. Lent H, Wygodzinsky P. 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and Their Significance as Vector of Chagas Disease. Bulletin of the American Museum of Natural History, Vol. 163: article 3, 123-520. New York
39. Martínez-Ibarra A, Katthain-Duchateau G. 1999. Biology of *Triatoma pallidipennis* Stål 1945 (Hemiptera: Reduviidae:

- Triatominae) Under Laboratory Conditions. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 94(6): 837-839, Nov./Dec.
40. Martínez-Ibarra A, Bárcenas-Ortega NM, Noguera-Torres B, Alejandro-Aguilar R, Rodríguez ML, Magallón-Gastélum E, López-Martínez V, Romero-Nápoles J. 2001. Role of Two *Triatoma* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) Species in the Transmission of *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) to Man in the West Coast of Mexico. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 96(2): 141-144, Feb.
  41. Martínez-Ibarra JA, Bárcenas-Ortega NM, Romero Nápoles J, Noguera-Torres B, Rodríguez-López MH. 2006. Diferencias Métricas entre Poblaciones de *Meccus longipennis* (Usinger) (Hemiptera: Reduviidae) en el Occidente de México. Folia Entomol. Mex. 45 (2): 83-90.
  42. Marroquín R, Monroy C, Jaenson TGT. 2004. *Triatoma ryckmani* (Hemiptera: Reduviidae) in the Epiphyte *Tillandsia xerographica* (Bromeliaceae) in the Semiarid Region of Guatemala. J. Med. Entomol. 41 (3): 321-323.
  43. 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 de Licenciatura. Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 107 pp

44. Monroy MC, Bustamante DM, Rodas AG, Enriquez ME, Rosales RG. 2003a. Habitats, Dispersion and Invasion of Sylvatic *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Petén, Guatemala. J. Med. Entomol. 40 (6): 800-806
45. Monroy C, Bustamante DM, Rodas A, Rosales R, Mejía M, Tabaru Y. 2003b. Geografic Distribution and Morphometric Differentiation of *Triatoma nitida* Usinger 1939 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) in Guatemala. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Río de Janeiro. Vol. 98(1): 37-43, jan.
46. Monroy C. 2004. Dispersion and Colonization of *Triatoma ryckmani* (Hemiptera: Reduviidae) in Artificial Environments in a Semiarid Region of a Chagas Disease Endemic Area in Guatemala. Acta Tropica 97 (2004): 145-151
47. Monte Gonçalves TC, Jurberg J, Costa JM, De Souza W. 1985. Estudio Morfológico Comparativo de Ovos e Ninfas de *Triatoma maculata* (Erichson, 1848) e *Triatoma pseudomaculata* Correa & Espínola, 1964 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 80(3): 263-276
48. Nakagawa J, Cordón-Rosales C, Juárez J, Itzep C, Nonami T. 2003. Impact of Residual Spraying on *Rhodnius prolixus* and *Triatoma dimidiata* in the Department of Zacapa in Guatemala. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 98 (2): 277-281, marzo
49. Oliveira LGB de, Rosa JA da. 2003. Eggshells Morphometry and Morphology of *Triatoma costalimai*, *Triatoma guazu* and

- Triatoma williami* (Hemiptera, Reduviidae). Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo, 45 (Suppl. 13) Nov.
50. Panzera F, Ferrandis I, Ramsey J, Ordoñez R, Salazar-Schettino PM, Cabrera M, Monroy MC, Barges MD, Mas-Coma S, O'Connor JE, Angulo VM, Jaramillo N, Córdón-Rosales C, Gómez D, Pérez R. 2006. Chromosomal Variation and Genome Size Support Existence of Cryptic Species of *Triatoma dimidiata* with Different Epidemiological Importance as Chagas Disease Vectors. Tropical Medicine and International Health. Vol. 11 No. 7 pp 1092-1103
  51. Panzera F, Ferrandis I, Ramsey J, Salazar-Schettino PM, Cabrera M, Monroy C, Barges MD, Mas-Coma S, O'Connor JE, Angulo VM, Jaramillo N, Pérez R. 2007. Genome Size Determination in Chagas Disease Transmitting Bugs (Hemiptera-Triatominae) by Flow Cytometry. Am. J. Trop. Med. Hyg. 76 (3) pp.516-521
  52. Pinto C. 1924. Biología do *Triatoma brasiliensis* Neiva. Sci. Méd. 2: 541-543.
  53. Rodríguez-Sánchez M, Alexandre-Aguilar R, Noguera-Torres B, Camacho A, Martín-Frías E. 2003. Development of Genital Plates in Nymphs of *Triatoma pallidipennis*, Stål, 1872, (Hemiptera, Reduviidae) and its Application as Sexing Method. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 98(6): 777-782 Sept.
  54. Rohlf J. 1990. Morphometrics. Rev. Ecol. Syst. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, USA.

55. Salazar Schettino PM, De Haro Arteaga I, Cabrera Bravo M. 2005. Tres especies de Triatominos y su importancia como vectores de *Trypanosoma cruzi* en México. MEDICINA (Buenos Aires) 65: 63-69
56. Schofield CJ. 1994. Triatominae. Biología y Control. Eurocommunica Publications. UK. 77 pp.
57. Schofield CJ. 1997. Memorias Curso Posgrado Genética Poblacional de Triatomineos Aplicada al Control Vectorial de la Enfermedad de Chagas. Santa Fe de Bogotá, Colombia. 89 pp.
58. Schofield CJ. 2000. Global Collaboration for Development of Pesticides for Public Health. Challenges of Chagas Disease Vector Control in Central America. WHO. 36 pp.
59. Sherlock I, Morera P. 1988. Alotipo Macho de *Triatoma ryckmani* Zeledón y Ponce, 1972. Rev. Biol. Trop. 36(2B): 423-428
60. Sokal RR, Rohlf FJ. 2001. Biometry. The Principles and Practice of Statistics in Biological Research. 3rd. Ed. W.H. Freeman and Co. New York. 887 pp.
61. Tabachnick BG, Fidell LS. 1996. Using Multivariate Statistics. Harper Collins College Publishers. New York.
62. Takashi Obara M, Soares Barata JM, Nunes da Silva N, Ceretti Júnior W, Urbinatti PR, Aristeu da Rosa J, Jurberg J, Galvão C. 2007. Estudo de ovos de quatro espécies do gênero *Meccus* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), vetores da doença de

- Chagas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 102 (1): 13-19
63. Van Tuylen S. 2007. Variación de la Genitalia Externa de Machos en Poblaciones de *Triatoma dimidiata*. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 50 pp.
64. Visciarelli E, Ferrero A, Costamagna SR. 2004. Aspectos Exocoriales de Huevos de *Triatoma patagónica* Del Ponte, 1929 por Microscopía Electrónica de Barrido. Entomol. Vect. 11 (4): 653-668 ISSN 0328-0381. Disponible en [www.ugf.br/editora](http://www.ugf.br/editora)
65. Zeledón R, Ponce C. 1972. Descripción de una nueva especie de *Triatoma* de Honduras, América Central (Hemiptera: Reduviidae). Rev. Biol. Trop. 20(2):275-279
66. Zeledón R. 1981. El *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) y su Relación con la Enfermedad de Chagas. Editorial Universidad Estatal a Distancia. San José, Costa Rica. 146 pp.
67. Zeledón R, Rojas JC. 2006. Environmental Management for the Control of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811), (Hemiptera: Reduviidae) in Costa Rica: a Pilot Project. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 101 (4): 379-386, junio.