

Mejor Tesis: ESCUELA DE BIOLOGIA**Morfometría de poblaciones silvestres y domésticas del principal vector de la enfermedad de Chagas en Guatemala, *Triatoma dimidiata* (Hemiptera; Reduviidae; Triatominae).**D. M. Bustamante¹, M. C. Monroy², S. A. Melgar³.**RESUMEN**

La posible existencia de diferencias métricas intra especie en *Triatoma dimidiata*, se evaluó al comparar poblaciones utilizando la morfometría como marcador fenotípico. Se aplicaron métodos de morfometría tradicional y geométrica a caracteres métricos del *hemelitron* izquierdo (ala) y la cabeza de 168 insectos provenientes de seis localidades de Guatemala. Los resultados mostraron que existe diferenciación en tamaño y forma, revelando tres grupos en función del ecotopo: (a) insectos de viviendas humanas, (b) insectos de la selva del Petén, (c) insectos de cuevas en Alta Verapaz. De forma univariada se encontró baja diferenciación entre grupos geográficamente cercanos (test U de Mann Withney), patrones interesantes en los caracteres del grupo de Alta Verapaz (perfiles de Guillaumin) y mayor variabilidad en el grupo de Petén (relaciones de varianzas). Con técnicas de morfometría tradicional se encontraron diferencias significativas (Wilks' Lambda ≈ 0 , sig. < 0.05; Kappa 0.48 - 0.67, sig. < 0.05), entre grupos domésticos y silvestres, pero no entre domésticos. El grupo de Alta Verapaz se diferenció inequívocamente del resto en la forma del ala y la cabeza. La aplicación de técnicas de corrección del tamaño mostró diferenciación entre el grupo del Petén y los grupos domésticos, pero solamente en la forma y la conformación de la cabeza. Las técnicas de morfometría geométrica produjeron resultados similares a la tradicional, confirmando la diferenciación de Petén por la conformación de la cabeza; adicionalmente revelaron que para Petén, la cabeza es más pequeña, corta y ancha. Los resultados apuntan a que: (a) los grupos de insectos domésticos en Guatemala podrían estar constituyendo un conjunto de subpoblaciones conectadas por la dispersión de individuos (una metapoblación); (b) *Triatoma dimidiata* del Petén posiblemente tiene diferencias

genéticas con los grupos domésticos. Los grupos domésticos y silvestres de *T. dimidiata* en Guatemala, podrían estar en proceso de constituir "especies ecológicas", ya que presentan diferencias morfológicas atribuibles a la adaptación a diferentes ambientes y en el futuro podrían seguir diferentes destinos evolutivos. Los datos sugieren que los grupos domésticos son genéticamente simples y por lo tanto más vulnerables a los insecticidas. El grupo silvestre del Petén podría cobrar mayor importancia vectorial, a medida que las selvas peteneras son colonizadas por el humano.

INTRODUCCIÓN

La morfometría es una rama de la biometría que agrupa un conjunto de métodos para la descripción cuantitativa, análisis e interpretación de la forma biológica y su variación (Rohlf 1990). Es una técnica muy utilizada en estudios de comparación de formas en estudios poblacionales, taxonómicos, o procesos de desarrollo.

En el estudio de insectos de importancia agrícola ó médica ha sido muy utilizada para determinar potenciales orígenes de reinfestaciones de insectos plaga o vectores de enfermedades (Daly 1985). Aplicada a los insectos vectores de la enfermedad de Chagas, esta técnica ha sido utilizada en estudios de estructuración geográfica de una especie, representación de relaciones filogenéticas, medición de la relación entre variación métrica y fenómenos de especiación, detección de cambios fenéticos asociados a la domesticación, estudio de la historia de migraciones y dilucidación del origen de reinfestaciones (Dujardin *et al* 2000a).

En el presente trabajo, técnicas de morfometría tradicional y geométrica fueron utilizadas para el

¹ - Métrica, vector
² - Métrica, vector
³ - Métrica, vector

estudio de la estructuración geográfica del principal vector de parásito *Trypanosoma cruzi* en Guatemala, *Triatoma dimidiata*. *T. cruzi* es el agente causal de la enfermedad de Chagas, para la que en Guatemala se estiman 730,000 casos, con 30,000 casos nuevos anualmente (De León 1997). Esta enfermedad tiene un alto impacto social en términos de años potenciales de vida perdidos y debido a su elevado potencial de morbi-mortalidad, particularmente en la forma crónica cardiaca (Pinto Dias 1999).

De acuerdo a Schofield (2000), es necesario verificar si *T. dimidiata* conforma una serie de subpoblaciones relativamente aisladas, con un bajo flujo genético entre ellas. Entonces, podría ser posible alcanzar altos niveles de control en localidades específicas, y después monitorear –con la ayuda de marcadores genéticos y fenéticos– los orígenes de potenciales reinfestaciones. Es una prioridad urgente el estudiar la estructura genética de las poblaciones de *T. dimidiata*.

En este estudio, la morfometría fue utilizada como marcador fenético para estudiar las relaciones (aislamiento o flujo) entre cuatro poblaciones domésticas y dos poblaciones silvestres de *Triatoma dimidiata*. Los métodos de morfometría tradicional y geométrica fueron aplicados a caracteres métricos medidos en el *hemelitra* izquierdo (ala) y la cabeza. Las poblaciones domésticas provenían de Santa Rosa (2), Jutiapa y Quiché; las poblaciones silvestres provenían de la selva del Petén y de cuevas en Alta Verapaz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 168 insectos *Triatoma dimidiata*, distribuidos de la manera que se indica en la tabla 1. Los *hemelitra* (alas mesotorácicas) fueron removidos de los insectos y montados entre porta y cubreobjetos, utilizando solución de Hoyer como medio. La cabeza de los insectos fue pineada por la técnica de punto, utilizando un triángulo de acetato como soporte.

Las imágenes de estas dos estructuras fueron captadas utilizando un sistema digital de imagen (Becerra *et al* 1993). El hardware consistía de un microscopio estereoscópico, conectado a una cámara que

transmitía las imágenes a una computadora. El software utilizado para la adquisición de imágenes fue VhXtreme (AIMS Lab. Inc.), el cual almacenaba las imágenes en el disco duro como mapas de bits. El software para la medición de las imágenes digitalizadas fue tpsDig 1.27 (Æ Rohlf 2001), por medio del cual se obtuvieron las coordenadas cartesianas de los puntos en la figura 1. A partir de las coordenadas cartesianas se obtuvieron las distancias entre puntos indicadas en la tabla 2, utilizando el teorema de Pitágoras. Se estimó la precisión y exactitud (Dujardin 2000) con que habían sido tomadas las distancias para garantizar que la información fuera confiable. Los valores de las distancias obtenidas se transformaron en logaritmos naturales. Se procedió a buscar individuos atípicos ó "outliers"; se eliminaron 5 atípicos de Lanquín, 1 de Petén y 1 de Jutiapa.

Morfometría Tradicional

Análisis Univariados:

Se efectuaron comparaciones entre pares de grupos para cada carácter (para machos y hembras por separado) utilizando la prueba estadística no paramétrica U de Mann Withney (Daniel 1998). Esta prueba es equivalente al test de t y su objetivo es probar si dos muestras independientes pertenecen a la misma población. Los valores de significancia fueron corregidos utilizando un método secuencial tipo Bonferroni (Sokal & Rohlf 1995). Para poder visualizar cómo se comportaban los caracteres en los grupos se realizaron perfiles de acuerdo al método de Guillaumin (Dujardin 2000; Dujardin & Le Pont 2000). Estos perfiles permitieron visualizar las diferencias en tamaño general de un grupo en relación a los otros, indicando además cuales variables podrían ser diagnósticas entre ciertos grupos. Se estimó el coeficiente de variación para cada carácter y se estudiaron las diferencias de variación entre los grupos por medio de pruebas de relación de varianzas (Daniel 1998).

Análisis Multivariado:

El número de caracteres a utilizar en morfometría tradicional está en dependencia del tamaño de la muestra: el número mínimo de individuos por grupo tendría que ser el doble del número de variables (Bookstein 1996, citado por Dujardin 2000). La

población de Alta Verapaz contaba con pequeño tamaño de muestra (5-7 insectos); se decidió efectuar comparaciones incluyendo y excluyendo a este grupo. Incluyéndolo, se efectuaron análisis discriminantes en base a cinco ó seis caracteres del ala y seis u ocho caracteres de la cabeza (tabla 3). Excluyendo al grupo de Alta Verapaz, se efectuaron análisis discriminantes sobre las variables de forma y conformación obtenidas después de la corrección del tamaño (ver más adelante).

Se utilizaron seis caracteres para la cabeza en las hembras y ocho para los machos (ver tabla 3). Para el ala, se seleccionaron dos conjuntos de seis caracteres cada uno (uno de cinco para las hembras).

Se utilizaron dos métodos para la exclusión de las tendencias alométricas (corrección del tamaño) en los conjuntos de caracteres. Con el método de Klingenberg (1996), se indica que la eliminación del efecto del crecimiento implícito en los datos multivariados se logra proyectando los puntos de datos sobre un espacio ortogonal al vector de crecimiento, que será el primer componente principal común (CPC1) derivado de un análisis de componentes principales comunes (ACPC). El resto de componentes son considerados aspectos significativos de la forma ó *variables de forma*, y se utilizaron como datos en un análisis discriminante. Los individuos fueron proyectados sobre los dos primeros factores discriminantes para examinar la posición de los grupos. Polígonos representando a los grupos se construyeron al unir con líneas los puntos de los individuos más externos de cada grupo. Los estadísticos Wilks' Lambda y Kappa se estimaron para estimar la significancia del análisis discriminante.

Para que este método pueda ser aplicado a un conjunto de variables se comprueba primero la compatibilidad con el modelo de los componentes principales comunes (Dujardin & Le Pont 2000), con una prueba Chi cuadrado (X^2) de bondad de ajuste. El Conjunto de 6 caracteres del ala para las hembras (ver tabla 3), no fue compatible con el modelo ($X^2 = 82.43$, $P = 0.0001$), por lo que se probaron diferentes combinaciones de los mismos caracteres, tomados de cinco en cinco; tres fueron compatibles, y de allí se

seleccionó el que proporcionaba mejor diferenciación de los grupos. Los caracteres de la cabeza en los machos tampoco siguieron el modelo de componentes principales comunes en ninguna combinación de variables, por lo que se aplicó el método de Mossiman (1970, citado por Dujardin 2000), para corregir el tamaño. Este método indica que la conformación C puede ser definida como:

$$C = X/T$$

donde X es un conjunto de distancias entre puntos, y T es una variable de tamaño global. Transformando esta ecuación en su logaritmo:

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

se obtienen *variables de conformación* ($\log C$) al restar las distancias ($\log X$) menos el tamaño ($\log T$). La variable de tamaño global utilizada aquí fue el promedio de todas las distancias medidas para un individuo (*tamaño isométrico*). Las variables de conformación deben luego ser sometidas a un análisis de componentes principales (ACP), debido a que al retirar el tamaño isométrico se pierde un grado de libertad (la suma de los valores de las variables de conformación para un individuo es cero). Los componentes principales que sí contribuyen a la variación (*componentes de conformación*) pueden ser utilizados como datos en un análisis discriminante (Dujardin 2000). Los individuos también pueden proyectarse sobre los dos primeros factores discriminantes y se construyen polígonos. Finalmente debe estimarse el residuo alométrico, lo cual se logra verificando *a posteriori* la independencia de las variables de conformación en relación a la variable de tamaño isométrico (Dujardin 2000).

Morfometría Geométrica

El grupo de Alta Verapaz fue excluido de estos análisis por su pequeño tamaño de muestra. Para el resto de grupos se seleccionaron seis puntos sobre la cabeza y seis puntos sobre el ala para efectuar los análisis (ver figura 1): (a) cabeza: 1, 3, 6, 7, 10, 12, (b) ala: 1, 2, 5, 6, 7, 9. El procedimiento geométrico perseguía particionar la conformación de las estructuras en los componentes uniformes y no uniformes (Rohlf *et al* 1996). Los componentes uniformes corresponden a los efectos del estiramiento o compresión de un objeto en un dirección particular. Los componentes no uniformes definen las direcciones de variación de la conformación relativas

a la energía de doblamiento, permitiendo la pérdida de paralelismos en el objeto (Rohlf *et al* 1996). Los componentes obtenidos utilizando el programa tpsRegr 1.22 (© Rohlf 2000), y después utilizados como datos en un análisis discriminante para estudiar las diferencias entre los grupos. Los individuos se proyectaron sobre los dos primeros factores discriminantes y se construyeron polígonos representando a los grupos y se hizo la estimación del residuo alométrico.

Para estudiar la manera en que las conformaciones cambian a lo largo de la función discriminante, se hizo una regresión de los componentes uniformes y no uniformes en la primera función discriminante. Se reporta el coeficiente y la probabilidad de esta regresión. Los cambios se ilustraron como representaciones pictóricas de deformaciones en rejillas.

Estudio de las Diferencias de Tamaño

Los análisis de morfometría tradicional y geométrica generaron variables que son representativas del tamaño "global" de los especímenes. Estas variables se utilizaron en comparaciones univariadas entre pares de grupos utilizando la prueba U de Mann Withney. Las variables utilizadas fueron el Componente Principal Común 1, el Tamaño Isométrico y el Tamaño Centroide. Para poder hacer comparaciones incluyendo al grupo de Alta Verapaz, se hicieron análisis de componentes principales sobre las variables medidas en la cabeza. El Componente Principal 1 resultó estar positiva y significativamente correlacionado con las variables medidas y por lo tanto podía ser considerado como un buen estimador del tamaño (dos Reis *et al* 1990). Se hizo un Análisis de Varianza y después de comprobar la existencia de las diferencias, se hicieron comparaciones por pares *post hoc* del tipo Bonferroni, para estudiar las diferencias por pares de grupos. Para ilustrar gráficamente las diferencias en tamaño, se hicieron gráficos Boxplot (SPSS for Windows Help Topics, SPSS Inc. 1999).

Estudio del Dimorfismo Sexual

Para estudiar el dimorfismo sexual se hicieron comparaciones univariadas entre pares de grupos para cada medición, utilizando el método no paramétrico

U de Mann Withney. Además, se hicieron análisis discriminantes basados en seis distancias medidas sobre la cabeza para analizar si era posible diferenciar a los grupos por su sexo al considerar todas estas variables en conjunto.

PROGRAMAS DE COMPUTADORA: además de los antes mencionados se utilizaron los paquetes NTSys pc 2.02 (Rohlf 1998); SPSS for Windows 10.1 (SPSS 1999).

RESULTADOS

Morfometría Tradicional

Análisis Univariado: Al comparar Agua Zarca y Santa Rosa de Lima se encontraron muy pocos caracteres que *no* presentan la misma distribución poblacional en ambos grupos: 5 de 44 caracteres para los machos y 3 de 42 caracteres para las hembras, lo que indica que prácticamente no existen diferencias métricas entre los insectos de estas localidades. Las diferencias métricas significativas entre Jutiapa y Alta Verapaz también son relativamente pocas: 10 de 44 para los machos y 13 de 42 para las hembras.

Por otro lado, las comparaciones Petén-Quiché, Petén-Santa Rosa de Lima, Quiché-Santa Rosa de Lima, Jutiapa-Petén, Alta Verapaz-Petén y Agua Zarca-Petén mostraron alta y media proporción de caracteres significativamente diferentes entre los grupos: en las hembras 39/42, 32/42, 39/42, 33/42, 28/42 y 27/42 respectivamente; en los machos 43/44, 39/44, 42/44, 42/44, 31/44 y 38/44 respectivamente. Esto indica una alta diferenciación métrica entre estas poblaciones.

Agua Zarca y Quiché presentan alta diferenciación métrica en los machos (40/44 caracteres) pero moderada en las hembras (23/42 caracteres). El resto de comparaciones muestran un grado de diferenciación intermedia entre los grupos. Es importante notar que el grupo de Petén presenta alta o moderada diferenciación métrica con todos los grupos.

Los perfiles de Guillaumin (Gráfica 1) ilustran las tendencias de los caracteres medidos. Para las alas solamente se graficaron aquellos caracteres utilizados

para los análisis multivariados. Estos perfiles permiten observar que el grupo de Petén siempre se ubica en los valores más bajos, lo que es un indicio de que los insectos de esta localidad tienen dimensiones corporales más pequeñas que el resto de los grupos. Las tendencias de los caracteres del grupo de Alta Verapaz son muy interesantes, ya que no siguen las mismas direcciones que para el resto de los grupos. Nótese cómo las variables cambian de dirección cuando para el resto de grupos permanecen constantes. En el caso de las hembras de Alta Verapaz, puede notarse que los caracteres presentan dimensiones más grandes que el resto de los grupos.

Las evaluaciones de las diferencias de variación resultó en lo siguiente:

- a) para los caracteres medidos en el ala, el grupo de Petén es en general más variable (en especial las hembras), seguido de Alta Verapaz;
- b) para los caracteres medidos en la cabeza, no se observan patrones de mayor o menor variación para un grupo en particular.

Análisis Multivariado:

En la Gráfica 2 se observa una diferenciación inequívoca del grupo de insectos silvestres de Alta Verapaz del resto de grupos, ya sea utilizando las mediciones de la cabeza ó ala, tanto para machos como para hembras. El grupo silvestre de Petén también se diferencia de los cuatro grupos domésticos, los cuales tienden a agruparse. Es importante notar que los polígonos de los grupos Petén y Quiché nunca se traslapan.

En las Gráficas 3 y 4 se ha excluido a Alta Verapaz de los análisis y se efectuó la corrección del tamaño como se explicó en los métodos. Se observa que los conjuntos de variables del ala (Gráfica 3) no producen una diferenciación de los grupos, aunque existe cierta tendencia del grupo de Petén a diferenciarse, pero solamente para los machos. Se mantiene la tendencia de los grupos Petén y Quiché de no traslaparse.

En la Gráfica 4 se observa que la separación de los grupos generada por el análisis discriminante sobre las mediciones de la cabeza, después de la corrección del tamaño, sí provoca una diferenciación inequívoca

del grupo de insectos silvestres del Petén, tanto para machos como para hembras. Los cuatro grupos domésticos se traslapan, lo cual indica que presentan una misma forma.

Los estadísticos de la Tabla 4 muestran que la separación de los grupos (Gráficas 2 y 4), es significativa (Wilks' Lambda ≈ 0 , sig. < 0.05) y que la reclasificación generada es sustancial o moderadamente diferente a una reclasificación producida al azar (Kappa entre 0.48†- 0.67, sig. < 0.05). Además, los factores discriminantes representan muy bien la variación intra grupo ($> 80\%$).

Morfometría Geométrica

En la Gráfica 5 se observa que la conformación alar no permite discriminar los cinco grupos estudiados, ya que los polígonos que representan a los grupos se traslapan. Por otro lado, la conformación de la cabeza separa el grupo de insectos silvestres de Petén de los insectos domésticos.

Los estadísticos de la Tabla 5 indican que la discriminación de los grupos en base a la conformación de la cabeza es bastante buena (Wilks' Lambda ≈ 0.2 , sig. < 0.05), con una reclasificación moderada (Kappa 0.46†- 0.50, sig. < 0.05). Además los factores discriminantes 1 y 2 representan $> 80\%$ de la variación intragrupo. Sin embargo, el residuo alométrico es elevado ($\approx 50\%$), lo que indica una significativa contribución del tamaño en la discriminación observada.

Para describir como la cabeza en Petén es diferente, se hizo una regresión de los componentes uniformes y no uniformes de la conformación en el factor discriminante 1. Los resultados se muestran en las Gráficas 6 y 7. Es necesario aclarar que las rejillas (Gráficas 6 y 7) están representando la silueta de la cabeza, de la manera en que se presenta en la figura 2.

Las desviaciones en las rejillas permiten visualizar que en el extremo positivo del factor discriminante 1 (donde se ubica el grupo de Petén), las distancias entre la curvatura externa del ojo y el clípeo (es decir, entre

los puntos 2 y 3, 5 y 4) y las distancias entre la curvatura externa del ojo y el ocelo (entre los puntos 2 y 1, 5 y 6) son **cortas**, mientras que en el extremo negativo del factor discriminante 1 (donde se ubica el grupo de los domésticos), estas distancias son más **largas**. Además, la distancia externa entre los ojos (entre los puntos 2 y 5) es ligeramente mayor en el extremo positivo del factor discriminante 1, que en el extremo negativo. Se evidencia que los componentes uniformes de la conformación son más importantes en la diferenciación de los grupos ya que uno de ellos (UniY), muestra una correlación alta y significativa con el factor discriminante 1, lo que significa que los grupos se diferencian más en la dirección de estiramiento-encogimiento de la estructura (cabeza). Esto es cierto tanto para machos como para hembras.

Estudio de las Diferencias de Tamaño

El grupo de Petén presenta valores menores en las variables de tamaño, en comparación con el resto de los grupos, ya sea en ala o cabeza. Las comparaciones univariadas de las variables de tamaño, mostraron que el grupo de Petén presenta un tamaño significativamente diferente del resto de los grupos. Los grupos Agua Zarca y Santa Rosa de Lima prácticamente no presentan diferencias de tamaño.

Estudio del Dimorfismo Sexual

Las comparaciones univariadas para evaluar el dimorfismo sexual dentro de los grupos mostraron que el grupo de Petén es el que presenta mayor dimorfismo sexual ya que 23 de las 42 comparaciones fueron significativamente diferentes entre machos y hembras. Para el resto de los grupos las diferencias entre sexos en comparaciones univariadas son muy bajas. Las comparaciones multivariadas utilizando análisis discriminante mostraron que el grupo de Petén sí presenta un alto dimorfismo sexual de la cabeza y también se observa dimorfismo sexual en el grupo de Alta Verapaz (Wilks' Lambda = 0.027, Sig. < 0.05). Por otro lado, en los grupos domésticos se observa que en Jutiapa, Agua Zarca y Quiché, prácticamente no hay dimorfismo de los sexos. El grupo de Santa Rosa de Lima evidencian cierto grado de separación en sus polígonos (Wilks' Lambda = 0.306 y 0.356, Sig. < 0.05).

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los métodos de morfometría tradicional y geométrica demostraron diferenciación intra especie (de tamaño y forma) en *Triatoma dimidiata*. Lent & Jurberg (1985) habían demostrado previamente, con métodos taxonómicos convencionales la variación en coloración y tamaño de *T. dimidiata*, utilizando solamente algunos individuos.

En el presente estudio se separaron claramente tres grupos: (1) insectos domésticos; (2) insectos de la selva del Petén; (3) insectos de cuevas en Alta Verapaz.

Entre los insectos domésticos, los análisis univariados revelaron que los menos disímiles son Agua Zarca y Santa Rosa de Lima, lo cual es congruente con el hecho de que son los más cercanos geográficamente (60 kms. aprox.) y se desarrollan en ambientes similares. El grupo de Quiché se diferencia un poco del resto de los domésticos por presentar mayor tamaño en el ala; esto puede deberse a que este grupo se desarrolla en ambientes más fríos (12°C prom. anual) que el resto de grupos provenientes del sur del país (22°C prom. anual) lo cual va de acuerdo a la Regla de Bergman (Daly 1985; Jaramillo 2000). Sin embargo no se descarta un trasfondo genético en las diferencias de tamaño.

Los insectos silvestres de Alta Verapaz presentan grandes diferencias del resto de grupos, las que hacen dudar de su estatus taxonómico. En primer lugar, los perfiles de Guillaumin muestran tendencias en sus variables que no concuerdan con lo esperado para una misma especie; de acuerdo a Dujardin & Le Pont (2000), en poblaciones conoespecíficas, se espera que las variaciones sean más o menos paralelas cerca del nivel cero. Esto ocurre para los grupos domésticos y en cierto grado para Petén, pero no para Alta Verapaz. Por otro lado, los análisis multivariados muestran su diferenciación en forma tanto para el ala como para la cabeza. Análisis similares a este, aplicados a otros grupos, han permitido describir nuevas especies. Por esto, es necesario evaluar a este grupo con técnicas adicionales para aclarar su posición taxonómica.

El grupo silvestre del Petén presenta una serie de

características que lo diferencian: (1) mayor variación fenotípica; (2) diferencias de la forma y conformación de la cabeza; (3) menor tamaño y (4) mayor dimorfismo sexual. La mayor variación fenotípica y dimorfismo sexual podrían estar asociados a que este grupo se desarrolla en ambientes muy inestables (selva). Las diferencias de forma y conformación podrían estar evidenciando diferencias genéticas, y por lo tanto, ausencia de flujo genético entre esta población y los grupos domésticos. El hecho de que presentan un menor tamaño no va de acuerdo a la teoría de Schofield (1996, citado en Dujardin *et al* 1999a), la cual dice que los insectos silvestres presentarán en promedio y mayor tamaño que los domésticos, ya que estos últimos viven en ambientes más estables y por lo tanto más insectos pequeños sobreviven. Entonces es más probable que el menor tamaño en este grupo se deba a que estos insectos se desarrollan en ambientes más cálidos (25°C prom. anual), de acuerdo con la regla de Bergman.

Las diferencias en forma y conformación de la cabeza de Petén respecto a los grupos domésticos se observaron tanto con morfometría tradicional como geométrica. Adicionalmente, la morfometría geométrica permitió describir que los insectos del Petén tiene una cabeza más pequeña, corta y ancha que los insectos domésticos.

Los métodos de corrección del tamaño buscan revelar patrones de diferenciación más relacionados con el trasfondo genético (Dujardin 2000; Jaramillo 2000). De acuerdo a estos métodos, los grupos domésticos conforman una sola población continua: un conjunto de subpoblaciones que ocupan cada una de las viviendas de un asentamiento humano (si no existiera transporte activo o pasivo capaz de transportar a un organismo colonizador a un poblado diferente) o por el conjunto de subpoblaciones que viven en poblados conectados por vías de dispersión activa/pasiva de los organismos; el término para esta estructura es metapoblación (Gorla 1999).

Los insectos silvestres aparentemente no forman parte de esta metapoblación, ya que las diferencias de forma y conformación podrían interpretarse como diferencias genéticas; es decir, que hay aislamiento genético entre grupos silvestres y domésticos.

Es evidente que la adaptación a diferentes ambientes es la que provoca la diferenciación morfológica y el aislamiento entre los tres grupos identificados. De acuerdo a Dujardin *et al* (1999b), la adaptación a diferentes ambientes (presión ecológica) es el principal mecanismo que dirige la especiación en la subfamilia Triatominae. Además, en diferentes ambientes actúan diferentes mecanismos evolutivos (Darwinianos y/o no Darwinianos), por lo que los grupos pueden seguir diferentes destinos evolutivos, y llegar a constituir "especies ecológicas", especies que presentan consistentes diferencias morfológicas que surgen a través de la adaptación ecológica divergente (Dujardin *et al* 2000b; Dujardin *et al* 1999b).

En esta investigación también se exploraron las diferencias entre machos y hembras, ya que un bajo dimorfismo sexual ha sido sugerido como un indicador de domesticación, de simplificación genética (Dujardin *et al* 1999a; Schofield *et al* 1999). Los resultados fueron como se esperaba: alto dimorfismo en el grupo del Petén que viven en ambientes inestables; el grupo de Alta Verapaz con un dimorfismo sexual existente pero no tan pronunciado, ya que vive en un ambiente silvestre pero no tan inestable (cuevas); y por último, bajo dimorfismo en los insectos domésticos.

Implicaciones en las estrategias de control y vigilancia de la enfermedad de Chagas en Guatemala

Los insectos domésticos parecen haber pasado por procesos de simplificación genética, lo que se evidencia en la convergencia morfológica y bajo dimorfismo sexual (Schofield *et al* 1999). Esta simplificación haría a estos grupos más susceptibles a los insecticidas.

Además, es necesario estudiar a los grupos domésticos bajo el enfoque de metapoblaciones para descubrir los patrones dispersivos que conectan a las diferentes subpoblaciones. Esto permitiría resolver preguntas claves para el diseño de estrategias de control. Por ejemplo, sería importante verificar los ambientes con mayor índice de natalidad e inmigración, ya que pueden ser los potenciales focos

de origen para reinfestaciones.

La detección de poblaciones posiblemente aisladas en ambientes silvestres implica que debe mantenerse una vigilancia sobre ellas, ya que en otras regiones se ha observado que triatomíneos considerados exclusivamente silvestres, han invadido ambientes domésticos y peridomésticos (Schofield *et al* 1999).

Esto es particularmente importante para el grupo del Petén. La positividad para *T. cruzi* en este grupo es de 30.7% (8 de 26 insectos examinados) (datos no publicados). Las Selvas Tropicales Lluviosas, donde este grupo habita, son comunidades biológicas que se encuentran fragmentadas por la colonización humana (Villar 1997). El departamento del Petén presenta la más alta tasa de inmigración calculada en base a la población nativa (51.66%) con la mayoría de los inmigrantes provenientes de las regiones centrales (Alta Verapaz) y orientales (Jutiapa, Chiquimula, Zacapa) del país (Diagnóstico de los Recursos Naturales y Ambiente 1992). Estas dos

regiones han sido identificadas como de alto riesgo para la enfermedad de Chagas (Tabaru *et al* 1999), y presentan una seroprevalencia aproximada del 10% (De León 1997), por lo que la inmigración puede representar la importación de casos de Chagas humanos. Además, la tasa de crecimiento poblacional en el Petén es la más alta del país (5.2% mientras que el total nacional es de 2.92%), aunque con baja densidad poblacional -9.8 personas/km²- (Marroquín 1994). La presencia de reservorios silvestres en las selvas y de reservorios animales asociados al humano, completa el complejo cuadro de la enfermedad de Chagas, que esta región podría presentar en el futuro.

El Petén no ha sido considerado como área de riesgo (Tabaru *et al* 1999) y se desconoce el grado de serología positiva en la región, sin embargo debe tenerse en consideración, ya que la invasión de los ambientes selváticos por el hombre aumenta las posibilidades de contacto con el insecto vector, el cual podría ingresar a las viviendas y utilizar al humano como fuente de alimento.

FIGURAS Y TABLAS

Tabla 1.

Tamaños de las muestras para *T. dimidiata* en las localidades estudiadas.

SITIO DE COLECTA	LOCALIDAD	MACHOS		HEMBRAS	
		Ala	Cabeza	Ala	Cabeza
Viviendas humanas	Aldea Agua Zarca, Santa María Ixhutatán, Santa Rosa (AZ)	23	24	23	23
Viviendas humanas	Aldeas Carrizal, Quebrada Seca y A zulco, Jutiapa y Jalpatagua, Jutiapa (JUT)	25	24	24	21
Cuevas en la roca caliza	"Monumento Natural Grutas de Lanquin", Lanquin, Alta Verapaz (AV)	5	7	7	6
Dentro de chultunes (cuevas construidas por los mayas), entre pilas de rocas ó palmeras.	Sitio Arqueológico Yaxhá, Melchor de Mencos, Petén (PET)	26	25	28	26
Viviendas humanas	Varias aldeas, sur del Quiché (QUI)	25	23	25	20
Viviendas humanas	Aldeas Primera Sabana, El Salitre y Sabanentas, Santa Rosa de Lima, Santa Rosa (SRL)	31	30	23	24
TOTAL		135	133	130	120

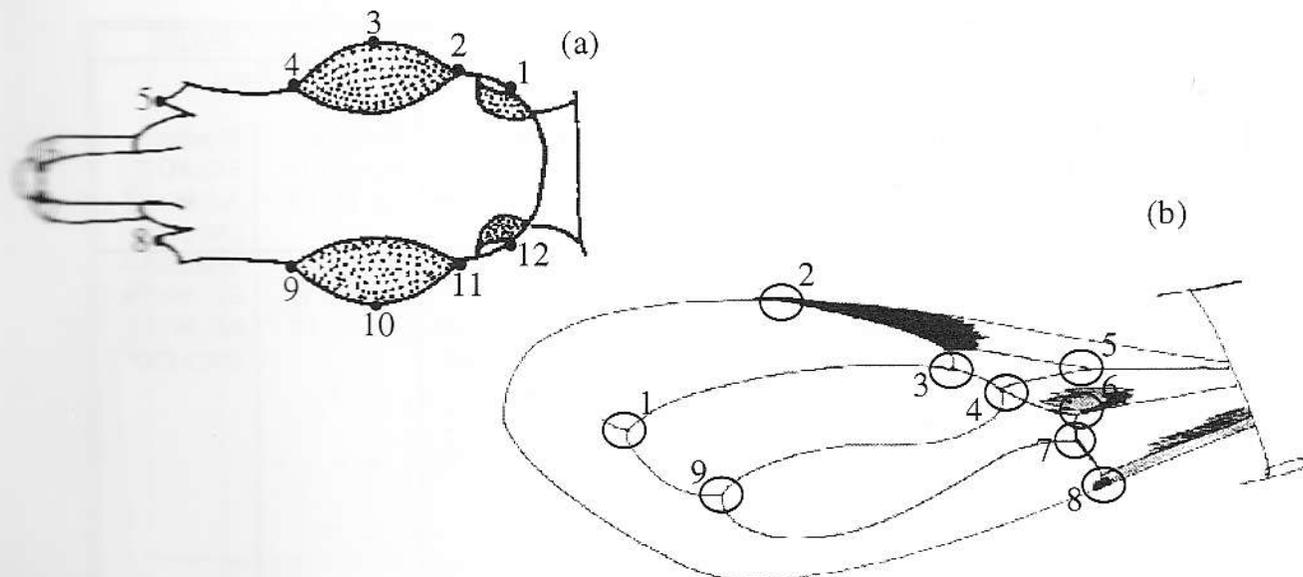


Figura 1. (a) Esquema de la ubicación de los puntos considerados en la cabeza de *T. dimidiata* (vista dorsal). (b) Esquema de los puntos en el hemelitron izquierdo de *T. dimidiata*.

Tabla 2.

Distancia entre puntos obtenidas utilizando el Teorema de Pitágoras. Los puntos se observan en la Figura 1.

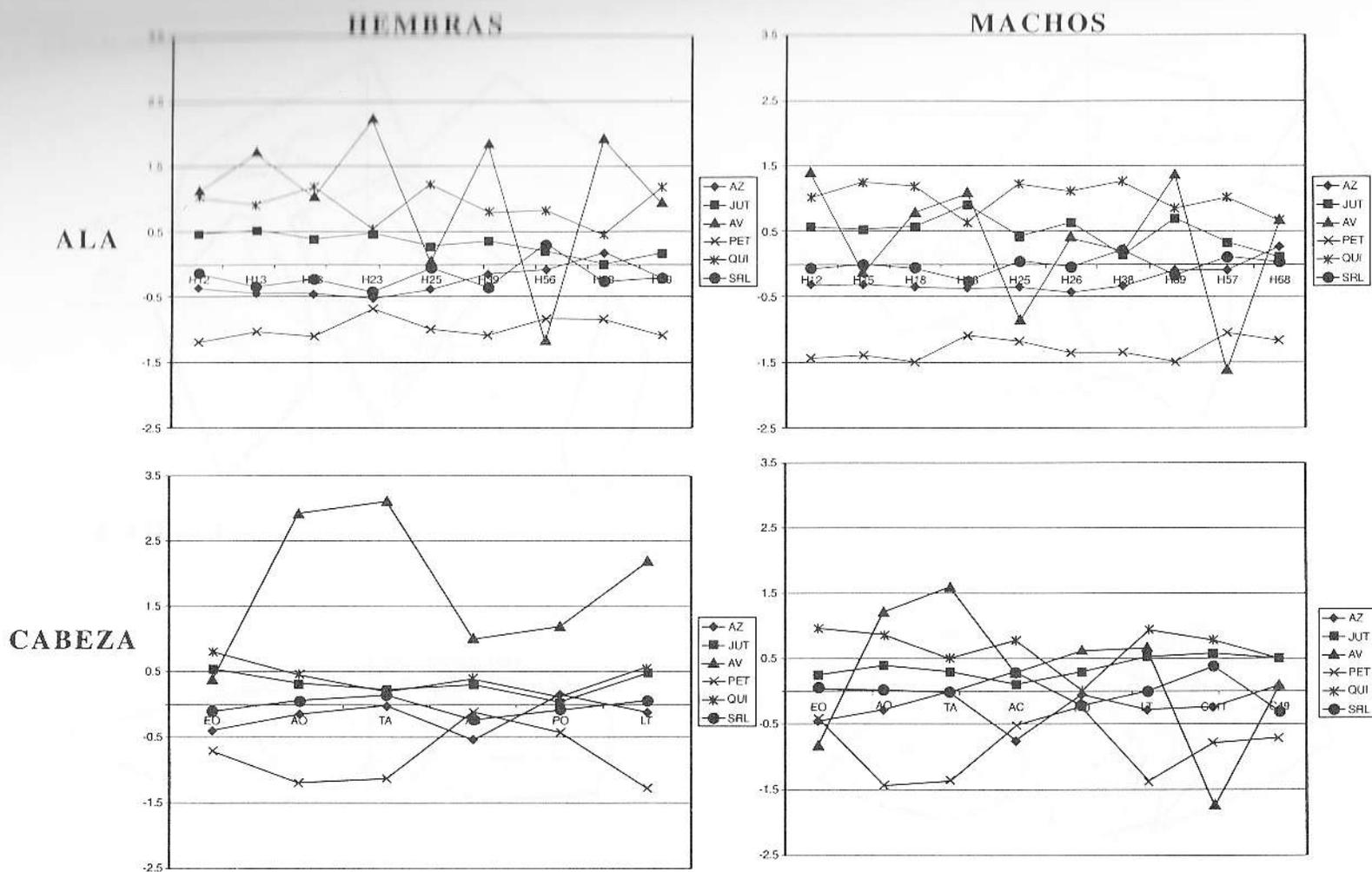
ALA 36 CARACTERES	CABEZA 8 CARACTERES	
36 distancias nombradas de la siguiente manera: H significa hemelitrón y los números representan los puntos entre los cuales se obtuvo la distancia. H12, H13, H14, H15, H16, H17, H18, H19, H23, H24, H25, H26, H27, H28, H29, H34, H35, H36, H37, H38, H39, H45, H46, H47, H48, H49, H56, H57, H58, H59, H67, H68, H69, H78, H79, H89.	LT (Largo total)	distancia entre el punto medio de 1-12 al punto medio de 6-7
	AC (Ancho del clipeo)	distancia entre 6 y 7
	PO (Distancia post ocular)	distancia entre 1 y 2
	TA (Largo tubérculo antenífero)	distancia entre 4 y 5
	AO (Distancia ante ocular)	distancia entre 4 y 6
	EO (Distancia externa entre los ojos)	distancia entre 3 y 10
	C49*	distancia entre 4 y 9
	C911*	distancia entre 9 y 11
	* sólo se midieron en los machos	

Tabla 3.

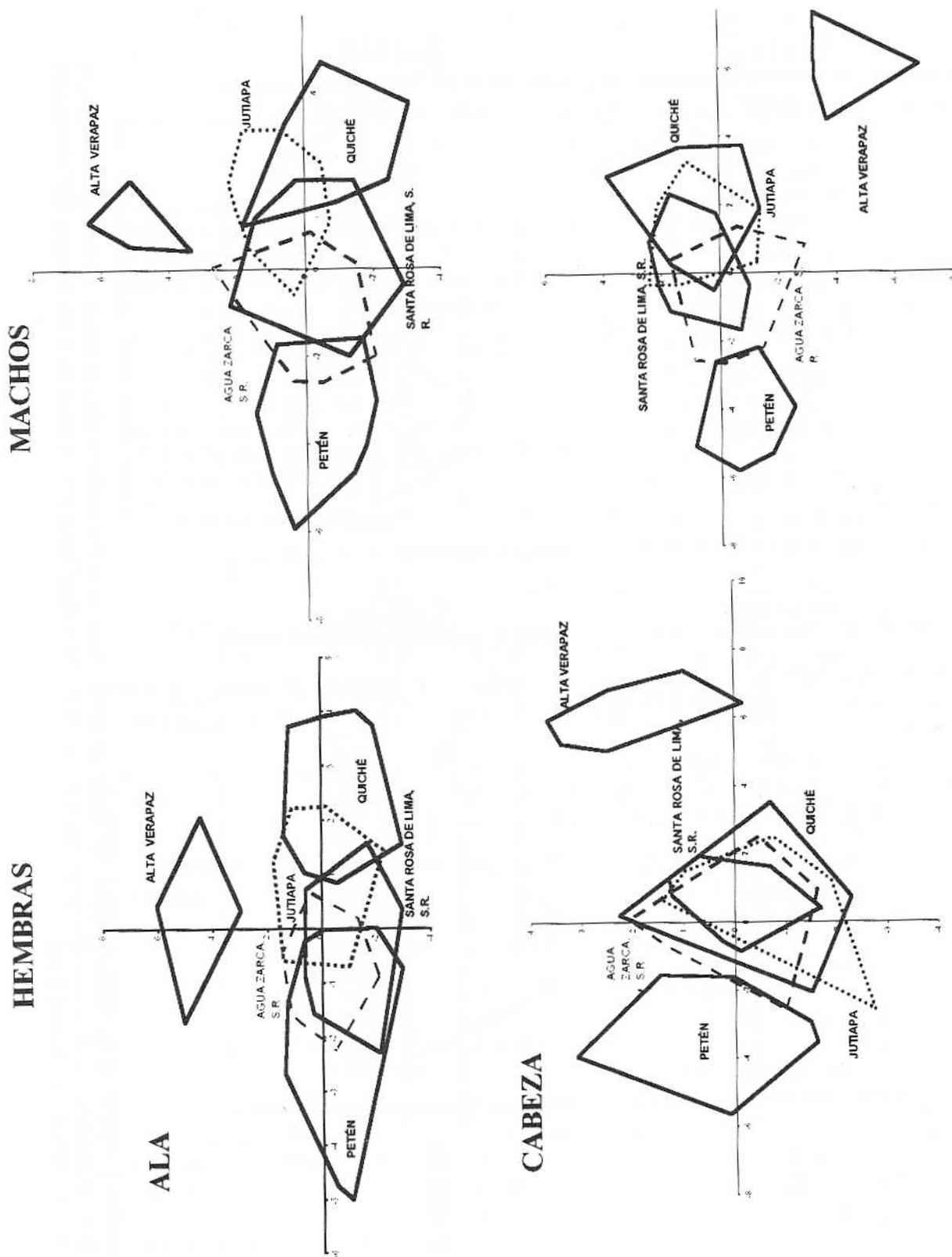
Esta tabla muestra los conjuntos de variables utilizados en los análisis multivariados y las comparaciones efectuadas. Para una descripción de las variables o caracteres, ver Tabla 2.

GRUPOS COMPARADOS	ANÁLISIS	CONJUNTOS DE VARIABLES O CARACTERES			
		Ala		Cabeza	
AZ, JUT, AV, PET, QUI, SRL	análisis discriminante	Hembras H12 H18 H23 H39 H57 H68	Machos H12 H18 H23 H39 H57 H68	Hembras EO AO TA AC PO LT	Machos EO AO TA AC PO LT C911 C49
AZ, JUT, PET, QUI, SRL	análisis discriminante después de la corrección del tamaño utilizando el método de Klingenberg (1996) ó Mossiman (1970)	Hembras Conjunto 1: H12 H18 H23 [H39] H57 H68 Conjunto 2: H12 H13 H25 H56 H68 H89	Machos Conjunto 1: H12 H18 H23 H39 H57 H68 Conjunto 2: H15 H18 H25 H26 H38 H57	Hembras EO AO TA AC PO LT	Machos* EO AO TA AC PO LT C911 C49

- AZ = Agua Zarca, Santa Rosa; JUT = Jutiapa; AV = Alta Verapaz; PET = Petén; QUI = Quiché; SRL = Santa Rosa de Lima, Santa Rosa. * Para este análisis no se pudo hacer la corrección del tamaño por el método de Klingenberg (1996) y se utilizó el de Mossiman (1970, citado por Dujardin 2000). [] variable excluida.

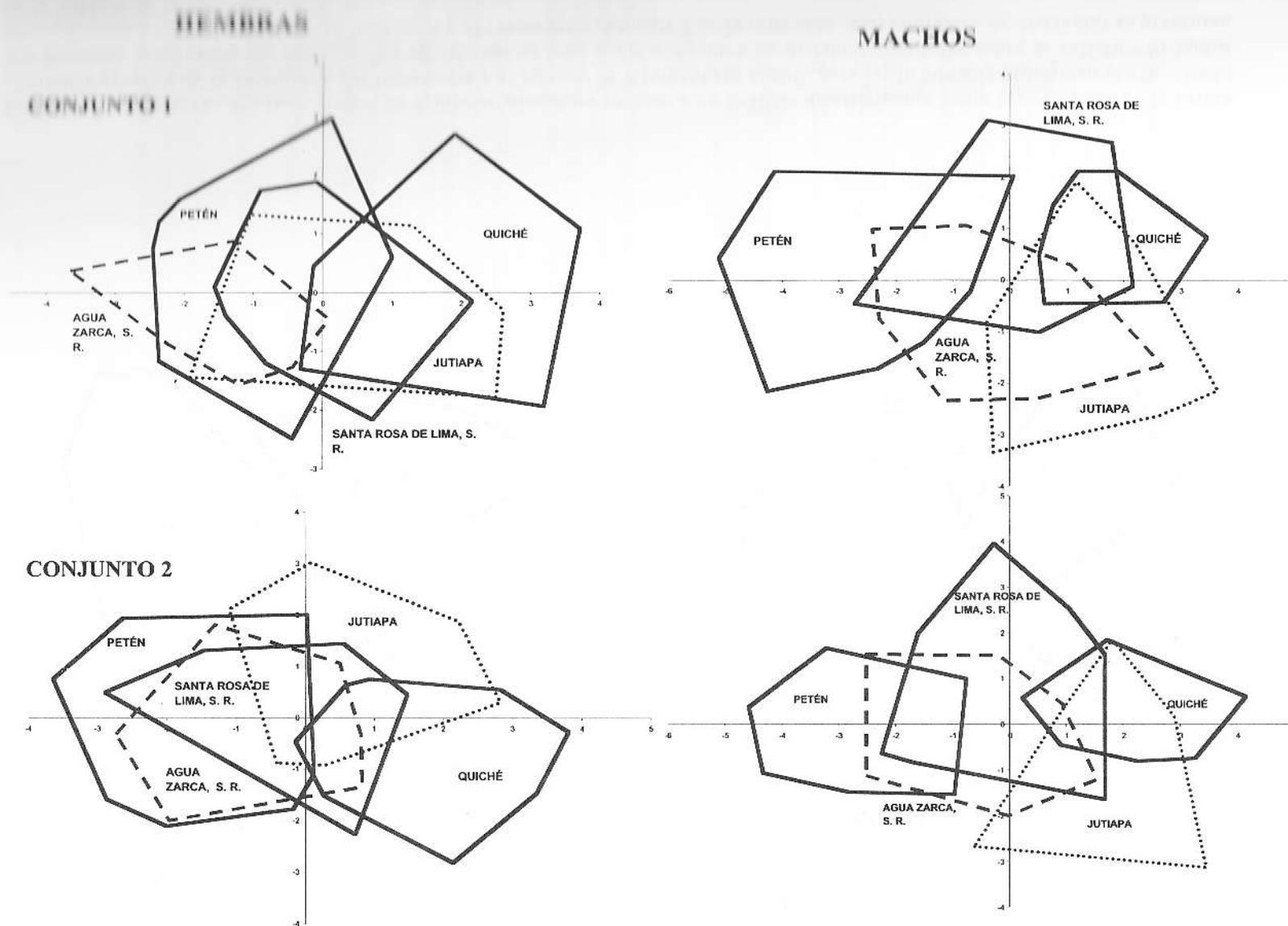


Gráfica 1. Perfiles de Guillaumin ilustrando las tendencias de los caracteres medidos sobre el ala y la cabeza. Se ilustran seis grupos de *Triatoma dimidiata*. En el eje de la abscisa se colocan los caracteres. AZ = Agua Zarca; JUT = Jutiapa; AV = Alta Verapaz; PET = Petén; QUI = Quiché; SRL = Santa Rosa de Lima.

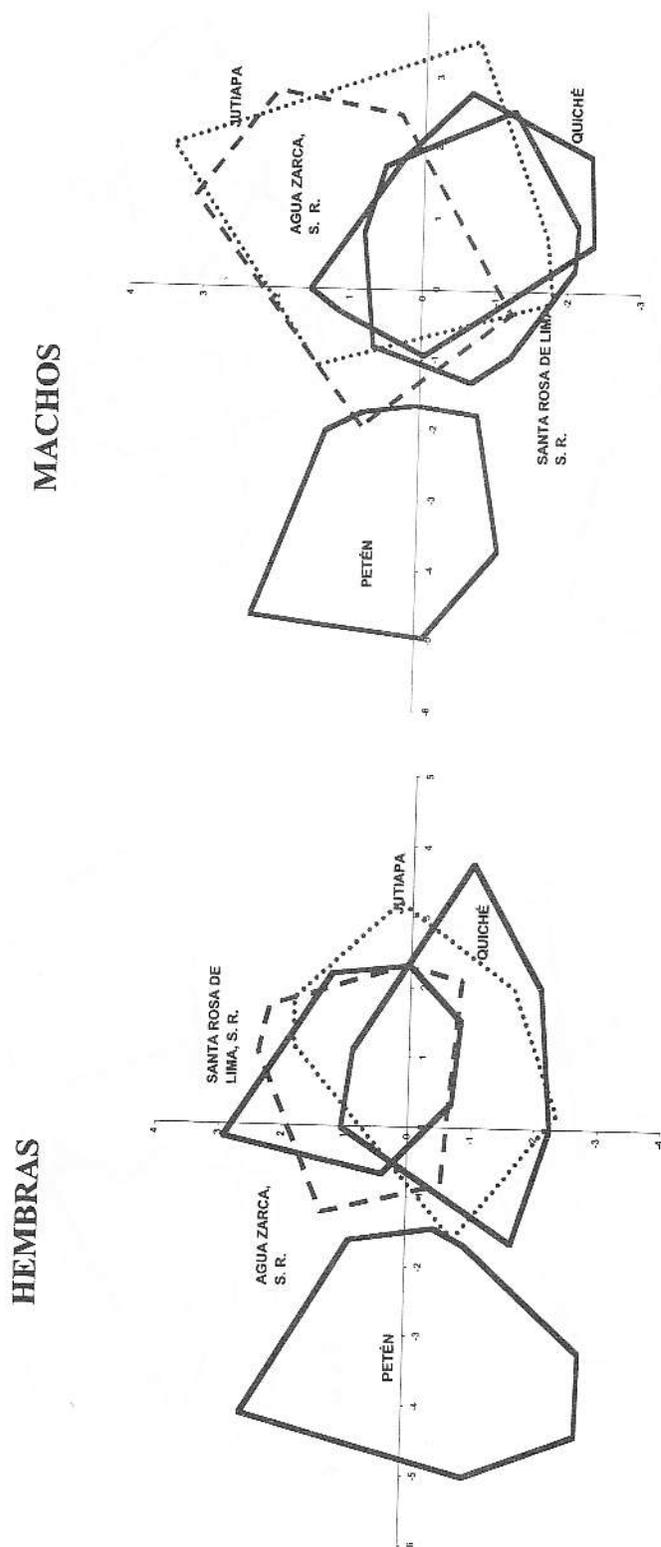


Gráfica 2. Separación de seis grupos de *Triatoma dimidiata* en base a un análisis discriminante sobre conjuntos de distancias medidas sobre el ala (*hemelitrón* izquierdo) y la cabeza. El factor discriminante 1 está representado en la abscisa y el factor discriminante 2 en la ordenada. Los conjuntos de variables se describen en la Tabla 2.

Gráfica 2. Separación de los grupos de *Triatoma dimidiata* en base a un análisis discriminante sobre conjuntos de distancias medidas sobre el ala (*hemelitrón* izquierdo) y la cabeza. El factor discriminante 1 está representado en la abscisa y el factor discriminante 2 en la ordenada. Los conjuntos de variables se describen en la Tabla 2.



Gráfica 3. Separación de cinco grupos de *Triatoma dimidiata* en base a un análisis discriminante sobre las variables de la forma, obtenidas después de la corrección del tamaño por el método de Klingenberg (1996), en conjuntos de variables medidas sobre el ala (*hemelitrón* izquierdo). El factor discriminante 1 está representado en la abscisa y el factor discriminante 2 en la ordenada. Los conjuntos de variables se describen en la Tabla 2.



Gráfica 4. Separación de cinco grupos de *Triatoma dimidiata* en base a un análisis discriminante sobre las variables de la forma obtenidas después de la corrección del tamaño (por el método de Klingenberg (1996) para las hembras y Mossiman (1970, citado por Dujardin 2000) para los machos. La corrección se hizo sobre conjuntos de distancias medidas sobre la cabeza. El factor discriminante 1 está representado en la abscisa y el factor discriminante 2 en la ordenada. Los conjuntos de distancias se presentan en la Tabla 2.

Tabla 4.

Estadísticos de los análisis discriminantes de las Gráficas 2, 3 y 4.

	GRAFICA 2				GRÁFICA 3				GRÁFICA 4	
	HEMBRAS		MACHOS		HEMBRAS		MACHOS		HEMBRAS	MACHOS
	Ala	Cabeza	Ala	Cabeza	Conjunto1 Ala	Conjunto2 Ala	Conjunto1 Ala	Conjunto2 Ala	Cabeza	Cabeza
X ²	-	-	-	-	46.0106	77.5422	47.0375	69.6061	71.8822	-
P	-	-	-	-	0.23738	0.06338	0.8886	0.18561	0.1400	-
Wilks' Lambda	0.0747	0.0843	0.0523	0.0233	0.3536	0.2232	0.1732	0.2067	0.1766	0.1680
Sig. Lambda	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Kappa	0.6050	0.5100	0.6732	0.6746	0.4814	0.5014	0.6241	0.6440	0.4847	0.5234
Sig. Kappa	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
R ² (residuo)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2870 (28.7%)
%FD1	52.3974	85.1007	71.5230	68.3335	81.7457	66.4768	80.2534	71.8796	87.4354	78.5215
%FD2	32.4147	8.1430	20.7869	21.8623	12.8820	15.9258	14.7348	24.8421	11.2934	16.6317

Para los análisis en que se hizo una corrección del tamaño utilizando el método de Klingenberg (1996), se presenta la prueba de homogeneidad de X², que estima la concordancia de los datos con el modelo de los componentes principales comunes con (k-1)p(p-1)/2 grados de libertad, donde k = número de especímenes y p = número de grupos. Valores de P ≤ 0.05 rechazan la hipótesis nula de que los datos siguen el modelo.

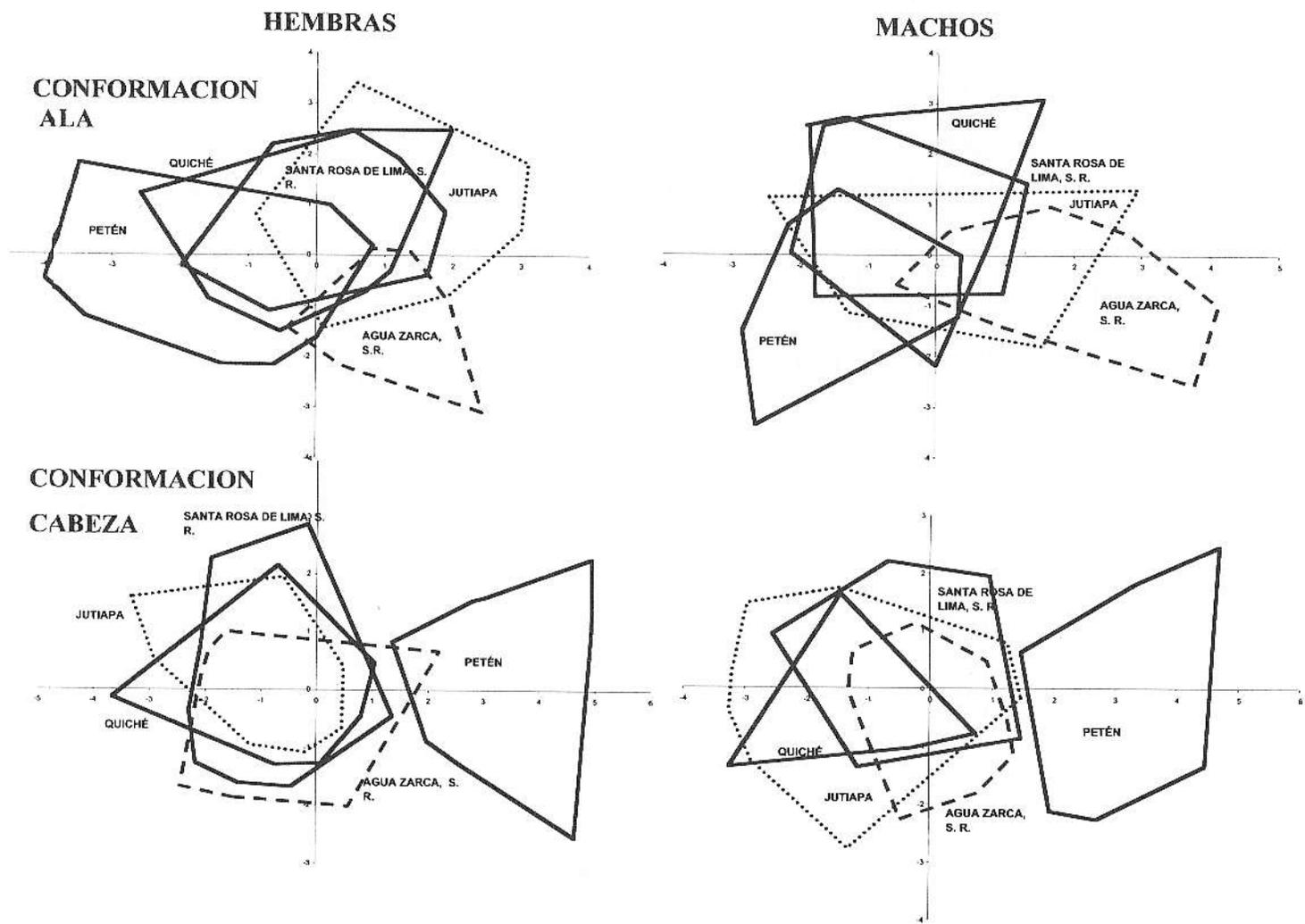
El Wilks' Lambda proporciona una prueba para la hipótesis de que las medias (centroides) de los grupos, producidos en el análisis discriminante, son iguales. Lambda tendrá valores entre 0 y 1, valores pequeños indican fuertes diferencias entre grupos, valores cercanos a 1, indican que no hay diferencias (SPSS ® Base 10.0 Applications Guide 1999).

El Kappa proporciona una medición del acuerdo entre la clasificación original de los insectos en grupos, y la reclasificación producida por el análisis discriminante. Tendrá valores entre 0 y 1. Valores entre 0 y 0.20 indican una concordancia leve (cercana al azar); entre 0.21 y 0.40, regular; entre 0.41 y 0.60, moderada; entre 0.61 y 0.80, sustancial, y mayor de 0.80, casi perfecta (Landis y Koch 1977, citado por Pinto Soares *et al* 1999).

%FD1 y %FD2 indican el porcentaje de variación intragrupo que representan los factores discriminantes 1 y 2.

R² indica el resultado de la regresión del factor discriminante 1 en el Tamaño Isométrico, para calcular el residuo isométrico de la corrección del tamaño por el método de Mossiman que se hizo para los caracteres medidos sobre la cabeza en los machos.

por Dujardin 2000) para los machos. La corrección se hizo sobre conjuntos de distancias medidas sobre la cabeza. El factor discriminante 1 está representado en la abscisa y el factor discriminante 2 en la ordenada. Los conjuntos de distancias se presentan en la Tabla 2.



Gráfica 5. Separación de cinco grupos de *Triatoma dimidiata* en base a un análisis discriminante sobre los componentes uniformes y no uniformes de la conformación obtenidos de acuerdo al método de Rohlf *et al* (1996). El factor discriminante 1 está representado en la abscisa y el factor discriminante 2 en la ordenada.

Tabla 10.

Estadísticos de los análisis discriminantes de la Gráfica 5.

	HEMBRAS		MACHOS	
	Ala	Cabeza	Ala	Cabeza
Wilks' Lambda	0.1912	0.2266	0.3180	0.2044
Sig. Lambda	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Kappa	0.5628	0.4613	0.4042	0.5094
Sig. Kappa	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
R ² (residuo)	0.0653 (6.53%)	0.4846 (48.5%)	0.0360 (3.60%)	0.5302 (53.0%)
%FD1	61.6438	91.3852	60.1165	89.3693
%FD2	21.0171	4.4116	25.3122	7.1924

El Wilks' Lambda proporciona una prueba para la hipótesis de que las medias (centroides) de los grupos, producidos en el análisis discriminante, son iguales. Lambda tendrá valores entre 0 y 1, valores pequeños indican fuertes diferencias entre grupos, valores cercanos a 1, indican que no hay diferencias (SPSS 8 Base 10.0 Applications Guide 1999).

El Kappa proporciona una medición del acuerdo entre la clasificación original de los insectos en grupos, y la reclasificación producida por el análisis discriminante. Tendrá valores entre 0 y 1. Valores

entre 0 y 0.20 indican una concordancia leve (cercana al azar); entre 0.21 y 0.40, regular; entre 0.41 y 0.60, moderada; entre 0.61 y 0.80, sustancial, y mayor de 0.80, casi perfecta (Landis y Koch 1977, citado por Pinto Soares et al 1999).

%FD1 y %FD2 indican el porcentaje de variación intragrupo que representan los factores discriminantes 1 y 2, y R² indica el resultado de la regresión del factor discriminante 1 en el Tamaño Centoide, para calcular el residuo alométrico.

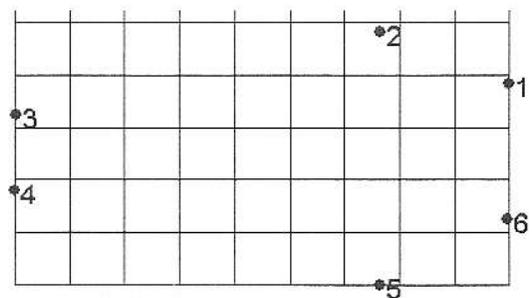
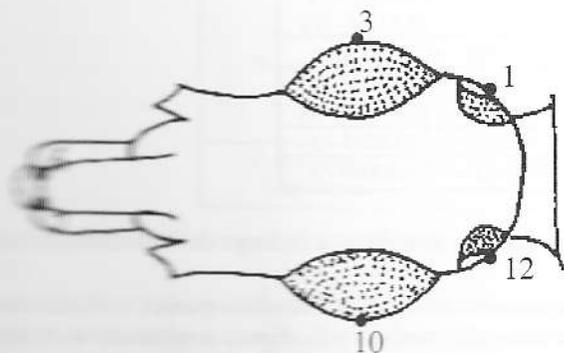
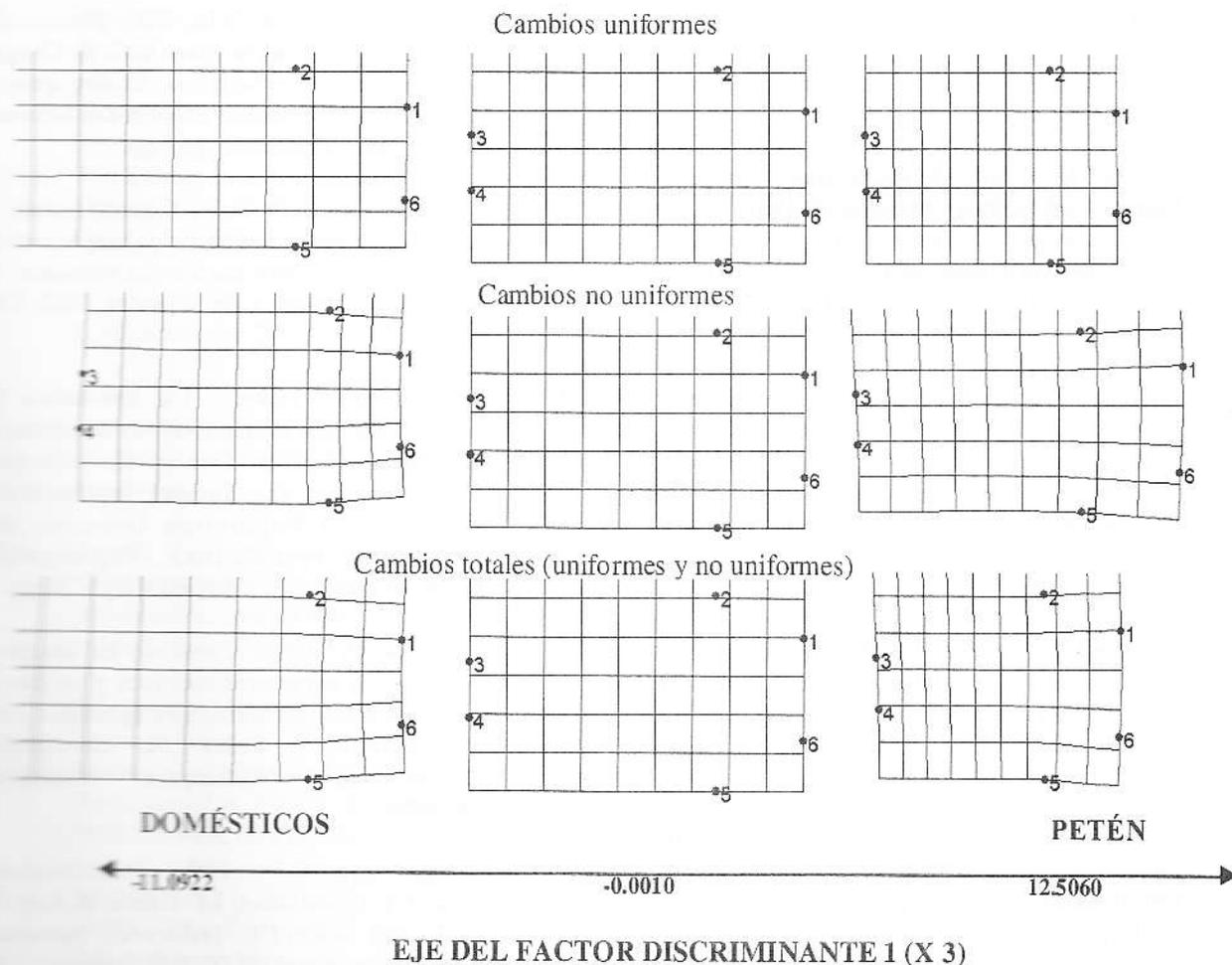


Figura 7. Similugra de cómo las rejillas representan el perfil de la cabeza, a partir de los puntos seleccionados.

Gráfica 5. Separación de cinco grupos de *Tritatoma dimidiata* en base a un análisis discriminante sobre los componentes uniformes y no uniformes de la conformación obtenidos de acuerdo al método de Rohlf *et al* (1996). El factor discriminante 1 está representado en la abscisa y el factor discriminante 2 en la ordenada.



		R ²	P
Componentes No uniformes	1X	0.0004	0.81860 - NS
	1Y	0.0543	0.00889 - S
	2X	0.0438	0.01915 - S
	2Y	0.0928	0.00055 - S
	3X	0.1108	0.00015 - S
Componentes Uniformes	3Y	0.0021	0.61321 - NS
	UniX	0.0035	0.51015 - NS
	UniY	0.7530	0.00000 - S

Figura 7. Cambio de la conformación de la cabeza de *T. dimidiata* machos a lo largo del factor discriminante 1 (X3).
 Los cambios de conformación son mostrados como deformaciones de rejillas. En cada panel, la figura derecha muestra la desviación negativa, la figura central la conformación media, y la figura izquierda la desviación positiva. Las magnitudes de las deformaciones han sido exageradas en un factor de 3 para hacerlas más visibles.
 Los datos se presentan los coeficientes de regresión (R²) de los componentes en el FDI y la significancia de la regresión (P: S = Significativo, NS = No significativo).

REFERENCIAS

1. Daly, H. 1985. Insect Morphometrics. *Ann. Rev. Entomol.* 30: 415-438.
2. Daniel, W. 1998. Bioestadística. Trad. F. León. 3 ed. Uthea. México. 878 pp.
3. De León Granados, M.P. 1997. Estudio clínico, serológico y epidemiológico de la Enfermedad de Chagas en Santa María Ixhuatán, Santa Rosa. Tesis Químico Biólogo. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
4. Diagnóstico de los Recursos Naturales y Ambiente. 1992. USAC-DIGI-PUIRNA. Guatemala. 334 pp.
5. Dos Reis, S. Pessóá, L. Strauss, R. 1990. Application of size-free canonical discriminant analysis to studies of geographic differentiation. *Rev. Brasil. Genet.* 13(3): 509-520.
6. Dujardin, J.P. 2000. Introducción a la morfometría. (Con énfasis en Triatominae y Phlebotominae). No publicado. La Paz, Bolivia.
7. Dujardin, J.P. Steindel, M. Chavez, T. Machane, M. Schofield, C.J. 1999c. Changes in the sexual dimorphism of Triatominae in the transition from natural to artificial habitats. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 94(4): 565-569.
8. Dujardin, J.P. Panzera, F. Schofield, C.J. 1999d. Triatominae as a Model of Morphological Plasticity under Ecological Pressure. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 94, Suppl. I: 223-228.
9. Dujardin, J.P. Le Pont, F. 2000. Morphometrics of a neotropical sandfly subspecies, *Lutzomyia carrerai thula*. *C. R. Acad. Sci. Paris, Life Sciences.* 323: 273-279.
10. Dujardin, J.P. Schofield, C.J. Panzera, F. 2000a. Les vecteurs de la maladie de Chagas. (Recherches taxonomiques, biologiques et génétiques). *Academie Royale des Sciences Dóutre-Mer. Bruselas.* 162 pp.
11. Dujardin, J.P. Le Pont, F. Bianchi Galati, E. 2000b. Cryptic speciation suspected by morphometry within *Lutzomyia runoides*. *C. R. Acad. Sci. Paris, Life Sciences.* 322: 375-382.
12. Gorla, DE. 1999. La dinámica de metapoblaciones de triatomos domésticos. *En* Schofield C.J. Ponce, C. (editors). *Proceedings of the Second International Workshop on Population Genetics and Control of Triatominae, Tegucigalpa, Honduras.* INDRE, Mexico City, 131 pp.
13. Jaramillo, N. 2000. Partición en tamaño y forma de los caracteres métricos y su interés en los estudios poblacionales aplicados a los Triatominae. Tesis de doctorado. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.
14. Klingenberg, C.P. 1996. Multivariate allometry. *En* Marcus, LF. Conti, M. Loy, A. Naylor, GJ. Slice, DE. (editores). *Advances in Morphometrics, NATO ASI, Series A: Life Sciences.* New York, Plenum Press, Volume 284, pp 23-49.
15. Lent, H. Jurberg, J. 1985. Sobre a variaÁ o intra-específica em *Triatoma dimidiata* (Latreille) e *Triatoma infestans* (Klug) (Hemipter, Reduviidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 80(3): 285-299.
16. Marroquín, O. 1994. Guatemala, Datos Básicos. APROFAM, Guatemala. 86 pp.

17. Pinto Dias, J.C. 1999. Recursos e estratégias da luta anti-chagásica nas Américas. Visão crítica, situação atual e perspectivas. *En* Schofield C.J. Ponce, C. (editores). Proceedings of the Second International Workshop on Population Genetics and Control of Triatominae, Tegucigalpa, Honduras. INDRE, Mexico City, 131 pp.
18. Rohlf, J. 1990. Morphometrics. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 21:299-316.
19. Rohlf, J. 1998. NTSYSpc (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.0) Users Guide. Exeter Software. New York.
20. Rohlf, J. Loy, A. Corti, M. 1996. Morphometric analysis of old world Talpidae (Mammalia, Insectivora) using partial-warp scores. *Syst. Biol.* 45(3):344-362.
21. Schofield, C.J. 2000. Challenges of Chagas Disease Vector Control in Central America. Global Collaboration for Development of Pesticides for Public Health. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2000-1.
22. Schofield, C.J. Diotaiuti, L. Dujardin, J.P. 1999. The Process of Domestication in Triatominae. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 94, Suppl. I: 375-378.
23. Siegel, S. Castellan, Jr. N.J. 1988. *Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences*. 2d ed. McGraw-Hill Book Company. USA. 399pp.
24. Sokal, R. Rohlf, J. 1995. *Biometry. (The principles and practice of statistics in biological research)*. 3d ed. W.H. Freeman and Company. New York. 850 pp. + index.
25. SPSS Æ Base 10.0 Applications Guide. 1999. SPSS Inc. USA. 426 pp.
26. 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.
27. Villar, L. 1997. Introducción a los Biomas. Documento técnico no publicado. CECON-USAC. Guatemala.
28. West-Eberhard, M.J. 1989. Phenotypic Plasticity and the Origins of Diversity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 20: 249-278.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Jean Pierre Dujardin (IRD-Francia), Dr. Chris Schofield (ECHEC Network) por el apoyo para el mantenimiento en técnicas de morfometría. A todos

aquellos que colectaron chinches. A Marianela Menes por su ayuda en el montaje de insectos. A la Dirección General de Investigación y Organización Mundial de la Salud por el apoyo financiero.