

INFORME FINAL

COMPARACIÓN DE POBLACIONES SILVESTRES Y DOMÉSTICAS DE *Triatoma dimidiata*

EQUIPO DE INVESTIGACIÓN

MSc. María Carlota Monroy Escobar	Investigador Principal
MSc. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Investigador Principal
Licda. Antonieta Guadalupe Rodas Retana	Investigadora
Lic. Juan José Chávez Mulet	Investigador
Licda. Dulce María Bustamante Zamora	Investigadora
Licda. Inf. Claudia Irene Calderón García	Investigadora Asociada
Lic. Inf. Franklin Rafael Herrera Almengor	Investigador Asociado
Br. Marianela Menes Hernández	Investigadora Asociada
Br. Ligia María Díaz Morales	Investigadora Asociada
Br. Bárbara Beatriz Moguel Rodríguez	Investigadora Asociada
Licda. María Eunice Enríquez Cottón	Colaboradora
Licda. Inf. Regina Guadalupe Rosales	Colaboradora
Licda. Silvia Bor Pagel	Colaboradora

FECHA: 27 de noviembre del 2001

INSTITUCIONES PARTICIPANTES Y COFINANCIANTES

Responsable de la ejecución: Laboratorio de Investigación en Entomología y Parasitología, Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala
Co-financiamiento: Dirección General de Investigación y Escuela de Biología (FCCQQyF) de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Organización Mundial de la Salud.

INDICE

	Página
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	4
3. ANTECEDENTES	5
3.1. La Enfermedad de Chagas	5
3.2. El <i>Triatoma dimidiata</i>	6
3.2.1. Importancia Epidemiológica y Distribución	6
3.2.2. Biología	7
3.3. La Morfometría	10
3.3.1. Asimetría Morfométrica	11
3.4. Métodos Genéticos Moleculares: PCR-RAPD's	12
4. JUSTIFICACIÓN	14
5. OBJETIVOS	15
5.1. General	15
5.2. Específicos	15
6. REVISIÓN DE LITERATURA	16
6.1. Variabilidad Genética y Morfométrica en Triatominos	16
6.1.1. <i>Triatoma infestans</i>	16
6.1.2. <i>Triatoma brasiliensis</i>	17
6.1.3. <i>Triatoma dimidiata</i>	17
6.1.4. <i>Rhodnius pallescens</i>	18
7. METODOLOGÍA	19
7.1. Morfometría	19
7.1.1. Insectos y su Preparación	19
7.1.2. Equipo de Captación de Datos y Mediciones Morfométricas	20
7.1.3. Análisis de los Datos	21
7.2. Asimetría Morfométrica	27

7.3. PCR-RAPD's	28
13.1.1. Extracción de ADN	28
13.1.2. Amplificación del ADN	28
13.1.3. Corrimiento y Análisis de Geles	29
8. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS	31
8.1. Morfometría Tradicional	31
8.1.1. Análisis Univariado	31
8.1.2. Análisis Multivariado	32
8.2. Morfometría Geométrica	43
8.3. Asimetría Morfométrica	49
8.4. PCR-RAPD's	53
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	58
9.1. Morfometría	58
9.2. Asimetría Morfométrica	62
9.3. PCR-RAPD's	64
13.1. Discusión conjunta Morfometría-Asimetría- PCR-RAPD's	65
9.4.1. Grupos silvestres	65
9.4.2. Grupos domésticos	67
10. CONCLUSIONES	68
11. RECOMENDACIONES	69
12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
13. ANEXOS	76
13.1. Análisis Estadísticos Multivariados	76
13.1.1. Análisis de Componentes Principales	76
13.1.2. Análisis de Componentes Principales Comunes	77
13.1.3. Análisis Discriminante	77

1. RESUMEN

El principal objetivo de este trabajo fue comparar las poblaciones silvestres y domésticas de *Triatoma dimidiata* en Guatemala, utilizando marcadores genéticos, fenéticos y de comportamiento para poder analizar las relaciones poblacionales de esta especie entre los ecotopos domésticos y silvestres. *Triatoma dimidiata* es el principal vector del parásito *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas en Guatemala.

Las cuatro poblaciones domésticas estudiadas provenían de Santa Rosa (2), Jutiapa (1) y El Quiché (1). Las poblaciones silvestres provenían de dos localidades representando dos ecotopos distintos en los que *T. dimidiata* es capaz de desarrollarse: cuevas en la roca caliza (Lanquín, Alta Verapaz) y selva tropical (Melchor de Mencos, Petén).

Utilizando la morfometría (marcador fenético) se exploraron las diferencias en forma (del ala y la cabeza) entre insectos domésticos y silvestres. Este marcador, a diferencia de los marcadores genéticos, es económico para aplicarse, por lo que también se perseguía identificar las medidas morfométricas que permitiesen una mejor diferenciación de las poblaciones para poder aplicarlas en estudios futuros.

Adicionalmente al estudio poblacional, las técnicas morfométricas se utilizaron para analizar el grado de adaptación de los insectos a los diferentes ecotopos que habitan, por medio del estudio de asimetría en caracteres de las alas de chinches *T. dimidiata* provenientes de poblaciones silvestres y de poblaciones de casas.

La morfometría reveló claras diferencias (especialmente en la forma de la cabeza) entre los grupos domésticos y silvestres, y también entre los dos grupos silvestres. Estas diferencias, se cree, son consecuencia de las adaptaciones de los insectos a las diferentes condiciones ambientales en los ecotopos (casas, cuevas, selva). Entre los grupos domésticos las diferencias son menos marcadas, pero es posible identificar cierta separación del grupo de Quiché (que se desarrolla en ambientes menos cálidos y ecológicamente diferentes), de los grupos del sur, especialmente del grupo de Agua Zarca (Ixhucatán, Santa Rosa). Los resultados mostraron que aparentemente, los grupos silvestres aquí incluidos no colonizan las viviendas, y el grupo de cuevas de Alta Verapaz podría no tener, por el momento, importancia en la transmisión vectorial.

El hecho de que las poblaciones domésticas sean poco diferenciables por morfometría nos indica que en realidad están estructuradas como una serie de subpoblaciones comunicadas por migración de insectos entre sí (una metapoblación). Esto tiene importantes implicaciones ya que confirma que esta especie es altamente móvil y que debe prestarse más atención a los medios que eviten la recolonización (repellos de paredes por ejemplo) para eliminar la transmisión, y también determinar la importancia de los ambientes peridomésticos en la epidemiología de esta enfermedad.

El estudio de asimetrías, indicó que los insectos de El Petén se movilizan más que aquellos en ambientes estables (cueva, casa), utilizando el vuelo como medio. El grupo de Lanquin parece ser muy sedentario. Entre los grupos domésticos, el grupo del Quiché parece ser el que más se moviliza por medio del vuelo. Esto apoya la idea de los insectos se mueven dentro de sus ambientes específicos. Además, nos indica que el grupo del Petén está muy bien adaptado a su ambiente, a pesar de ser inestable.

Debido a que la selva del Petén presenta altos índices de colonización, los humanos se están poniendo en contacto con estos insectos silvestres, los cuales progresivamente podrían utilizar al humano como fuente de alimento aumentando el riesgo de transmisión del parásito *T. cruzi* en esta región.

Utilizando la técnica PCR-RAPD's, se compararon las mismas poblaciones de *T. dimidiata* en Guatemala en el ámbito genético. Con esta técnica fue posible evaluar el grado de polimorfismo genético entre y dentro de dos poblaciones silvestres y cuatro poblaciones domésticas de *T. dimidiata*. El ADN se aísla y un único iniciador de alrededor de 10 nucleótidos de longitud y de secuencia arbitraria, se alinea a este; después de una amplificación convencional de PCR, los fragmentos amplificados se separan por electroforesis en geles de agarosa y se visualizan por tinción con bromuro de etidio.

Mediante el empleo de 4 iniciadores (L1, L4, L5 y H3), se amplificaron 84 loci del genoma de los individuos de las poblaciones en estudio. Estos datos se trasladaron al programa "Gene Profiler", en el cual se analizaron para calcular las distancias genéticas de Nei entre las poblaciones y con ellas se elaboró un dendrograma.

Las distancias genéticas de Nei (entre 0.020 y 0.107) demuestran que los individuos de las 6 poblaciones están muy cercanos desde el punto de vista genético, por lo que no se consideran poblaciones diferentes. Todas constituyen entonces una población genéticamente homogénea, lo que

señala un flujo migratorio importante entre los individuos. Este intercambio de alelos entre las poblaciones se debe a la alta movilidad de *T. dimidiata*, aspecto que se debe tomar en cuenta para las estrategias de rociamiento. Sin embargo aunque se observaron estas cortas distancias genéticas, las poblaciones silvestres de Petén y Alta Verapaz formaron un grupo que tiende a separarse del resto de las otras, y que dentro de las poblaciones domésticas, Jutiapa y Santa Rosa de Lima se encuentran formando un grupo aparte de Agua Zarca y Quiché. Estas últimas son regiones pequeñas y aisladas, por lo que se puede afirmar que existe un flujo genético interno que hace que ciertos alelos tiendan a fijarse.

Para lograr una mayor diferenciación que la marcada por la técnica de PCR-RAPD's sería necesario buscar nuevos marcadores moleculares, más específicos como ITS o microsatélites.

Las frecuencias génicas y la carencia de alelos en ciertos loci nos indican que Agua Zarca y Quiché son las poblaciones que han perdido más loci lo que señalaría que se trata de poblaciones domesticadas que han reducido su germoplasma y que tendrían menor capacidad de adaptarse a nuevos ambientes inestables.

Los resultados morfométricos, genéticos y de comportamiento muestran que *T. dimidiata* esta formada por varias subpoblaciones que un alto grado de similaridad genética, aunque con diferencias morfológicas y morfométricas que separan claramente a los grupos silvestres de los domésticos, pero con poca diferenciación entre grupos domésticos.

Los datos de asimetría nos mostraron las poblaciones más movibles y las que tienden a ser sedentarias; esto tiene mucha importancia a nivel de el programa nacional de control de vectores de Chagas. Sugerimos una vigilancia a las poblaciones de Petén y Quiché, sobre todo respecto a los machos volando.

Los datos de asimetría nos indican que posiblemente las chinches domesticas tienden mas a moverse caminando y no volando. Este dato también tiene un implicación directa en relación a la estrategia de control ya que será necesario rociar con insecticidas las aldeas adyacentes.

2. INTRODUCCIÓN

El insecto *Triatoma dimidiata* (comúnmente llamado chinche, talaje ó telepate) es una de las más importantes especies vectoras (especialmente en Centroamérica) del agente causal de la enfermedad de Chagas, el *Trypanosoma cruzi*.

T. dimidiata es capaz de formar colonias dentro de las viviendas humanas (en las grietas de las paredes de lodo) por lo que el control del vector aplicando insecticidas piretroides ha sido el medio más común de eliminar al insecto de las viviendas y evitar así la transmisión del parásito. Sin embargo, *T. dimidiata* es capaz de vivir en diversos ambientes, y después de un tratamiento de control, este insecto puede reaparecer en las viviendas y formar nuevas colonias, evento que se denomina reinfestación, lo que representa un grave problema tanto económico como para la Salud Pública.

Para apoyar el planeamiento de estrategias de control, la investigación científica acerca de la estructuración de las poblaciones en los diferentes ambientes que habitan, es gran un apoyo para comprender si las poblaciones se encuentran aisladas o “comunicadas” por medio de migración de insectos entre ellas.

Para estudiar la estructuración poblacional, se han desarrollado diversas técnicas denominadas marcadores poblacionales, que permiten identificar qué grupos son más semejantes entre sí.

En este trabajo de investigación se utilizaron dos marcadores uno fenético (la morfometría) y otro genético (PCR-RAPD's), para analizar las diferencias y la naturaleza de las diferencias (genéticas y de forma) que pudiesen existir, entre cuatro poblaciones domésticas (Jutiapa, Quiché, Agua Zarca y Santa Rosa de Lima) y dos poblaciones silvestres (Petén, Alta Verapaz), de *Triatoma dimidiata*.

El conocer cómo están estructuradas las poblaciones (aisladas o conectadas por la migración de insectos entre las mismas) resulta muy importante para comprender el porqué de una eventual reinfestación después del tratamiento y poder implementar programas de rociamiento como forma de control del vector de la enfermedad de Chagas.

3. ANTECEDENTES

3.1. La Enfermedad de Chagas

La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana), es un grave problema de salud pública en Latinoamérica. Las estimaciones actuales de la Organización Mundial de la Salud indican que de 16 a 18 millones de personas están infectadas y 90 millones en riesgo (4% de la población de Latinoamérica). Esta enfermedad es causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae), el cual causa debilitación grave debido a que produce lesiones en el corazón y otros órganos vitales al proliferar intracelularmente en varios tejidos, notablemente el músculo cardíaco, el músculo liso, el sistema nervioso autónomo y los fagocitos mononucleares (Schofield 1994).

Esta enfermedad presenta tres fases (De León 1997):

4. Aguda: fase corta con manifestaciones clínicas leves y atípicas.
5. Intermedia: puede durar varios años, es asintomática.
6. Crónica: de larga duración; las lesiones más importantes son la cardiomiopatía crónica y las visceromegalias. Entre 30-40% de las personas infectadas sufren daño cardíaco, digestivo ó neurológico unos 10-20 años después de haberse infectado.

Debido a que en las primeras fases muy frecuentemente no se encuentran manifestaciones clínicas y si las hay, son muy leves, el diagnóstico clínico debe ser auxiliado por el contexto epidemiológico y confirmado por la detección de anticuerpos contra el *T. cruzi* y/o por la presencia del parásito mismo (De León 1997).

La transmisión de *T. cruzi* al humano se realiza a través de las deyecciones de sus vectores, los **insectos triatominos** (chinchas) y no en su picadura, ya que dentro del insecto el parásito se desarrolla en el intestino. Los parásitos en las heces de las chinchas pueden penetrar las mucosas ó cualquier herida ó abrasión de la piel, donde se produce una multiplicación local de parásitos, luego se produce parasitemia sanguínea seguida de la proliferación intracelular.

La tripanosomiasis tiene un ciclo silvestre (mamíferos silvestres infectados) y otro doméstico que involucra a los mamíferos domésticos (perros, gatos, etc.) y a los humanos, que al ser infectados constituyen la enfermedad de Chagas humana (ECH). Esta ha sido uno de los principales problemas sanitarios de América Latina en este siglo. De acuerdo con el Banco

Mundial, la ECH constituye la enfermedad parasitaria de mayor impacto social negativo en América Latina en términos de años potenciales de vida perdidos, superando a la malaria, y ocupando el cuarto lugar entre las molestias infecto-contagiosas, apenas superada por las infecciones respiratorias, diarreicas y por el SIDA. Este peso médico-social se debe básicamente al gran número de individuos infectados y al potencial de morbi-mortalidad de la ECH, particularmente debido a la forma crónica cardiaca, que incide entre 10 y 40% de los portadores de la infección (Pinto Dias 1999).

En Guatemala, la ECH fue reportada por primera vez en el año de 1932. En el período de 1952 a 1976 fueron reportados 2,620 casos, mientras que de 1980-1989 únicamente 312 casos positivos. Sin embargo, La Organización Mundial de la Salud reporta para el país alrededor de 730,000 individuos infectados con *T. cruzi* y una incidencia de 30,000 casos nuevos al año. En 1986, Cáceres y cols. demostraron la prevalencia de serología positiva para la enfermedad de Chagas en algunas zonas endémicas: Santa Rosa 9.3%, Jutiapa 10.0%, Chiquimula 17.6%, Escuintla 16%, Baja Verapaz 9.6% y el Progreso 7.3% (De León 1997).

6.1. El *Triatoma dimidiata* (Latreille) 1811

6.1.1. Importancia Epidemiológica y Distribución

Triatoma dimidiata es un insecto triatomino que ha sido encontrado naturalmente infectado con el parásito *T. cruzi*. Esta especie muchas veces ha sido encontrada infectada por *Trypanosoma rangeli*, el cual no es patógeno para el hombre (Schofield 1994; Sherlock 2000).

T. dimidiata se encuentra en el sur de México, Belice, Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Colombia, Ecuador, Venezuela y norte de Perú (Zeledón 1985; Dujardin *et al* 2000).

T. dimidiata es capaz de colonizar la vivienda humana (ver más adelante) y así se mantiene en contacto constante con el ser humano, alimentándose de él y aumentando las posibilidades de transmisión del parásito. Es una de las principales especies vectores de *T. cruzi* en Centroamérica, junto con *Rhodnius prolixus*. También es un vector importante en las regiones costeras húmedas de Colombia, Ecuador y el norte de Perú (Schofield 1994; Dujardin *et al* 2000; Sherlock 2000).

Es el principal vector de la enfermedad de Chagas en Guatemala; entre 30% al 34% de estos insectos se encuentran infectados con *T. cruzi*, aunque

esto varía dependiendo de la región (Monroy 1992). En Guatemala se le ha encontrado en los departamentos de Guatemala, El Progreso, Chimaltenango, Escuintla, Santa Rosa, Quetzaltenango, Suchitepéquez, Retalhuleu, San Marcos, Huehuetenango, Quiché, Baja Verapaz, Alta Verapaz, Zacapa, Chiquimula, Jalapa, Jutiapa y Petén (Zeledón 1985; Monroy 1992; Tabaru *et al* 1999).

6.1.2. Biología

Triatoma dimidiata es un insecto hemíptero, perteneciente a la familia Reduviidae, cuyos miembros se caracterizan por presentar cabeza elongada, región postocular en forma de cuello, probóscide corta y trisegmentada. Los redúvidos pueden presentar hábitos depredadores (se alimentan de otros insectos) ó hematófagos (se alimentan de sangre de vertebrados) (Borror 1989).

Dentro de los redúvidos, *T. dimidiata* se ubica en la subfamilia Triatominae, Tribu Triatomi. Varios autores han agrupado a esta especie dentro del complejo de especies *Phyllasoma* (Ibáñez-Bernal & Paz-Rodríguez 1999; Dujardin *et al* 2000; Sherlock 2000), el cual incluye a las especies cuyo centro de origen se ha sugerido es el norte del continente americano.

Morfológicamente es un insecto bastante grande (el macho mide entre 24.5 a 32.0 mm de largo, y la hembra de 24.5 a 35.0 mm), de colorido distintivo (desde píceo a negro, con conexivo y corium desde amarillo pálido hasta amarillo naranja) (Lent & Wigodinsky 1979; Lent & Jurberg 1985).

Esta especie posee una extensa variación morfológica a lo largo de su distribución geográfica: varía el tamaño total, las medidas relativas de la cabeza y los ojos, el tamaño de la mancha oscura en medio del corium, y el grado de oscurecimiento de la membrana de los *hemelitra* (alas) (Lent & Jurberg 1985).

6.1.2.1. Clima y altura

En Guatemala parece tener predilección por ambientes secos en los departamentos orientales del país, pero también en zonas húmedas. Es raro en regiones cálidas y prefiere climas templados (23-25°C) desde 200-300 hasta unos 1800 metros. En Colombia se ha encontrado en altitudes hasta de 2700 metros (Zeledón 1981; Monroy 1992; Tabaru *et al* 1999).

6.1.2.2. Biotopos naturales

Habita cuevas de tacuacines (*Didelphis* sp.) y otros animales, montículos de piedra y adobe en ruinas, cuevas de murciélagos, árboles huecos que sirven de albergue a animales (Zeledón 1981). En Guatemala se ha descubierto entre las brácteas de palmeras en las selvas del Petén (Monroy *et al*/no publicado).

6.1.2.3. Relación con el domicilio humano

T. dimidiata es capaz de colonizar viviendas humanas, especialmente aquellas construidas de adobes o bajareque, donde se resguarda dentro de las grietas de las paredes. Las colonias domésticas tienden a ser relativamente pequeñas (Monroy 1992; Schofield 1994).

Se cree que el transporte pasivo de leña desde el campo hacia el interior de las viviendas es un medio importante en la entrada de *T. dimidiata* al ambiente humano, así como también la atracción por la luz artificial; esta especie se caracteriza por su gran capacidad de vuelo (Monroy 1992). Dentro de las casas tiene preferencia por las camas de tablas o varillas, petates, bajo los colchones, cajones, tiestos acumulados bajo las camas o rincones del cuarto, detrás de los cuadros ó papeles colgados en las paredes y entre la leña (Peñalver 1953; Monroy obsv. pers.).

Las condiciones de las viviendas en Guatemala son propicias para la colonización por triatomíneos: 85% de las casas mantienen animales domésticos adentro, 77% tienen cocinas de leña adentro, la mayoría de camas se localizan en esquinas oscuras y sin ventanas, un 60% de las casas en áreas rurales están construidas con paredes de lodo (adobe) (Tabaru *et al* 1999; Monroy *et al* 1995). De un total de 2,749 casas encuestadas en Guatemala en el periodo de 1995 a 1997, 6.5% fueron positivas para los vectores de la enfermedad de Chagas, y de 1,131 insectos colectados, 64.6% fueron *Triatoma dimidiata*, 30.7% *Rhodnius prolixus* y 4.7% *Triatoma nitida* (Tabaru *et al* 1999).

T. dimidiata también coloniza ambientes rodeando al domicilio (peridomicilio) tales como establos, gallineros, perreras y cochiqueras (Zeledón 1981; Monroy obsv. pers.).

Las poblaciones de insectos que se encuentran dentro de la casa así como en su periferia, parecen indicar que existe un intercambio de individuos que sugiere un desplazamiento constante de los insectos hacia adentro o hacia afuera del domicilio. La presencia de sangre humana en el contenido estomacal de insectos, incluyendo estadios ninfales,

capturados en diversas partes de la casa así parece demostrarlo (Zeledón 1981).

6.1.2.4. Alimentación y ciclo de vida

La preferencia de alimentación es variada y comprende sangre de mamíferos, aves e incluso reptiles. El contenido intestinal más común de los ejemplares colectados dentro y alrededor de las casas es sangre humana (52.7% a 44.2%), tanto en los ejemplares infectados con *T. cruzi* como en los no infectados, y, en segundo lugar, sangre de perros (25.3%) (ver Tabla 1).

Tabla 1.

Frecuencias de ingesta de sangre para *T. dimidiata* en algunas localidades de Mesoamérica. Se incluyen los resultados para los vertebrados más comunes. Las categorías no son mutuamente excluyentes, es decir, que pueden existir ingestas múltiples.

	YUCATÁN, MÉXICO* (924 insectos)	COSTA RICA ^o (1020 insectos)	CHIRIQUI, PANAMÁ? (326 insectos)
Humanos	4%	44%	38%
Gallinas	14%	14%	19%
Perros	5%	20%	17%
Didélfidos	4%	10%	0%

* Quintanal & Polanco, 1977; insectos colectados en Izamal y Peto. ^o Zeledón *et al*, 1973; insectos colectados en Alajuela, San José, Heredia, Puntarenas y Guanacaste.

[?]Christensen *et al* 1988.

En condiciones de laboratorio el ciclo de vida (ver Figura 2) de *T. dimidiata* toma un promedio de 11 meses a 23°C y 75% de humedad relativa (HR), pero disminuye a 8 meses a 26.5°C y 50%HR. El ciclo es probablemente mas largo en la naturaleza; en el laboratorio algunos insectos han alcanzado los tres años (Zeledón *et al* 1970a; Zeledón *et al* 1970b). La cantidad de sangre ingerida aumenta con el estadio ninfal, siendo en promedio de 4.5 mg para los primeros estadios y de 421.3 mg para los quintos estadios. Las hembras adultas son más agresivas para alimentarse que los machos; las primeras consumen un promedio de 282.6 mg de sangre en una alimentación, mientras que los machos 220.0 mg (Zeledón *et al* 1970a). La oviposición depende de la alimentación, en hembras alimentadas cada dos semanas estas depositan un promedio de entre 15.4 a 18.5 huevos por día, pudiendo una hembra depositar entre 1025.2 a 1301.1 huevos en su vida, con un porcentaje de eclosión entre el 88.1% hasta el 91.1% (Zeledón *et al* 1970b).

La Morfometría

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).

La comparación de las formas biológicas es de interés en estudios de:

1. Taxonómicos: diferenciación entre taxas biológicos;
2. Ontogénicos: cambios de forma a lo largo del crecimiento de un organismo;
3. Evolutivos: (c.1) cambios de forma a lo largo de una rama filogenética; (c.2) cambios micro evolutivos como resultado de la adaptación a las presiones ambientales.

La forma biológica es representada por medio de cantidades matemáticas que son asignadas en base a localizaciones geométricas. Existen dos formas generales de representación matemática de la forma: (a) conjuntos de distancias entre puntos sobre el organismo (largo de un ala, distancia entre los ojos, etc.) ó (b) las coordenadas cartesianas de estos puntos (coordenadas cartesianas de las intersecciones de la venación alar en insectos) (Bookstein 1982).

Existen dos medios generales de comparar las formas matemáticamente representadas: morfometría tradicional o multivariada y morfometría geométrica.

La aplicación de estadística multivariada a conjuntos de distancias medidas en un organismo se denomina MORFOMETRÍA TRADICIONAL O MULTIVARIADA. Las distancias ó caracteres usualmente representan largos y anchos de ciertas estructuras, distancias entre dos puntos y en algunos casos se han utilizado ángulos y proporciones (Rohlf & Marcus 1993). Dentro de los métodos multivariados utilizados encontramos aquellos de ordenación (análisis de componentes principales, análisis discriminante, coordenadas principales) y agrupamientos (cluster).

Los métodos de ordenación buscan la representación de los organismos en un espacio resumido de las variables medidas, definido por los ejes de mayor variación. Al resumir la dimensionalidad de los datos, estos métodos sitúan a los organismos en grupos identificables (Footitt & Sorensen 1992). Los métodos de ordenación permiten el reconocimiento de la presencia de grupos previamente desconocidos y la clasificación de fenotipos en grupos ya conocidos (Crespi 1992).

Los métodos de morfometría tradicional no toman en cuenta las relaciones geométricas de las variables. Los análisis multivariados toman en consideración las correlaciones entre las variables, pero no tienen conocimiento de los patrones espaciales de las variables en el organismo. Los métodos que toman en cuenta esta información conforman la MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA, y son más poderosos ya que permiten explorar relaciones más sutiles en los datos (Rohlf 1990).

La morfometría geométrica es una colección de enfoques para el análisis estadístico multivariado de formas representadas como coordenadas cartesianas de ciertos puntos sobre un objeto (Slice *et al* 1998). Debido a que a lo largo de los análisis se mantiene la información acerca del arreglo espacial relativo del organismo ó estructura, al final uno puede reportar CÓMO ciertas estructuras se han movido en relación a otras y no simplemente si la forma ha cambiado (Rohlf & Marcus 1993).

3.1.1. Asimetría Morfométrica

La asimetría morfométrica ha sido utilizada para investigar las inestabilidades del desarrollo en los organismos (Daly 1985).

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

Al examinar estructuras bilaterales en un organismo se buscan diferencias que pudieran dar cuenta de las presiones ambientales que actuaron durante el desarrollo embrionario hasta el estadio adulto. Se supone que ambos lados de un organismo de simetría bilateral están coordinados por los mismos genes y por lo tanto la igualdad bilateral debería ser perfecta (Jaramillo 2000). Sin embargo corrientemente se reconoce tres tipos de asimetría:

4. La asimetría fluctuante (AF) que resulta de los efectos del ambiente. La FA se caracteriza porque los lados izquierdo y derecho de un carácter bilateral presentan diferencias significativas entre ellos; pero los promedios de las mediciones de cada lado deben ser parecidos, de tal manera que la diferencia absoluta no debe diferir significativamente de cero. Las diferencias no absolutas entre ambos lados genera una distribución cercana a la normal (Palmer y Strobeck 1986; Møller y Swaddle 1997).

5. La asimetría direccional (AD) que es constante en todos los individuos de la población y que se supone que tiene causas genéticas. La AD resulta cuando un lado del cuerpo, siempre el mismo, tiene un tamaño promedio mayor o menor al del otro lado (Palmer y Strobeck 1986; Møller y Swaddle 1997).
6. La antisimetría (AS) que también es sistemática y puede corresponder a efectos genéticos y/o ambientales. La AS se caracteriza porque un lado es más grande que el otro, pero éste se puede encontrar al azar sobre el lado derecho o el izquierdo. Las diferencias no absolutas entre ambos lados genera una distribución bimodal o platicúrtica (Palmer y Strobeck 1986; Møller y Swaddle 1997).

El estudio de la asimetría se aplican cuando se desea investigar (a) la estabilidad en el desarrollo de una población; (b) la estabilidad del desarrollo a lo largo del tiempo evolutivo; (c) las respuestas de las poblaciones a ambientes cambiantes; (d) a nivel individual, revela aspectos de la calidad fenotípica y genotípica individual (Møller y Swaddle 1997). La estabilidad del desarrollo a la que se hace referencia es la producción de un fenotipo, predeterminado por un diseño adaptativo, bajo un conjunto de condiciones genéticas y ambientales específicas. Se refiere por tanto, a la capacidad de las vías de desarrollo de resistir accidentes y perturbaciones durante el proceso de crecimiento. La estabilidad del desarrollo puede ser grandemente afectada por influencias genéticas y ambientales, a medida que cepas genéticamente diferentes de la misma especie y cepas idénticas bajo diferentes condiciones ambientales, muestran variaciones en sus niveles de estabilidad del desarrollo (Møller y Swaddle 1997).

6.1. Métodos Genéticos Moleculares: PCR-RAPD's

La biotecnología desarrolló hace unas décadas métodos artificiales para manipular las bases moleculares de la herencia -el ADN-. Estos métodos, en conjunto denominados Tecnología de ADN Recombinante, se enfrentaron muy pronto con un problema: la necesidad de grandes cantidades de ADN, millones o miles de millones de copias. Los instrumentos más sensibles no son capaces de detectar una gran cantidad de moléculas de ADN. Sin embargo este problema se vio resuelto por Kary Mullis, quien obtuvo el premio Nobel en 1993. Su invención es el hoy ya ampliamente conocido proceso, **Reacción en Cadena de la Polimerasa**, PCR por sus siglas en inglés (Audesirk y Audesirk 1996; Elseth y Baumgardner 1995)

La amplificación por PCR utiliza la enzima ADN polimerasa y un par de iniciadores ("primers") sintéticos en cantidad suficiente que son complementarios a ambos extremos finales del ADN que se está amplificando (ADN plantilla). La reacción se realiza en agua y con la presencia de los siguientes componentes: dNTP's (4 trifosfatos de deoxiribonucleosido correspondientes a cada una de las bases nitrogenadas del ADN), buffer y cloruro de magnesio. Cuando la temperatura se eleva ($\approx 94^{\circ}\text{C}$) las cadenas del ADN dúplex se desnaturalizan y se separan. Al bajar la temperatura ($\approx 40^{\circ}\text{C}$) se permite la renaturalización del ADN y los iniciadores que están en cantidad suficiente se alinean a las cadenas separadas del ADN plantilla. Después de que los iniciadores se han alineado, cada uno empieza la elongación de la cadena por medio de la ADN polimerasa utilizando la cadena original como plantilla y las nuevas cadenas recién creadas crecen en dirección contraria entre ellas mientras la síntesis avanza.

Para empezar un segundo ciclo, la temperatura se eleva de nuevo para desnaturalizar el ADN dúplex. Tanto en las cadenas madre como en las hijas, los iniciadores se alinean y sigue la replicación sucesivamente.

El poder de la amplificación de ADN es tal que el número de copias de la cadena plantilla aumenta en progresión exponencial es decir, si se empieza con una mezcla que contenga tan poco como una molécula del fragmento de interés, etapas repetidas de la replicación del ADN aumentan el número de moléculas amplificadas exponencialmente. Por ejemplo, empezando con una molécula simple, 25 etapas de replicación resultarán en $2^{25} = 3.4 \times 10^7$ moléculas (Hartl y Jones 2000).

La técnica de PCR-RAPD's (Polymerase Chain Reaction-Random Amplified Polymorphic DNA), es una adaptación del PCR que utiliza un grupo de iniciadores de 8-10 pares de bases cuya secuencia es esencialmente al azar. Los iniciadores son tratados individualmente o en pares en las reacciones de PCR para amplificar fragmentos de ADN genómico de organismos de interés. Si se unen suficientemente cerca dos iniciadores en una y otra hebra del ADN genómico, la polimerasa podrá amplificar esa región, dando lugar a un fragmento con peso molecular determinado. Porque los iniciadores son cortos usualmente se alinean al ADN genómico en muchos sitios. Entre el grupo de fragmentos amplificados están los que pueden ser amplificados en una muestra de ADN genómico pero no en otra, lo que significa que la presencia o ausencia de fragmentos amplificados es polimórfica en la población de organismos (Hartl y Jones 2000).

7. JUSTIFICACIÓN

Triatoma dimidiata se encuentra entre los principales vectores del parásito *Trypanosoma cruzi* en Centro y Sudamérica; en Guatemala esta especie es el principal vector. La Enfermedad de Chagas tiene un gran impacto social y económico: se estima que un 8% de la población de Guatemala está infectada (Schofield 1994) y la educación sanitaria y el **control de los vectores** son los principales medios profilácticos.

Triatoma dimidiata es una especie de hábitos diversos y suele ocupar ambientes domésticos, peridomésticos y silvestres, lo cual la convierte en una especie de difícil erradicación.

Aparentemente existen poblaciones diferentes a lo largo de su distribución: por ejemplo, las poblaciones de Costa Rica son más parecidas a las poblaciones de México (Salazar Schettino comm. pers.) y éstas a su vez se parecen a las silvestres de Guatemala (Monroy et al obsv. pers.). Las poblaciones domésticas también tienen ciertas diferencias métricas entre sí (Bustamante obsv. pers.).

De acuerdo a Schofield (2000), *T. dimidiata* podría representar una serie de subpoblaciones relativamente aisladas, con un bajo flujo genético entre ellas. Si esto es verificado, 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. Debido a esto, se considera una prioridad urgente el estudiar la estructura genética de las poblaciones de *T. dimidiata*, para establecer el actual grado de estructuración y también para identificar marcadores genéticos y fenéticos útiles.

En este estudio, utilizamos marcadores fenéticos (morfometría-asimetrías) y genéticos (PCR-RAPD's), para estudiar las diferencias y la naturaleza de las diferencias, que pudiesen existir entre cuatro poblaciones domésticas y dos poblaciones silvestres de *Triatoma dimidiata*.

Las investigaciones acerca de la estructuración de las poblaciones y su grado de domesticación son importantes para el planeamiento de estrategias de control, lo cual es especialmente necesario para Guatemala, donde en el año 2000 se inició el programa de rociamiento con insecticidas para la reducción de las poblaciones de *Triatoma dimidiata* en las viviendas humanas.

La información generada puede ser de mucha utilidad en el caso muy probable de que se encuentre *T. dimidiata* después del rociamiento con insecticidas (reinfestaciones); los estudios poblacionales son útiles para **identificar la procedencia de los insectos reinfestantes**. También se producirá información sobre las frecuencias génicas características de algunas poblaciones domiciliarias (Jutiapa, Santa Rosa y Quiché), lo que permitirá poder orientar de mejor manera las acciones de control.

OBJETIVOS

7.1. General

- Comparar las poblaciones silvestres y domésticas de *Triatoma dimidiata* en Guatemala, utilizando marcadores genéticos y fenéticos.

7.2. Específicos

- Estudiar las relaciones poblacionales de insectos domésticos y silvestres de *T. dimidiata*.
- Definir las medidas morfométricas de las alas y las cabezas de *T. dimidiata* que permita una mejor diferenciación de las poblaciones.
- Establecer las diferencias morfológicas y de comportamiento de las poblaciones silvestres y domésticas de *T. dimidiata*.
- Determinar el grado de asimetría de caracteres morfológicos de alas de chinches *T. dimidiata* provenientes de poblaciones silvestres y de poblaciones de casas.
- Calcular las frecuencias y la distancia genética entre las poblaciones silvestres y domésticas de *T. dimidiata* en Guatemala.
- Comparar diferentes poblaciones de *T. dimidiata* en Guatemala en el ámbito genético utilizando la técnica PCR-RAPDs.
- Ilustrar las distancias genéticas entre dos poblaciones silvestres y dos poblaciones domésticas por medio de un dendrograma.

8. REVISIÓN DE LITERATURA

8.1. Variabilidad Genética y Morfométrica en Triatominos

El estudio de poblaciones de triatominos utilizando marcadores genéticos y fenéticos se ha difundido en los últimos años. Se han aplicado técnicas genéticas como (a) PCR-RAPD's; (b) citogenética y (c) ADN mitocondrial. También se han utilizado múltiples técnicas fenéticas como: (a) morfometría; (b) patrones de receptores sensoriales en las antenas; (c) isoenzimas; (d) mediciones en los huevos; (e) comparaciones de genitalia; (f) asimetrías.

A continuación se presentan una serie de estudios, con diferentes objetivos, que utilizando técnicas moleculares y morfométricas estudiaron la variabilidad de poblaciones de Triatominos.

8.1.1. Triatoma infestans

8.1.1.1. Morfometría para identificación de insectos reinfestantes: el caso de Jamachuama (Bolivia)

Jamachuama es una aldea de Cochabamba, Bolivia, cuyas viviendas se encontraban infestadas con *T. infestans*, pero también rodeada de focos silvestres de este insecto. En diciembre de 1992, las casas fueron rociadas para control, y diez meses después se detectó reinfestación (ninfas de primer estadio). Utilizando la morfometría, estas ninfas fueron comparadas (en base a siete mediciones en la cabeza) con otras colectadas previo a la fumigación y con insectos silvestres. Los resultados de las comparaciones apuntan a que los reinvadores son insectos residuales (sobrevivientes de la fumigación), más que silvestres que ingresaron a las viviendas, ya que los reinvadores diferían significativamente de los silvestres por no de los domésticos (Dujardin *et al* 1997b).

8.1.1.2. Análisis Genético para identificación de insectos reinfestantes: el caso de Moro Moro (Bolivia)

Moro Moro es una aldea en Valle Grande (Bolivia), cuyas viviendas presentan alta infestación con *T. infestans* y con alta seroprevalencia de Chagas humano (70%). Después de realizar intervenciones de control con insecticidas piretroides en esta aldea, reaparecieron insectos en las viviendas. Un análisis genético (basado en isoenzimas) fue efectuado para

comparar insectos antes y después del rociamiento. Se encontró que las frecuencias génicas de los especímenes reinfestantes fueron casi idénticas de las de aquellos colectados previamente al rociamiento en la aldea, lo que sugiere que las reinfestaciones fueron provocadas por insectos que sobrevivieron el tratamiento (Dujardin *et al* 1996).

8.1.2. *Triatoma brasiliensis*

Borges *et al* (2000) estudiaron la variabilidad genética de tres poblaciones domésticas de *Triatoma brasiliensis* (vector importante en el noreste de Brasil), utilizando la morfometría, PCR-RAPD's e isoenzimas. Los perfiles isoenzimáticos fueron idénticos para las tres poblaciones, mientras que los patrones del RAPD permitieron una clara discriminación entre los tres grupos. La morfometría de la cabeza mostró diferenciación entre las tres poblaciones pero solamente para los machos, no para las hembras. Los investigadores concluyeron que la heterogeneidad genética detectada en *T. brasiliensis* podría estar asociada a una serie de eventos de domesticación reciente; la separación geográfica de las poblaciones podría ser un factor importante en la estructuración genética de *T. brasiliensis*. Con los resultados obtenidos pudieron determinar que una de las poblaciones estudiadas podría mantener mayor intercambio con las poblaciones silvestres que las otras dos, lo cual es importante para la vigilancia y el control (Borges *et al* 2000).

8.1.3. *Triatoma dimidiata*

Solis-Mena (2000) estudió el origen de las poblaciones de *Triatoma dimidiata* del Ecuador al analizar el grado de variabilidad entre poblaciones geográficas de esta especie, intentando inferir las posibles rutas de dispersión a partir del centro de origen. Para esto utilizó técnicas moleculares (secuenciación de los genes mitocondriales codificadores de proteínas) y la morfometría. Se compararon insectos de México, Centroamérica, Colombia y Ecuador. Los resultados muestran que estas técnicas son capaces de detectar cambios microevolutivos. Los análisis combinados de morfometría y genética apoyaron ideas anteriores de un origen Mesoamericano de *T. dimidiata*, más que un origen Suramericano. Respecto al origen del grupo ecuatoriano, los resultados apoyan la idea de un origen mesoamericano más que colombiano, aunque el hecho de que algunos especímenes fuesen similares a los colombianos no permitió excluir completamente esa posibilidad (Solís-Mena 2000).

8.1.4. *Rhodnius pallescens*

Jaramillo (2000) efectuó un estudio completo acerca del tamaño y la forma de los caracteres métricos en *Rhodnius pallescens* (vector importante en Panamá, silvestre en Colombia), comparando localidades silvestres colombianas con una localidad doméstica panameña, utilizando las técnicas de morfometría tradicional y geométrica como herramientas. Las mismas poblaciones (después de una generación en el laboratorio) fueron estudiadas utilizando la técnica PCR-RAPD's, para analizar como la deriva génica afecta la forma y la conformación de los insectos, detectada por morfometría. Además, la estabilidad del desarrollo entre las localidades se comparó al estudiar las asimetrías.

Entre otras conclusiones, el estudio de Jaramillo (2000) mostró que la forma (analizada por morfometría), es un carácter estable, poco susceptible de sufrir cambios importantes entre poblaciones de una misma especie y después de una generación en el laboratorio. La morfometría mostró ciertas diferencias de forma entre las poblaciones colombianas y la panameña de *R. pallescens*, mientras que el PCR-RAPD's no mostró tendencias a la separación entre estos grupos; los grupos silvestres colombianos no mostraron una estructuración geográfica marcada, por lo que se concluyó que los grupos en las localidades colombianas forman una población continua. Con el estudio de asimetrías no se descubrieron patrones importantes entre localidades, únicamente un aumento de la asimetría en las poblaciones criadas en ambiente controlado de laboratorio (Jaramillo 2000).

METODOLOGÍA

8.2. Morfometría

8.2.1. Insectos y su Preparación

Los especímenes utilizados fueron colectados por los investigadores del Laboratorio de Investigación en Entomología y Parasitología de la Escuela de Biología (entre 1996-2001).

A cada insecto le fueron removidas las alas mesotorácicas (*hemelitra*) utilizando tijeras de disección. Las alas fueron montadas entre porta y cubre objetos utilizando Solución de Hoyer como medio. Las cabezas de los insectos fueron removidas con ayuda de pinzas de disección y montadas en alfileres utilizando triángulos de acetato como soporte. Para algunos insectos no fue posible utilizar ambas alas y cabezas debido al deterioro de las estructuras, por lo que en la Tabla 2 se detallan los tamaños de muestra utilizados con cada estructura.

Tabla 2.

Tamaños de las muestras para *T. dimidiata* en las localidades estudiadas (Figura 1).

ECOTOPO	LOCALIDAD DE COLECTA	MACHOS		HEMBRAS	
		Ala	Cabeza	Ala	Cabeza
Viviendas humanas	Aldea Agua Zarca, Santa María Ixhucatán, Santa Rosa (AZ)	23	24	23	23
Viviendas humanas	Aldeas Carrizal, Quebrada Seca y Azulco, 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. Localidades de colecta de los insectos utilizados para este estudio: (PET) Sitio Arqueológico Yaxha', Melchor de Mencos, departamento del Petén; (AZ) Cuevas del municipio de Lanquín, departamento de Alta Verapaz; (QUI) varias aldeas del sur del departamento del Quiché; (SRL) aldeas Primera Sabana, el Salitre y Sabanetas, Santa Rosa de Lima, departamento de Santa Rosa; (AZ) aldea Agua Zarca, Ixhutatán, departamento de Santa Rosa; (JUT) aldea el Carrizal y otras, Jutiapa, departamento de Jutiapa. En PET y AV los insectos son silvestres; en AZ, JUT, QUI y SRL los insectos son domiciliados.

1.1.1. Equipo de Captación de Datos y Mediciones Morfométricas

Las imágenes de las estructuras *hemelitron* izquierdo (ala) y cabeza de cada espécimen, fueron captadas utilizando un sistema de video (Cámara Olympus OLY-750, conectada a un estereoscopio Olympus SZ-ST5), con magnificación 6.7X para las alas y 15X para las cabezas, y luego transmitidas a una computadora (IBM Aptiva), para ser "guardadas" como un archivo de imagen (*.bmp) por medio del software Video Highway Xtreme (AIMS Lab. Inc. 1997). Las imágenes digitales de las estructuras fueron analizadas en el programa de software tpsDig® (Rohlf 2001), el cual permite coleccionar las coordenadas cartesianas de los puntos seleccionados sobre un objeto. Los puntos seleccionados se muestran en la Figura 2. Las coordenadas coleccionadas se ingresaron y ordenaron en una hoja electrónica Microsoft Excel® (Microsoft Corp. 2000).

La base de datos de coordenadas cartesianas fue conservada para utilizar estos datos para la morfometría geométrica, cuyos análisis se describen más adelante. Para la morfometría tradicional fue necesario obtener distancias entre puntos. Para obtener la distancias entre dos puntos de los

cuales se tienen sus coordenadas cartesianas se utiliza el Teorema de Pitágoras:

$$d_{ab} = \sqrt{((x_b - x_a)^2 + (y_b - y_a)^2)},$$

donde d_{ab} es la distancia entre los puntos a y b . Las distancias que se obtienen están dadas en "pixels".

Programando el Teorema de Pitágoras en la hoja electrónica Excel® se obtuvieron 10 distancias entre puntos en el ala, seis distancias en la cabeza de las hembras y ocho distancias en la cabeza de los machos (ver Tabla 3).

Antes de utilizar las distancias entre puntos como datos en los análisis, se verificó si habían sido obtenidas con una precisión y exactitud aceptable, para garantizar que no brindaran información poco confiable. Los valores de precisión obtenidos varían entre [1.68...7.62] y los de exactitud entre [0.00...0.04]. Estos son valores aceptables si consideramos que la precisión y exactitud perfectas son iguales a cero y los valores de las distancias fluctúan entre 30 y 670 unidades.

Tabla 3.

Distancia entre puntos obtenidas utilizando el Teorema de Pitágoras. Los puntos se observan en la Figura 2.

ALA 10 CARACTERES Ó VARIABLES	CABEZA 8 CARACTERES Ó VARIABLES	
10 distancias nombradas de la siguiente manera: H significa hemelitron y los números representan los puntos entre los cuales se obtuvo la distancia. H12, H13, H18, H19, H23, H25, H56, H57, H68, H89.	LT (Largo total) AC (Ancho del clipeo) PO (Distancia post ocular) TA (Largo tubérculo antenifero) AO (Distancia ante ocular) EO (Distancia externa entre los ojos) C49* C911* * sólo se midieron en los machos	distancia entre el punto medio de 1-12 al punto medio de 6-7 distancia entre 6 y 7 distancia entre 1 y 2 distancia entre 4 y 5 distancia entre 4 y 6 distancia entre 3 y 10 distancia entre 4 y 9 distancia entre 9 y 11

1.1.1. Análisis de los Datos

1.1.1.1. Morfometría Tradicional

Los valores de las distancias obtenidas a partir del Teorema de Pitágoras se transformaron en logaritmos naturales. "Esta transformación permite: 1) acercarse a la distribución normal, 2) homogeneizar las varianzas, 3)

comparar diferencias proporcionales en vez de diferencias absolutas y preservar alometrías" (Jaramillo 2000).

Posteriormente se procedió a revisar los datos para verificar si fueron registrados sin errores de medición o de escritura ó individuos atípicos (Dujardin 2000). Los individuos "atípicos", son aquellos tan particulares que pueden provocar resultados diferentes que los que se consiguen en su ausencia. Durante este estudio se detectaron individuos atípicos en los grupos de Alta Verapaz (3 machos y 2 hembras), Petén (1 hembra), Jutiapa (1 hembra). Estos individuos fueron eliminados de los análisis finales ya que provocaban distorsiones en las gráficas o impedían que los conjuntos de variables siguieran el modelo de componentes principales comunes utilizado en el estudio de morfometría tradicional.

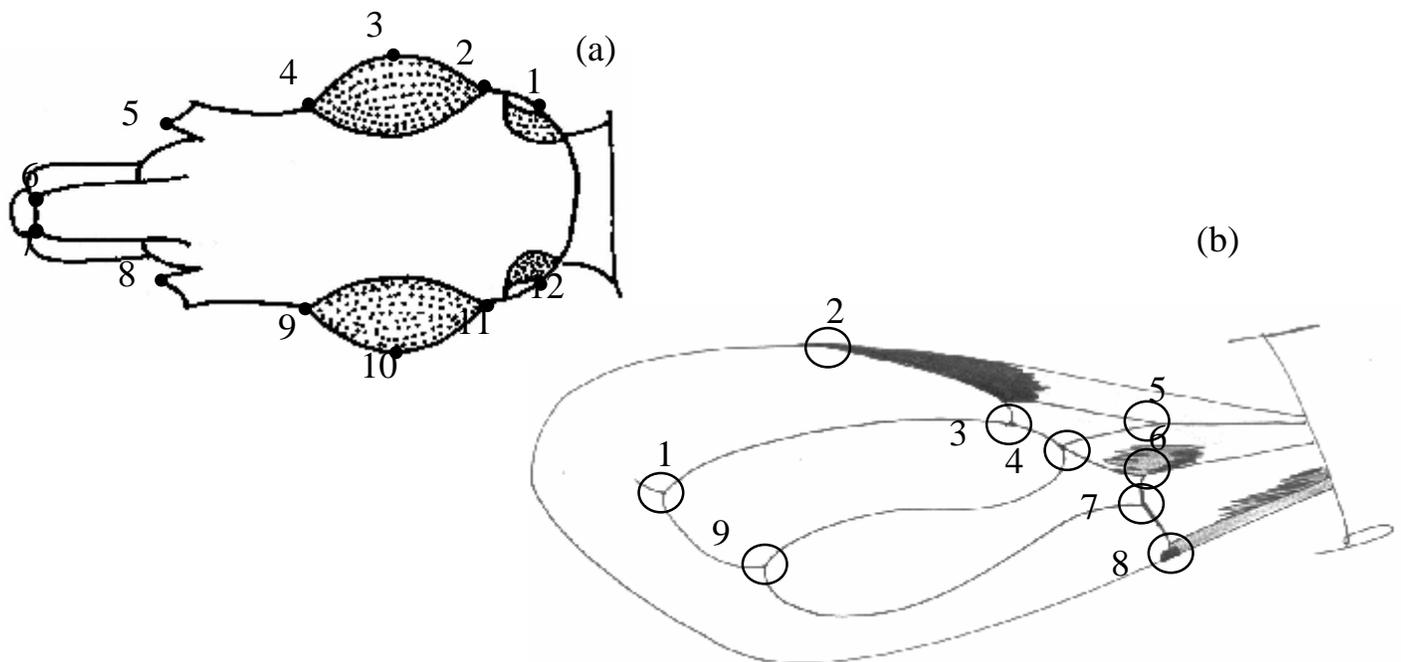


Figura 2. (a) Esquema de la ubicación de los puntos considerados en la cabeza de *T. dimidiata* (vista dorsal). (b) Esquema de los puntos en el *hemelitrón* izquierdo de *T. dimidiata*.

• Análisis Univariado

El análisis univariado se refiere a la comparación entre grupos para cada carácter separadamente. Habrá entonces tantas comparaciones entre grupos como caracteres utilizados (Dujardin 2000). Los datos fueron evaluados para conocer si podían aplicarse pruebas paramétricas, pero al no cumplirse los supuestos, se aplicó estadísticas no paramétrica.

2. Test U de Mann Withney

Se efectuaron comparaciones entre pares de grupos para cada caracter (para machos y hembras por separado) utilizando la prueba U de Mann Withney. Esta prueba es equivalente al test de t y su objetivo es probar si dos muestras independientes pertenecen a la misma población. El nivel de significancia (p) de la prueba es reportado con el valor de la significancia asintótica basada en la distribución asintótica, y típicamente un valor menor de 0.05 es considerado significativo. Cuando los tamaños de muestra son pequeños se reporta el valor de significancia exacta, basada en la distribución exacta (SPSS for Windows Help Topics, SPSS Inc. 1999). Los valores de significancia fueron corregidos utilizando un método secuencial tipo Bonferroni (Sokal & Rohlf 1995). Los métodos secuenciales tipo Bonferroni para la corrección del nivel de significancia se utilizan cuando las comparaciones univariadas no son independientes (caracteres correlacionados), y entonces debemos ajustar los valores de la probabilidad de cometer un error tipo I (α) (Sokal & Rohlf 1995).

3. Perfiles de Guillaumin

Para poder visualizar cómo se comportaban los caracteres en los grupos se realizaron perfiles de acuerdo al método de Guillaumin (Dujardin 2000). Cada perfil se construyó de la siguiente forma: (a) se estimó para cada variable, su promedio y desviación estándar total en conjunto para todos los grupos, (b) se estimó para cada variable, su promedio para cada grupo por separado, (c) para cada variable se graficó la diferencia, con signo, del promedio de cada grupo con el promedio total, dividido la desviación estándar total (Dujardin 2000).

Se realizó un perfil para las variables medidas sobre el ala y otro para las variables medidas sobre la cabeza, machos y hembras por separado. Estos perfiles permitieron visualizar las diferencias en tamaño general de un grupo en relación a los otros, indicando además cuales son las variables que podrían ser diagnósticas entre ciertos grupos.

- **Análisis Multivariado**

Los análisis multivariados se caracterizan por considerar muchas variables relacionadas (no independientes) simultáneamente, siendo cada una igualmente importante al principio del análisis (Manly 1986) (ver **ANEXO I**). El número de caracteres o variables a utilizar en un estudio de morfometría tradicional está en dependencia del tamaño de la muestra, ya que en los análisis estadísticos multivariados que toman en cuenta diferentes grupos, el número mínimo de individuos por grupo tendría que ser el doble del número de variables (Bookstein 1996, citado por Dujardin 2000). Por lo

tanto, en el presente estudio, se debió adecuar el número de variables al número de individuos disponibles. El factor limitante fue la población de Alta Verapaz, que contó con entre 5 y 7 insectos. Debido a esta limitación se decidió efectuar comparaciones incluyendo y excluyendo a este grupo.

Incluyendo al grupo de Alta Verapaz se efectuaron análisis discriminantes en base a cinco ó seis variables medidas sobre el ala y seis ú ocho caracteres medidos sobre la cabeza (Tabla 4). 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).

Los métodos de corrección del tamaño buscan eliminar las diferencias alométricas intragrupo, es decir las diferencias entre los individuos del mismo grupo provocadas por diferencias en las condiciones durante el crecimiento. En este trabajo se utilizaron dos métodos de corrección:

4. el método de Klingenberg (1996), el cual busca la eliminación del efecto del crecimiento implícito en los datos multivariados proyectando los puntos de datos sobre un espacio ortogonal al vector de crecimiento. El vector de crecimiento será el primer componente principal común (CPC1) derivado de un análisis de componentes principales comunes (ACPC). El resto de componentes son considerados como representaciones de aspectos significativos de la forma ó *variables de forma*, y pueden ser utilizados como datos en un análisis discriminante. Para poder aplicar este método se tiene que probar *a priori* la compatibilidad de los datos con el modelo de componentes principales comunes.
5. El método de Mossiman se aplicó únicamente a los datos de la cabeza de los machos ya que no fueron compatibles con el modelo de componentes principales comunes. Mossiman (1970, citado por Dujardin 2000), indica que la conformación ó silueta (C) puede ser definida de la siguiente manera:

$$C = X/T$$

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

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

Es posible entonces obtener *variables de conformación* (logC) al transformar en logaritmo los valores de las distancias que hemos medido y restarles el valor de la variable de tamaño global. En este

estudio, la variable de tamaño global utilizada fue el promedio de todas las distancias medidas para un individuo, denominada *tamaño isométrico*. Las variables de conformación deben luego ser sometidas a un análisis de componentes principales (ACP), encontrándose que el último de los componentes principales no contribuye a la variación de los datos. Este componente puede ser excluido de los análisis. Los componentes principales que sí contribuyen a la variación pasan a denominarse *componentes de conformación* y pueden ser utilizados como datos en un análisis discriminante.

En ambos métodos de corrección del tamaño, se generan después del análisis discriminante, factores discriminantes. Para examinar la posición relativa de los grupos, unos respecto a los otros, los individuos pueden ser proyectados en diagramas de dispersión sobre los dos primeros factores discriminantes. Polígonos representando a los grupos pueden ser construidos al unir con líneas los puntos de los individuos más externos de cada grupo.

Tabla 4.

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 3.

GRUPOS COMPARADOS ^a	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: H12 H18 H23 H39 H57 H68	Hembras EO AO TA AC PO LT	Machos* EO AO TA AC PO LT C911 C49

^a 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.

1.1.1.1. Morfometría Geométrica

Para los análisis de morfometría geométrica, Dujardin (2000) recomienda que el número de individuos debe ser cuatro veces mayor que el número de variables. En este caso cada variable está representada por un punto sobre el objeto, es decir que en este estudio se podían utilizar de 5 a 6 puntos, a merced de excluir el grupo de Alta Verapaz, que tenía pequeño tamaño de muestra (5 a 7 insectos). Para el resto de grupos se seleccionaron seis puntos sobre la cabeza y seis puntos sobre el ala para efectuar los análisis. Los puntos seleccionados fueron (ver Figura 2): (a) cabeza: 1, 3, 6, 7, 10, 12, (b) ala: 1, 2, 5, 6, 7, 9.

El procedimiento geométrico seguido, para el ala y la cabeza por separado, en general perseguía utilizar los componentes uniformes y no uniformes de la conformación como variables para representar la variación de la forma, de acuerdo al método descrito en Rohlf *et al* (1996). Los componentes de conformación uniforme 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; Slice *et al* 1998).

Estos componentes se obtuvieron al ingresar las matrices de coordenadas (x,y) en el programa tpsRegr[©] (Rohlf 2001). Los componentes uniformes y no uniformes de la conformación fueron entonces utilizados como datos en un análisis discriminante, para estudiar las diferencias entre los grupos. Los individuos se proyectaron en diagramas de dispersión sobre los dos primeros factores discriminantes para examinar la posición relativa de los grupos. Se construyeron polígonos al unir los puntos de los individuos más externos de cada grupo.

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.

1.1.1.2. Programas de Computadora

Los procedimientos fueron efectuados en programas de computadora de la siguiente manera:

- (a) SPSS for Windows 10.1 (SPSS Inc. 1999): pruebas U Mann Witheney, análisis de componentes principales, análisis discriminantes, gráficos Boxplot.

- (b) NTSys pc 2.02j (Rohlf 1998): análisis de componentes principales comunes.
- (c) TpsRegr: estimación del tamaño centroide, de los componentes uniformes y no uniformes de la conformación, regresiones, elaboración de representaciones pictóricas (rejillas). (Este programa es de dominio público y puede adquirirse en la dirección de Internet <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>);
- (d) Microsoft Excel: diagramas de dispersión.

1.2. Asimetría Morfométrica

Para el estudio de asimetrías se utilizaron las alas de los insectos montados para morfometría. Se seleccionó una muestra de la siguiente forma:

LOCALIDAD	MACHOS	HEMBRAS
Agua Zarca, Santa María Ixhuatán, Santa Rosa	20	20
Yaxhá, Melchor de Mencos, Petén	20	20
Aldeas del sur del Quiché	20	20
Grutas de Lanquin, Lanquin, Alta Verapaz	5	7

En este estudio también se incluye el ala derecha, para poder estudiar la asimetría entre alas izquierdas y derechas. Cada ala se analizó dos veces.

Para los estudios de asimetrías se seleccionaron las siguientes distancias medidas (caracteres) entre puntos de las alas (ver Figura 2):

24 distancias: H12, H13, H14, H15, H18, H19, H23, H24, H25, H28, H29, H34, H35, H38, H39, H45, H48, H49, H58, H59, H68, H69, H78, H79. (Nombradas de la siguiente manera: H significa hemelitrón y los números representan los puntos entre los cuales se obtuvo la distancia.)

Posteriormente, para cada población y cada carácter por separado, se realizó un análisis factorial (ANDEVA de dos vías) con la posición del ala (lado) y los individuos como factores. Se determinó:

- 1.1. la no existencia de diferencias (simetría),
- 1.2. la existencia de diferencias entre los lados (indicativo de asimetría direccional),
- 1.3. la existencia de interacción entre los factores (indicativo de asimetría no direccional).

Para aquellas variables que presentaran asimetría no direccional, fue estudiada su distribución utilizando la prueba de Kolmogorov Smirnov (Daniel 1998). Si la distribución era normal, se atribuyó asimetría fluctuante al carácter; si la distribución era bimodal, se atribuyó antisimetría.

Para los caracteres que presentaron asimetría fluctuante se estimó un índice de asimetría (varianza de interacción menos el error dividido entre el error); los valores de estos índices para cada población fueron representados en histogramas.

Los programas de computadora utilizados para los análisis y manejo de los datos fueron Microsoft Excel y SPSS for Windows.

1.4. PCR-RAPD's

1.4.1.Extracción de ADN

Se seleccionaron 30 individuos de cada población a estudiar (Petén, Lanquín, Quiché, Agua Zarca, Jutiapa y Santa Rosa de Lima) y se extrajo el ADN de las patas, de acuerdo al siguiente criterio: Adultos y 5° Estadio: 2 patas. / 4 y 3° estadio: 3 patas / 2°: 4 patas / 1° estadio: el individuo entero. Se colocaron las muestras en tubos eppendorf debidamente rotulados y se lavaron con etanol al 95%. Luego se les agregó 100 μ L de buffer de extracción macerando las muestras con pistilos estériles. Para inhibir la acción de las algunas nucleasas que pudieron haber quedado en la solución, se conservaron las extracciones en hielo. Posteriormente las muestras se centrifugaron y calentaron en baño maría. A continuación se agregó K-Acetato para precipitar las proteínas. El sobrenadante se transfirió a un tubo con etanol frío al 95%. Para precipitar el ADN. Después de centrifugar otra vez, se descartó el sobrenadante, se lavó el precipitado (hebras de ADN) en etanol al 70% y al 95% sucesivamente. Se dejó evaporar el etanol. Finalmente se disolvió la pastilla de ADN en TE ARNasa y se guardaron las muestras a -20°C hasta su utilización.

Amplificación de ADN

1.4.1.1. Preparación de Master Mix

Para realizar una amplificación de 25 muestras se prepara una solución madre que servirá para 25 tubos de PCR ("MicroAmp" de 200 μ l). Esta solución se denomina "Master Mix". Para prepararla se trabajó en una campana de luz ultravioleta que está libre de ADN. Los componentes del

Master Mix son: H₂O para PCR, Thermo Buffer PCR 1X, MgCl₂ 1.5 mM, dNTP's (200 µL), Iniciadores (400 pMol).

La solución de Master Mix se prepara en tubos "eppendorf" de 1.5 mL. Para 25 reacciones contiene la siguiente mezcla.

Reactivo	Volumen para 25 tubos de PCR
H ₂ O	784.5 µl
Thermo Buffer	100 µl
MgCl ₂	30.0 µl
dNTP's	8.0 µl
Iniciadores*	2.5 µl

* **L1,L4, L5 o H3 dependiendo del que se quiera utilizar.**

A continuación se seleccionaron los tubos de PCR ("MicroAmp" de 200 µl) que se utilizaron y se rotularon numerándolos de 1 a 24. Se agregó a los tubos la cantidad de Master Mix (MMx) estandarizada. (37 µl). Los tubos se colocaron en "rackets" de duroport.

1.1.1.1. Amplificación

Se agregan 2 µL de ADN a los tubos con el Master Mix alicuotado (una muestra de ADN diferente por tubo de PCR). Para iniciar la amplificación en el termociclador, una vez alcanzada la temperatura de 80°C se colocó el racket del termociclador en el aparato y se agregaron 2 µl de enzima Taq polimerasa a cada tubo. Para todos los iniciadores, excepto el H3, se utilizaron las mismas condiciones de temperatura de PCR. Después de cada amplificación de 4 horas de duración, las muestras se almacenaron a -20°C.

Corrimiento y Análisis de Geles

Las muestras se corrieron en geles de agarosa (Low EEO) al 1.5%. El montaje de los pozos se hizo con el gel sumergido en la cámara de corrida con el buffer TBE al 0.5%. Se tomaron 10 µL de cada muestra mezcladas con 2 µL de "Loading Dye" y se vertieron en los pozos. En los extremos de los geles se colocaron dos marcadores moleculares, para el análisis de datos. Los marcadores que se utilizaron fueron "EZ Load" de 100 pares de bases (pb) es y "φ-X 174" que abarca un rango de 72-1753 pb. Se depositaron 2 µl del primer marcador y 2 µl del segundo. Después del montaje de muestras se realizaron los corrimientos en el aparato de electroforesis a 100 voltios, por aproximadamente dos horas.

Posteriormente los mismos se tiñeron en bromuro de etidio, por aproximadamente media hora. Una vez teñidos, se colocan en un transiluminador mediante el cual se pueden visualizar las bandas obtenidas y se procede a tomar las fotografías con una cámara digital (*Olympus*). Las fotos se almacenaron en la computadora por medio del programa CAMEDIA, en formato JPG.

Las fotografías fueron transformadas al formato "Tiff" y se trasladaron al programa "Scanalytics Gene Profiler", en donde las imágenes de los geles se analizaron y prepararon para el procesamiento de datos.

Posteriormente cada una de las imágenes de geles analizados, se trasladaron al programa "Gene Profiler Database Manager". Se creó de esta forma una base de datos de los individuos y las bandas que producen según cada iniciador. El programa realiza comparaciones de las bandas encontradas entre todas las poblaciones y los iniciadores con los que se realizó la amplificación. Posteriormente se elabora una matriz de 0 (ausencia de banda) y 1 (presencia de banda). Con esta matriz se calculó el índice de Nei, con el cual se elaboró un dendrograma, que es un árbol filogenético donde se encuentran las poblaciones agrupadas según la distancia genética que las separa, es decir que indica la proximidad entre las poblaciones.

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

1.2. Morfometría Tradicional

1.2.1. Análisis Univariado

1.2.1.1. Patrones detectados en las comparaciones univariadas utilizando el Test U de Mann Withney (Tablas 5 y 6)

- **Grupos con baja diferenciación**

Al comparar Agua Zarca y Santa Rosa de Lima encontramos que muy pocos caracteres *no* presentan la misma distribución poblacional en ambos grupos: 5 de 44 caracteres para los machos y 3 de 42 caracteres para las hembras. Esto indica que prácticamente no existen diferencias métricas entre los insectos de estas localidades. Las diferencias métricas significativas entre (a) Jutiapa y Alta Verapaz y (b) Quiché y Alta Verapaz también son relativamente pocas: 13/42 hembras, 10/44 machos, 16/42 hembras y 12/44 machos respectivamente.

- **Grupos con alta y media diferenciación**

Por otro lado, al observar los resultados de las comparaciones Petén-Quiché, Petén-Santa Rosa de Lima, Quiché-Santa Rosa de Lima, Jutiapa-Petén, Alta Verapaz-Petén y Agua Zarca-Petén se encuentra 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.

1.2.1.2. Patrones detectados en los Perfiles de Guillaumin (Gráfica 1)

Los perfiles de Guillaumin ilustran las tendencias de los caracteres medidos. 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.

1.2.2. Análisis Multivariado

Los resultados de los análisis multivariados se presentan en las Gráficas 2, 3 y 4. La significancia de los análisis se muestra en la Tabla 7, donde se presentan los valores de Wilks' Lambda, Kappa, porcentaje de variación que representan los factores discriminantes 1 y 2 (ver **ANEXO I**, inciso 13.1.3.), y el residuo alométrico para el caso de la corrección del tamaño por el método de Mossiman para las cabezas de los machos.

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 tiende a diferenciarse un poco 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 Gráfica 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 7 permiten asegurar que la discriminación de los grupos observada en los análisis de las Gráficas 2 y 4, es significativa

(valores de Wilks' Lambda cercanos a cero, sig. < 0.05) y que la reclasificación generada es sustancial o moderadamente diferente a una reclasificación producida al azar (valores de Kappa entre 0.48 – 0.67, sig. < 0.05). Además, los factores discriminante representan muy bien la variación intra grupo, ya que los porcentajes de la variación acumulada de ambos, supera el 80%.

Para el caso de la corrección del tamaño según Mossiman, (cabeza de los machos), la estimación del residuo alométrico (mostrada en la Tabla 7) brinda un valor de 28.7%, lo que indica una contribución moderada del tamaño en la discriminación observada.

1.3. Morfometría Geométrica

Los resultados de los análisis discriminantes basados en los componentes uniformes y no uniformes de la conformación se presentan en la Gráfica 5, y los valores de Wilks' Lambda, Kappa, porcentaje de variación de los factores discriminantes 1 y 2, y residuo alométrico se presentan en la Tabla 8.

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 permite diferenciar el grupo de insectos silvestres de Petén de los insectos domésticos, ya que el polígono que representa este grupo se separa inequívocamente de los demás.

Los estadísticos de la Tabla 8 permiten indicar que la discriminación de los grupos en base a la conformación de la cabeza es bastante buena (valores de Wilks' Lambda de 0.2 aproximadamente, sig. < 0.05), con una reclasificación moderada con buenas probabilidades de ser diferente a una reclasificación obtenida al azar (valores de Kappa entre 0.46 – 0.50, sig. < 0.05). Además los factores discriminantes 1 y 2 representan más del 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.

El análisis discriminante mostró que existen diferencias de conformación entre el grupo de insectos silvestres del Petén y los grupos domésticos. Para describir **cómo** son estas diferencias en la cabeza 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 6.

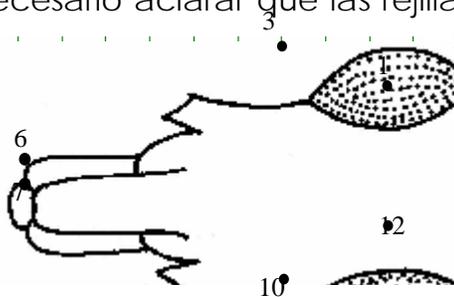


Figura 6. Analogía de cómo las rejillas representan el perfil de la cabeza, a partir de los puntos seleccionados.

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 cílopeo (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.

1.4. Asimetría Morfométrica

En la tabla 9 se muestran los estados de simetría o asimetría de los 24 caracteres del ala seleccionados en dos poblaciones domésticas (Agua Zarca y Quiché) y dos poblaciones silvestres (Alta Verapaz y Petén). En las Gráficas 8 y 9 se graficaron los índices de asimetría fluctuante para cada carácter.

Los resultados sugieren que el grupo del Petén tiende a ser el más simétrico ya que presenta 8 caracteres simétricos para los machos y, respecto a la asimetría fluctuante, nunca (a excepción de 3 casos) presenta índices superiores al resto de los grupos.

El grupo de insectos silvestres de Alta Verapaz presenta patrones interesantes. Los machos presentan 7 caracteres simétricos (casi el doble que los domésticos), pero al observar los índices de asimetría fluctuante encontramos que es el grupo que presenta mayoría de valores grandes en comparación con el resto de los grupos.

Los grupos domésticos presentan relativamente pocos caracteres simétricos, y en aproximadamente el 50% de los caracteres, son los que presentan mayores índices de asimetría fluctuante.

Respecto a la asimetría direccional (diferencia entre lados) pocos caracteres presentaron este tipo de asimetría.

En el caso de antisimetría se presentaron algunos casos. Se cree que este resultado podría deberse más al pequeño tamaño de las muestras (especialmente de Alta Verapaz) que a un verdadero caso de antisimetría.

8.4. PCR-RAPD'S

Tabla 10.

Número de individuos cuyo ADN fue amplificado exitosamente con cuatro iniciadores diferentes.

	INICIADORES			
	L1	H3	L4	L5
Agua Zarca	25	19	24	26
Quiché	26	24	25	29
Alta Verapaz	21	17	22	21
El Petén	26	26	25	24
Sta. R Lima	20	19	20	19
Jutiapa	20	17	17	22
TOTAL	138	122	133	141

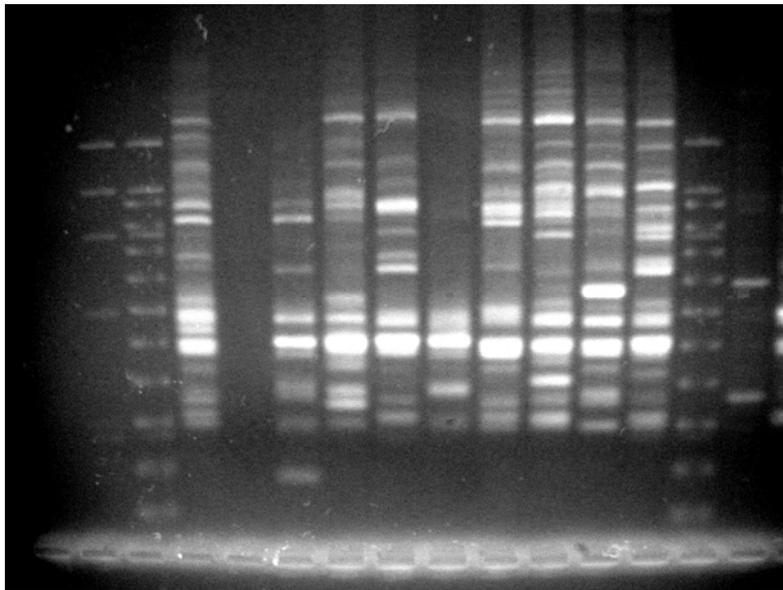


Foto 1. Fotografía mostrando la electroforesis de las bandas amplificadas por RAPDs.

Tabla 11.

Frecuencias alélicas de 84 loci de especímenes de *Triatoma dimidiata* en seis regiones geográficas diferentes

		POBLACIONES DOMÉSTICAS				POBLACIONES SILVESTRES	
		Agua Zarca f (p)	Jutiapa f (p)	Quiché f (p)	Sta. R. Lima f (p)	AV f (p)	Petén f (p)
1	L1-16	0.020	0.452	0.039	0.368	0.049	0.101
2	L1-20	0.000	0.329	0.000	0.134	0.127	0.168
3	L1-24	0.128	0.408	0.266	0.225	0.074	0.445
4	L1-25	0.000	0.106	0.000	0.025	0.074	0.019
5	L1-26	0.020	0.000	0.039	0.134	0.024	0.000
6	L1-27	0.307	0.329	0.039	0.225	0.310	0.240
7	L1-28	0.020	0.025	0.000	0.134	0.049	0.000
8	L1-29	0.471	0.684	0.380	0.452	0.782	1.000
9	L1-30	0.041	0.163	0.145	0.051	0.213	0.039
10	L1-31	0.000	0.025	0.000	0.000	0.000	0.000
11	L1-32	0.000	0.025	0.019	0.051	0.127	0.019
12	L1-38	0.400	0.452	0.380	0.408	0.622	0.520
13	L1-42	0.654	0.293	0.445	0.408	0.782	0.608
14	L1-44	0.717	1.000	0.804	0.776	0.310	0.723
15	L1-47	0.000	0.134	0.000	0.000	0.000	0.000
16	L1-50	0.175	0.553	0.445	0.553	0.512	0.350
17	L1-51	0.252	0.106	0.293	0.134	0.127	0.240
18	L1-53	0.200	0.134	0.293	0.000	0.000	0.080
19	L1-58	0.083	0.258	0.266	0.106	0.100	0.080
20	L1-60	0.000	0.078	0.101	0.051	0.024	0.145
21	L1-65	0.041	0.078	0.039	0.106	0.000	0.000
22	L1-71	0.279	0.452	0.561	0.613	0.276	0.380
23	L1-74	0.106	0.000	0.019	0.000	0.074	0.019
24	H3-8	0.000	0.657	0.000	0.487	0.272	0.039
25	H3-11	0.000	0.000	0.000	0.239	0.061	0.191
26	H3-12	0.000	0.061	0.021	0.239	0.000	0.019
27	H3-13	0.027	0.515	0.000	0.142	0.093	0.059
28	H3-19	0.000	0.233	0.000	0.173	0.030	0.101
29	H3-26	0.000	0.160	0.021	0.275	0.030	0.019
30	H3-28	0.000	0.030	0.110	0.000	0.030	0.101
31	H3-31	0.771	0.657	0.460	1.000	0.160	0.350
32	H3-33	0.771	0.272	0.323	0.487	1.000	1.000
33	H3-34	0.000	0.126	0.043	0.142	0.196	0.123
34	H3-35	0.771	0.580	0.646	0.541	0.757	0.804
35	H3-36	0.000	0.000	0.087	0.054	0.061	0.191
36	H3-38	0.676	0.126	0.134	0.275	0.458	0.804
37	H3-39	0.054	0.160	0.043	0.027	0.061	0.000
38	H3-44	0.082	0.000	0.021	0.142	0.000	0.019
39	H3-45	0.000	0.406	0.043	0.239	0.093	0.080
40	H3-46	0.676	0.061	0.264	0.351	0.458	0.608
		Agua Zarca	Jutiapa	Quiché	Sta. R. Lima	AV	Petén
41	H3-47	0.027	0.000	0.134	0.000	0.030	0.019

42	H3-51	0.054	0.000	0.087	0.111	0.196	0.039
43	H3-52	0.027	0.196	0.043	0.351	0.126	0.039
44	H3-53	0.173	0.093	0.065	0.111	0.030	0.168
45	H3-55	0.082	0.126	0.134	0.054	0.000	0.145
46	H3-58	0.054	0.000	0.110	0.000	0.030	0.000
47	H3-62	0.000	0.000	0.000	0.000	0.160	0.039
48	H3-69	0.000	0.000	0.000	0.142	0.030	0.019
49	H3-72	0.312	0.000	0.087	0.111	0.000	0.019
50	H3-74	0.000	0.160	0.000	0.054	0.000	0.000
51	H3-98	0.351	0.000	0.158	0.000	0.000	0.019
52	L4-17	0.021	0.580	0.200	0.776	0.023	0.00
53	L4-28	0.043	1.000	0.128	0.613	0.023	0.00
54	L4-31	0.000	0.458	0.000	0.025	0.000	0.00
55	L4-35	0.388	0.030	0.553	0.000	0.202	0.34
56	L4-39	0.544	1.000	0.800	1.000	0.436	0.72
57	L4-42	0.087	0.657	0.225	0.000	0.071	0.00
58	L4-43	0.000	0.000	0.128	0.000	0.000	0.00
59	L4-54	0.423	0.515	0.368	0.134	0.174	0.06
60	L4-62	0.209	0.126	0.175	0.051	0.000	0.00
61	L4-63	0.000	0.126	0.020	0.025	0.000	0.00
62	L4-71	0.184	0.272	0.062	0.025	0.202	0.15
63	L4-72	0.209	0.160	0.151	0.106	0.147	0.13
64	L5-5	0.000	0.000	0.017	0.000	0.000	0.000
65	L5-11	0.019	0.023	0.000	0.027	0.127	0.000
66	L5-19	0.000	0.047	0.000	0.205	0.100	0.000
67	L5-22	0.000	0.202	0.109	0.111	0.100	0.000
68	L5-25	0.350	0.174	0.149	0.351	0.155	0.264
69	L5-29	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.184
70	L5-30	0.101	0.174	0.090	0.487	0.024	0.264
71	L5-33	0.321	1.000	0.149	1.000	0.244	0.323
72	L5-36	0.191	1.000	0.281	1.000	0.423	0.423
73	L5-37	0.481	0.631	0.678	0.603	0.244	0.388
74	L5-39	0.019	0.202	0.053	0.173	0.310	0.110
75	L5-40	0.608	0.698	0.585	1.000	0.691	0.796
76	L5-42	0.723	1.000	0.814	1.000	0.512	0.500
77	L5-44	0.380	0.047	0.330	0.275	0.244	0.110
78	L5-45	0.660	0.478	0.330	0.603	0.465	0.323
79	L5-48	0.191	0.121	0.035	0.173	0.024	0.043
80	L5-50	0.059	0.147	0.129	0.000	0.000	0.134
81	L5-65	0.080	0.071	0.072	0.111	0.000	0.000
82	L5-66	0.101	0.000	0.053	0.027	0.000	0.000
83	L5-67	0.293	0.174	0.257	0.275	0.049	0.184
84	L5-68	0.000	0.000	0.000	0.000	0.244	0.065

Loci

Pob. Domésticas

Pob. Silvestres

f(p) Frecuencia "p" del Alelo Dominante

Tabla 12.

Identidad genética de Nei entre individuos *Triatoma dimidiata* de seis regiones geográficas diferentes.

	AGUA ZARCA	JUTIAPA	QUICHÉ	STA. R. LIMA	PETÉN	ALTA VERAPAZ
Agua Zarca	X	0.898	0.974	0.927	0.974	0.967
Jutiapa	0.898	X	0.925	0.963	0.902	0.900
Quiché	0.974	0.925	X	0.935	0.972	0.957
Sta. R. Lima	0.927	0.963	0.935	X	0.927	0.920
Petén	0.974	0.902	0.972	0.927	X	0.980
Alta Verapaz	0.967	0.900	0.957	0.920	0.980	X

Tabla 13.

Distancia genética de Nei entre individuos *Triatoma dimidiata* de seis regiones geográficas diferentes.

	AGUA ZARCA	JUTIAPA	QUICHÉ	STA. R. LIMA	PETÉN	ALTA VERAPAZ
Agua Zarca	X	0.107	0.027	0.076	0.027	0.034
Jutiapa	0.107	X	0.078	0.038	0.103	0.105
Quiché	0.027	0.078	X	0.067	0.029	0.044
Sta. R. Lima	0.076	0.038	0.067	X	0.076	0.084
Petén	0.027	0.103	0.029	0.076	X	0.020
Alta Verapaz	0.034	0.105	0.044	0.084	0.020	X

DISCUSION DE RESULTADOS

El principal objetivo de este trabajo era evaluar la existencia de diferencias (métricas, genéticas y de comportamiento) entre poblaciones silvestres y domésticas de *Triatoma dimidiata* en Guatemala, utilizando métodos fenéticos (morfometría, asimetrías), genéticos (PCR-RAPD's) y observaciones de su comportamiento. La dilucidación de las relaciones que existen entre las poblaciones es información base muy importante para apoyar la campaña nacional de control que se inició en nuestro país en el año 2000. El conocer cómo están estructuradas las poblaciones (aisladas, conectadas por el movimiento de insectos entre ellas) es muy importante para comprender los fenómenos durante una potencial reinfestación después del tratamiento control.

Morfometría

La morfometría es uno de los métodos prácticos y económicos recomendados por otros investigadores (Casini *et al* 1995; Dujardin *et al* 1997a) para la vigilancia entomológica durante las campañas de control. En esta investigación, la morfometría fue una herramienta útil en la diferenciación tanto entre los dos grupos silvestres, como entre silvestres y domésticos.

La naturaleza de las diferencias encontradas se refiere a formas (siluetas) de la cabeza y el ala. El estudio con morfometría tradicional reveló que los insectos de cuevas de Lanquín, Alta Verapaz, presenta una forma inequívocamente distinta (Gráfica 2); además, los perfiles de Guillaumin (Gráfica 1) muestran que este grupo presenta tendencias no paralelas en sus caracteres, lo cual hace dudar de su estatus taxonómico como una misma especie con el resto de poblaciones. En los perfiles de Guillaumin se espera que poblaciones conoespecíficas presenten tendencias paralelas cercanas al nivel cero (Dujardin & LePont 2000).

Después de aplicar análisis de corrección del tamaño (Rohlf 1990), la morfometría tradicional reveló que el grupo de Petén, también presenta una forma diferente, pero en este caso solamente para las cabezas. La morfometría geométrica permitió describir que la cabeza de estos insectos es más pequeña, corta y ancha que la de los insectos domésticos.

Entre grupos domésticos las diferencias detectadas no fueron tan drásticas como aquellas con los silvestres, sin embargo, si fue posible observar (por medios univariados y multivariados) una tendencia del grupo de El Quiché a diferenciarse de las poblaciones domésticas del sur (Agua Zarca, Santa

Rosa de Lima y Jutiapa). Esta separación es más constante respecto a Agua Zarca. Investigaciones previas (Bustamante 2001) nos permiten indicar que estas diferencias se deben a que el grupo de El Quiché presenta un mayor tamaño global, debido a que se desarrolla en climas templados, lo cual va de acuerdo con la regla de Bergmann, una regla biológica que indica que los organismos de una especie viviendo en climas cálidos serán en promedio más pequeños que aquellos en climas fríos (Daly 1985).

La cabeza es la estructura anatómica que proporcionó mejor separación entre los grupos. La explicación a este fenómeno podría encontrarse en el determinismo biológico de las estructuras estudiadas. En la cabeza se encuentran los órganos sensoriales que ponen al insecto en contacto con su ambiente, por lo que están sometidos a diferentes presiones selectivas a medida que los ambientes son disímiles (una casa, una cueva, una selva). Por otro lado la función del ala no cambia, sea cual sea el ambiente siempre es la misma, el vuelo. Por lo tanto, este trabajo nos permitió determinar que la cabeza es la estructura que nos permitirá la mejor diferenciación para futuros estudios.

Uno de los objetivos de este trabajo fue determinar que caracteres morfométricos permiten una mejor diferenciación entre insectos domésticos y silvestres. En la cabeza, las mediciones más útiles serán aquellas que nos indican el ancho y el largo de la misma, por ejemplo, la distancia externa entre los ojos (EO) y el largo total (LT). La distancia post ocular medida hasta el ocelo (PO), es la medición que brindó menor separación univariada entre las poblaciones.

La clara diferencia entre las poblaciones silvestres y domésticas, en base a la forma de la cabeza (ancho y largo) de las muestra analizadas, nos indica que muy probablemente no hay chinches silvestres invadiendo las viviendas humanas en las áreas estudiadas. Este dato tiene mucha importancia a nivel de programa de control, ya que nos dirige a enfocarnos más en detalle hacia las poblaciones peridomiciliares (gallineros, establos, cochiqueras, etc.) y las mismas poblaciones domiciliadas: investigar su dinámica dentro de los asentamientos humanos y dilucidar aquellos focos donde puedan existir colonias con mayores tasas de natalidad y emigraciones (posibles focos de reinfestaciones).

Respecto a las diferencias entre chinches silvestres, aquellas del Petén son mucho más pequeñas y con la cabeza más corta y ancha, que las chinches de Lanquín, A.V., las cuales a su vez son grandes, con cabeza larga y ojos pequeños. Estas diferencias podrían haber surgido debido a la

adaptación a su ambiente silvestre particular. Por ejemplo, las chinches de Petén ocupan mayor diversidad de hábitats dentro de la selva tropical: brácteas de palmeras, chultunes (pequeñas cuevas en el suelo), acumulo de piedras, acumulo de madera podrida, etc.; por otro lado, las chinches de Lanquín se desarrollan en cuevas con temperaturas estables y oscuridad permanente.

Las chinches de cuevas nunca se han encontrado fuera de ellas. En Petén, las chinches eventualmente llegan a las viviendas atraídas por la luz pero raramente colonizan la vivienda. Esto concuerda con los datos obtenidos del estudio de asimetrías, los cuales indican que estos insectos están bien adaptados a su ambiente silvestre.

En el área de Lanquín existen por los menos dos poblaciones diferenciables: (a) grupo de cuevas y (b) aquellas en ambiente silvestre alrededor de las cuevas y que eventualmente pueden encontrarse en las viviendas humanas. Insectos de este último grupo fueron colectados (con trampas de luz) y fueron considerados inicialmente para este trabajo, sin embargo resultaron ser individuos atípicos (ver inciso 7.1.3.1.), diferenciables, respecto a aquellos de cuevas, por lo que fueron excluidos del análisis. Esto nos indica que en localidades como Lanquín, debemos enfocarnos en el estudio de chinches peridomiciliares o chinches que puedan ser colectadas con trampas de luz y no aquellas de ambientes muy estables como las cuevas.

Los análisis morfométricos mostraron que las diferencias métricas entre poblaciones domésticas son muy débiles o casi inexistentes, lo cual indica que no pueden ser fácilmente diferenciables y que posiblemente existen altas tasas de intercambio o movimientos de insectos entre los asentamientos humanos: aldeas y casas. Los resultados de asimetrías nos muestran que es más probable que estos movimientos se den caminando ó por dispersión pasiva (lo que se traduce en insectos con alas asimétricas) y no por medio del vuelo.

Este resultado respecto a las poblaciones domésticas apoya la idea de Schofield (2000), quien indica que *Triatoma dimidiata* podría estructurarse como un conjunto de subpoblaciones con bajo flujo genético entre si. Esta estructuración encaja en el concepto de metapoblación. De acuerdo a Gorla (1999), en el contexto de la biología de triatomos domésticos, una metapoblación estará constituida por las subpoblaciones que ocupan cada una de las viviendas de un población (si no existirá transporte activo o pasivo capaz de transportar a un triatomo colonizador a un poblado diferente) o por el conjunto de subpoblaciones que viven en poblados conectados por vías de dispersión activa/pasiva de los triatomos.

El estudio de triatominos bajo el enfoque de metapoblaciones apenas empieza y se perfila como un esquema adecuado para la comprensión de las dinámicas poblacionales y la manera como podrían estar definidas las subpoblaciones. De acuerdo a estudios genéticos efectuados por Dorn *et al* (2001 comm. pers.), las subpoblaciones podrían estar definidas a nivel de aldeas y no de casas.

El hecho de que las poblaciones domésticas presenten una forma de la cabeza similar, a pesar de la distancia geográfica que las separa, también podría deberse a una evolución convergente; sin embargo, creemos que las observaciones en el campo acerca del comportamiento de esta especie apoya la teoría de flujo genético y metapoblaciones.

Las diferencias métricas entre poblaciones silvestres y domésticas, y el hecho de que estas diferencias podrían deberse a la adaptación a los ambientes disímiles en los que habitan, apoya la teoría propuesta por Dujardin *et al* (1999), quienes indican que la presión ecológica del ambiente es la principal fuerza modeladora de los procesos de especiación en triatominos. Se esperaría que las chinches silvestres en ambientes estables como cuevas, evolucionarían hasta desarrollar diferencias a nivel reproductivo y eventualmente constituirían otra especie del mismo género.

En los diferentes ecotopos (cuevas, casas, selva), el comportamiento de las chinches silvestres difiere del de las domésticas. Por ejemplo, las chinches silvestres de Petén tienden a tener mayor rango de movimientos por medio del vuelo; en cambio las chinches domésticas aparentemente tienen un rango de movimientos más limitados (insectos más asimétricos). La población de Lanquín parece estar adaptada a un ambiente muy estable del cual los insectos raramente salen.

Es necesario resaltar separadamente la importancia del grupo de Petén en la transmisión de la enfermedad, siendo aparentemente un grupo exclusivamente silvestre. La positividad para *T. cruzi* en el grupo del Petén 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). 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.

Asimetría Morfométrica

De acuerdo a Møller y Swaddle (1997) la asimetría fluctuante puede tener causas genéticas y ambientales. Además, aquellas estructuras con alta importancia funcional pueden estar ceñidas a un desarrollo más simétrico.

Entre las causas genéticas de la inestabilidad del desarrollo, que se traduce en asimetría, encontramos la pérdida de variación genética (poblaciones endogámicas), hibridación y mutaciones (Møller y Swaddle 1997).

Existen muchas causas ambientales que pueden resultar en inestabilidad del desarrollo, entre ellas (1) estrés en hábitats subóptimos, (2) temperaturas adversas, (3) estrés nutricional, (4) factores químicos, (5) alta densidad poblacional (Møller y Swaddle 1997).

La investigación del estado de asimetría en cuatro poblaciones (dos silvestres y dos domésticas) reveló que el grupo del Petén que se desarrolla en un ambiente silvestre, inestable, como lo es una selva tropical, es el que presenta patrones más cercanos al óptimo de simetría, ya que presenta mayor proporción de caracteres simétricos y menores valores de asimetría fluctuante.

El grupo del Petén se desarrolla en un ambiente inestable (impredecible desde el punto de vista del insecto), en el cual por ejemplo, podría estar sometido a estrés nutricional; sin embargo, sus alas son más simétricas que aquellos insectos viviendo en ambientes más predecibles (una cueva, una casa). Esto podría deberse a que los insectos de selva se encuentran óptimamente adaptados a este ambiente, manteniendo además la variabilidad genética; su genotipo expresa un fenotipo más cercano al

ideal en las condiciones dadas. Además, los procesos selectivos podrían estar favoreciendo los genotipos más simétricos en el ambiente silvestre.

Por otro lado, los insectos en casas o cuevas, pueden estar formando poblaciones endogámicas, reduciendo la variación genética y aumentando la inestabilidad del desarrollo de sus estructuras (alas en este caso). Además, en estos ambientes los insectos pueden estar expuestos a factores químicos (insecticidas), en algunos casos, a altas densidades poblacionales y también a estrés nutricional. En los ambientes domésticos podría haber menor presión de selección para genes de mayor simetría, lo que permitiría la sobrevivencia de individuos asimétricos.

Las alas son estructuras de importancia funcional para el vuelo. Esperaríamos que aquellas poblaciones que utilicen más esta función presentarán alas más simétricas. Por lo tanto, podemos concluir que los insectos en la población del Petén son posiblemente más activos volando. Se cree que esto se debe a que deben movilizarse en distancias más largas dentro de la selva en búsqueda de pareja o alimento. No existe información acerca de las distancias que esta especie es capaz de desplazarse por lo que necesita hacerse más investigación al respecto.

Aparentemente, los insectos en cuevas o casas, no utilizan tanto este mecanismo. Esto podría deberse a que las fuentes de alimento son más predecibles o utilizan también el caminar entre casas para movilizarse.

Respecto a las diferencias entre sexos, es posible visualizar que los machos presentan alas más simétricas que las hembras. Esto podría deberse a que los machos son los que se movilizan más, lo que va de acuerdo con las observaciones en el campo (Monroy obsv. pers.) y con lo reportado para otras especies (Schofield *et al* 1999). Aún no es bien comprendido por qué los machos son los que se dispersan más, porque que ellos no son capaces e fundar colonias (Schofield *et al* 1999). Investigaciones previas (Monroy *et al* datos no publicados) nos indican que los machos se dispersan en búsqueda de pareja, ya que una hembra es capaz de copular con varios machos.

En mención a lo que podemos interpretar del estado de simetría en los grupos de El Quiché y Alta Verapaz, encontramos que los machos del grupo de El Quiché presenta baja asimetría fluctuante, lo cual nos indica que son insectos que utilizan sus alas y por lo tanto son altamente móviles; lo contrario ocurre con los insectos de Alta Verapaz, son altamente asimétricos, lo que nos indica que son de poca movilidad, sedentarios, y se restringen al ambiente específico de la cueva. Esto conduce a indicar que

muy probablemente los insectos de cuevas no tienen importancia como vectores de *T. cruzi* al humano.

1.1. PCR-RAPD'S

El análisis de RAPD's mostró 84 loci con frecuencias por arriba de 0.1 en al menos una de las 6 poblaciones, los cuales se tomaron en cuenta como marcadores genéticos para calcular los índices y distancias genéticas de Nei. Las identidades genéticas de Nei muestran que todos los individuos de las seis poblaciones consideradas en el estudio pertenecen a la misma especie. De la misma forma, las distancias genéticas de Nei revelaron que los individuos de las 6 poblaciones están muy cercanos desde el punto de vista genético, que es imposible considerarlos como especies diferentes. Las poblaciones que fueron seleccionadas de diferentes regiones geográficas fueron agrupadas como una metapoblación con mucha similitud genética. Una metapoblación es homogénea genéticamente cuando existe un flujo migratorio importante entre los individuos de cada una de las poblaciones. El proceso de migración asegura que exista un intercambio de alelos entre los individuos, lo que impide que algunos alelos se vayan fijando en algunas poblaciones y que vayan desapareciendo otros en otras poblaciones. Este dato confirma la alta movilidad que se le ha atribuido a *T. dimidiata*, un aspecto que hay que considerar en la planificación de las estrategias de rociamiento.

A pesar de que las distancias genéticas son similares, es interesante constatar que las poblaciones silvestres, las poblaciones de Petén y de Alta Verapaz, presentaron mayor similitud genética entre sí que con el resto de poblaciones. Se ha observado que los individuos de Petén son muy móviles, contrariamente a los individuos de las cuevas de Lanquín, Alta Verapaz. Por lo tanto, si los insectos de Alta Verapaz y Petén resultaron ser muy semejantes y los individuos de Alta Verapaz son poco móviles, podría suponerse que los individuos de Petén están migrando hacia Alta Verapaz. Sin embargo, la mayoría de los autores creemos que este comportamiento es poco probable ya que los insectos del Petén presentan diferencias que sólo podrían surgir en un aislamiento relativo, como su tamaño reducido y pérdida de alelos; además este grupo tiende al movimiento constante y no a la permanencia.

La mayor similitud genética entre Petén y Alta Verapaz podría estar también originada en que las dos poblaciones son silvestres y que podrían estar más cercanas genéticamente al ancestro común, es decir que el centro de origen geográfico de la dispersión de *T. dimidiata* podría estar situado en las cercanías de Petén y Alta Verapaz.

También es interesante notar que dentro de las poblaciones domésticas, Agua Zarca y Quiché forman un grupo aparte de las poblaciones de Jutiapa y Santa Rosa de Lima. Estos datos podrían explicarse considerando que las poblaciones de Agua Zarca y Quiché están circunscritas a regiones menos extensas que Jutiapa y Santa Rosa de Lima, y que las primeras son bastante móviles entre casas de la misma región, lo que favorecería la mayor frecuencia de algunos alelos en esas poblaciones.

Desde el punto de vista genético, es importante resaltar que las seis poblaciones no pudieron diferenciarse significativamente, lo que globalmente reflejaría una migración importante entre los individuos de esas poblaciones geográficas.

Genéticamente las seis poblaciones estudiadas son muy similares lo que indica las poblaciones más móviles son las que hay que considerar como fuentes de reinfestación

1.2. Discusión conjunta Morfometría-Asimetría-PCR-RAPD's

1.2.1. Grupos Silvestres

Se ha planteado la posibilidad (Berges 2000) que el *T. dimidiata* de Yucatán, México, al igual que el del Peten, Guatemala, puedan tratarse de otra especie de triatomino. En nuestro trabajo queda claro en base a la distancia genética de Nei que se trata de la misma especie. Este trabajo confirma la ubicación taxonómica de todas las poblaciones estudiadas.

La morfometría mostró que las poblaciones silvestres pueden ser fácilmente diferenciables en tamaño y en forma, los insectos tanto de Petén como de Lanquín son muy particulares en sus características morfométricas. Si nos basamos únicamente en la morfometría podríamos llegar a dudar de su ubicación taxonómica, pero los datos de PCR-RAPD's no dejan lugar a dudas de que se trata de la misma especie.

Este resultado concuerda con lo descrito para los Triatominae por Dujardin *et al* (1999), quienes indican que las investigaciones genéticas-fenéticas en este grupo sugieren que las diferencias morfológicas (y de comportamiento) surgen antes que las barreras genéticas y reproductivas.

El dendrograma (Gráfica 10) muestra que las dos poblaciones silvestres son más parecidas entre sí genéticamente, aunque su morfología y tamaño varían considerablemente.

No solamente el tamaño varía entre las dos poblaciones silvestres, también su comportamiento y su importancia epidemiológica. Por un lado, la población del Petén es altamente móvil y de tamaño pequeño mientras que la población de Lanquín es de tamaño grande y con poca tendencia a salir de las cuevas.

El *T. dimidiata* del Petén eventualmente invade las viviendas humanas pero no tiende a permanecer en ellas, al contrario, tiende a moverse constantemente ocupando varios micro-hábitats en la Selva Tropical; en cambio, la población de cuevas raramente tiende a salir de su hábitat. Nuestros resultados de simetrías confirman que Petén es la población más móvil y que Lanquín es la población más sedentaria.

En otras especies de triatomíneos como *T. sordida* (Noireau *et al* 1999) se ha demostrado que las distancias genéticas están relacionadas con la distancia geográfica; en nuestro dendrograma las dos poblaciones silvestres están geográficamente cercanas y genéticamente son muy similares.

Schofield *et al* (1999) han recopilado los cambios que sufren los triatomíneos en el proceso adaptativo desde el ambiente silvestre al ambiente doméstico. Entre los cambios que describen están la reducción del tamaño, pérdida de genes y relajación del dimorfismo sexual. Mencionamos estos aspectos, ya que el *T. dimidiata* del Petén, el cual hemos estudiado genéticamente, en su forma y comportamiento ha mostrado ser un grupo silvestre, pero que presenta altas frecuencias de alelos ausentes (Tabla 11), menor tamaño (ver Gráfica 1) y en las selvas sus colonias se ubican cerca de sitios arqueológicos (antiguos asentamientos humanos). Todas estas observaciones nos han llevado a plantear la hipótesis de que este grupo sufrió un proceso de adaptación a la vivienda humana (¿viviendas de los Mayas?) y posteriormente paso a colonizar de nuevo los ambientes silvestres. Esta teoría necesita aún mucho estudio, pero sería una explicación a las particulares características del grupo del Petén.

El grupo de Lanquín, Alta Verapaz también presenta características muy particulares (de morfología y comportamiento), aunque es genéticamente similar. Sin embargo, Dujardin *et al* (2000a) han descrito que en ambientes diferentes (estables-inestables) actúan distintos mecanismos evolutivos

(Darwinianos y no Darwinianos), por lo que se espera que los insectos de cuevas sigan un destino evolutivo divergente que aquellos insectos de casas y selva.

1.2.2. Grupos Domésticos

Los datos morfométricos de nuestros estudios previos muestran que existen variaciones en tamaño entre las poblaciones domesticas (Bustamante 2001), por ejemplo, Agua Zarca presenta un tamaño promedio menor que Quiché y Santa Rosa de Lima es parecida en tamaño a Agua Zarca. En términos generales las diferencia de tamaño concuerdan con la teoría de Schofield et al (1999) de que los grupos domiciliados son mas pequeños que los silvestres y esto es muy cierto con relación a Alta Verapaz pero no para Petén, población que tiene el tamaño ms pequeño de las seis estudiadas.

Las poblaciones de tamaño más pequeños son Petén y Agua Zarca y las de mayor tamaño Alta Verapaz y Quiché, las poblaciones de tamaño intermedio son Jutiapa y Santa Rosa de Lima. Es muy interesante notar que el dendrograma (Gráfica 10) reúne a Quiché y Agua Zarca, dos poblaciones domésticas con tamaños muy diferentes y con distancias geográficas lejanas y cuyos análisis univariados muestran patrones muy diferentes. Por otro lado el dendrograma reúne a Jutiapa y Santa Rosa de Lima, dos poblaciones geográficamente cercanas y cuyos análisis univariados muestran patrones de similitudes.

Es muy interesante notar que las dos poblaciones de tamaño mas pequeño, Petén y Agua Zarca, son las que en sus frecuencias génicas muestran mayor numero de frecuencia 0.000 del alelo dominante.

Agua Zarca (Municipio de Santa María Ixhucatán) podría tratarse de una población que se domesticó hace más tiempo –comparativamente- por lo que ha perdido alelos y tiene un tamaño pequeño. La región de Ixhucatán ha sido considerada desde hace mucho tiempo como zona de alta endemia de Chagas y en la región, la seropositividad es alta.

Por otro lado Quiché sería una población de reciente domesticación y que mantiene el tamaño grande característico de las poblaciones ancestrales. Es interesante notar que se encuentran pocos pacientes seropositivos en Quiché y esto podría avalar la idea de una reciente domesticación.

Las poblaciones domésticas muestran poca diferenciación morfométrica y genética, lo que nos indica una alta tasa de intercambio genético entre ellas; esto tiene drásticas consecuencias en el plan de control de los vectores ya que será necesario rociar las aldeas aledañas y no será posible dejar aldeas sin rociar en una misma región geográfica. La estrategia que recomendamos es rociar con insecticidas todas las aldeas con vectores en una misma región antes de moverse a otra zona. Además, será necesario promover activamente la mejora de la vivienda (repellos de paredes), para prevenir la recolonización de los insectos en las viviendas rociadas.

2. CONCLUSIONES

- Las poblaciones silvestres y domésticas de *T. dimidiata* en Guatemala muestran tres formas reconocibles morfométricamente, las cuales coinciden con tres ecotopos diferentes (cueva, selva, casa).
- Las poblaciones que morfológicamente podrían considerarse como otra especie (Alta Verapaz, Petén), en el análisis PCR-RAPD's se confirma que se trata de la misma especie.
- Existe mucha similitud genética entre las poblaciones domésticas y silvestres de *T. dimidiata*.
- Esta especie desarrolla cambios morfológicos en muy corto tiempo de tal manera que genéticamente son muy similares, pero morfológicamente diferentes.
- La cabeza permite una mejor diferenciación de las poblaciones. Las medidas de ancho y largo de la cabeza son las que se recomiendan para diferenciar poblaciones.
- Los insectos del Petén presentan características que no concuerdan con las teorías tradicionales las poblaciones silvestres: menor tamaño, pérdida de alelos.
- El grupo con mayor simetría es la población que mostró un comportamiento de mayor movilidad: El Petén.
- El grupo con mayor asimetría es el de Lanquín, Alta Verapaz, el cual mostró un comportamiento de poca movilidad.

- Los grupos de *T. dimidiata* silvestres y domésticos se comportan como una metapoblación: un conjunto de subpoblaciones entre las que existe flujo genético y una similitud genética alta.
- El grupo de Lanquín, Alta Verapaz tiende al aislamiento reproductivo y a la especiación.
- El grupo del Peten es la más móvil y tiende a diferenciarse de las otras en la forma de la cabeza y el tamaño.
- Los grupos domésticos no son fácilmente diferenciables entre sí y presentan mucha similitud genética.
- El grupo doméstico que tiende a separarse es el de El Quiche, que presenta insectos con un mayor tamaño promedio.
- Entre subpoblaciones domésticas existe un alto flujo de migración y es muy probable que esto se de por medio del caminar en vez del vuelo.
- Los machos en las subpoblaciones domesticas podrían estar usando el vuelo como una forma de dispersión.
- La estrecha similitud genética de las poblaciones estudiadas nos indica que la estrategia de control de rociar aldeas adyacentes es la más adecuada, reforzando el rociamiento con mejoramiento de viviendas.

3. RECOMENDACIONES

4. Incluir en estudios posteriores a los grupos del peridomicilio y a los insectos que sean capturadas con trampas de luz.
5. Utilizar marcadores genéticos más específicos que permitan una mejor diferenciación de las poblaciones (microsatélites).
6. Utilizar las medidas de largo y ancho de la cabeza de triatominos en futuros estudios morfométricos, para diferenciar grupos.
7. Estudiar las poblaciones aledañas a Alta Verapaz y Quiché para determinar el centro geográfico del origen de esta especie.
8. Señalar al personal de Ministerio de Salud Pública que en el control de *T. dimidiata* es muy importante el rociamiento de aldeas adyacentes y que no es conveniente utilizar la estrategia de parches.

9. Mantener al grupo de Petén bajo vigilancia entomológica ya que tiene un alto potencial de movilidad.

10. Estudiar los procesos evolutivos (aislamiento reproductivo y especiación) en el grupo de insectos de cuevas de Lanquín, Alta Verapaz.

11. REFERENCIAS

12. Audesirk, T. Audesirk, G. 1996. Biology (Life on Earth). 4th edition. Prentice Hall. Mexico. 636 pp.

13. Berges, . 2000. Conferencia en el Tercer Taller Internacional sobre Genética Poblacional y Control de Triatomíneos, realizado en Colombia. Las memorias aún no publicadas.

14. Bookstein, F. 1982. Foundations of Morphometrics. Ann. Rev. Ecol. Syst. 13:451-470.

15. Borges, E.C. Dujardin, J.P. Schofield, C.J. Romanha, A.J. Diotaiuti, L. 2000. Genetic variability of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae) populations. J. Med. Entomol. 37(6): 872-877.

16. Bustamante, D.M. 2001. Morfometría de seis poblaciones del principal vector de la enfermedad de Chagas en Guatemala, *Triatoma dimidiata* (Latreille) 1811 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), para la caracterización geográfica de la especie. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.

17. Casini, C.E. Dujardin, J.P. Martínez, M. Bentos-Pereira, A. Salvatela, R. 1995. Morphometric differentiation between two geographic populations of *Triatoma infestans* in Uruguay. Reserch and Reviews in Parasitology, 55 (1): 25-30.

18. Christensen, H. Sousa, O. De Vásquez, A.M. 1988. Host feeding profiles of *Triatoma dimidiata* in peridomestic habitats of western Panama. Am. J. Trop. Med. Hyg. 38(3), pp. 477-479.

19. Crespi, B. 1992. Natural selection and morphometrics. En Foottit, R. Sorensen, J. (editores). Ordination in the study and morphology, evolution and systematics of insects: applications and quantitative genetic rationales. Elsevier. New York. 418 pp.

20. Daly, H. 1985. Insect Morphometrics. *Ann. Rev. Entomol.* 30: 415-438.
21. Daniel, W. 1998. *Bioestadística*. Trad. F. León. 3 ed. Uthea. México. 878 pp.
22. 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.
23. Diagnóstico de los Recursos Naturales y Ambiente. 1992. USAC-DIGI-PUIRNA. Guatemala. 334 pp.
24. Dujardin, J.P. 2000. Introducción a la morfometría. (Con énfasis en Triatominae y Phlebotominae). No publicado. La Paz, Bolivia.
25. Dujardin, J.P. Cardozo, L. Schofield, C. 1996. Genetic analysis of *Triatoma infestans* following insecticidal control interventions in central Bolivia. *Acta Tropica*. 61: 263-266.
26. Dujardin, J.P. Bermudez, H. Casini, C. Schofield, C.J. Tibayrenc, M. 1997a. Metric differences between silvatic and domestic *Triatoma infestans* (Heteroptera; Reduviidae) in Bolivia. *J. Med. Entomol.* 34(5): 544-551.
27. Dujardin, J.P. Bermudez, H. Schofield, C.J. 1997b. The use of morphometric in entomological surveillance of sylvatic foci of *Triatoma infestans* in Bolivia. *Acta Tropica*. 66: 145-153.
28. 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.
29. 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.
30. Dujardin, J.P. Schofield, C.J. Panzera, F. 2000. Les vecteurs de la maladie de Chagas. (Recherches taxonomiques, biologiques et génétiques). *Academie Royale des Sciences D'outre-Mer*. Bruselas. 162 pp.

31. Dujardin, J.P. Panzera, F. Schofield, C.J. 2000a. Triatominae as model for understanding basic evolutionary processes. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 95, Supple. II: 32-33.
32. Elseth, G. Baumgardner, K. 1995. Principle of Modern Genetics. West Publishing Company. USA.
33. Felsenstein, J. 1993. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c. Distributed by the author. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.
34. Footit, R. Sorensen, J. 1992. Ordination methods: their contrast to clustering and cladistic techniques. En Footit, R. Sorensen, J. (Editors). Ordination in the study and morphology, evolution and systematics of insects: applications and quantitative genetic rationales. Elsevier. New York. 418 pp.
35. Gorla, DE. 1999. La dinámica de metapoblaciones de triatomíneos 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.
36. Hartl, DL. Jones, EW. 2000. Genetics (Analysis of Genes and Genomes). 5th edition. Joves and Bartlett Publishers. London. 858 pp.
37. Ibáñez-Bernal, S. Paz-Rodríguez, R. 1999. Los complejos de especies de *Triatoma* en México y Centroamérica. 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.
38. 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.
39. 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.
40. Lent, H. Jurberg, J. 1985. Sobre a variação intra-específica em *Triatoma dimidiata* (Latreille) e *Triatoma infestans* (Klug) (Hemipter, Reduviidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 80(3): 285-299.

41. Lent, H. Wygodzinsky, P. 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 163:123-520.
42. Ludwig, J. Reynolds, J. 1988. *Statistical Ecology. (A primer on methods and computing).* John Wiley & Sons, Inc. USA. 337 pp.
43. Manly, B. 1986. *Multivariate statistical methods: A primer.* Chapman and Hall Ltd. Great Britain, 159 pp.
44. Marroquín, O. 1994. *Guatemala, Datos Básicos.* Aprofam, Guatemala. 86 pp.
45. Møller, A.P. Swaddle, J.P. 1997. *Assymetry, developmental stability, and evolution.* Oxford University Press, Oxford. 291 pp.
46. Monroy, C. 1992. Vectores de la Enfermedad de Chagas en Guatemala. *En Ogata, K. (editor). Memoria del I Seminario Internacional de Enfermedades Tropicales, Guatemala. Enfermedades Tropicales en Guatemala.* Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA). Guatemala. 128 pp.
47. Monroy, C. Mejía, M. Rodas, A. Ochoa, O. Ogata, K. Tabaru, Y. 1995. Ecología intradomiciliar de *Triatoma dimidiata* en Santa María Ixhuatán. *En Tabaru, Y. (editor). Enfermedades Tropicales en Guatemala.* Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA). Guatemala. 215 pp.
48. Noireau, F. Zegarra, M. Ordóñez, J. Gutiérrez, T. Dujardin, JP. 1999. Genetic Structure of *Triatoma sordida* (Hemiptera: Reduviidae) Domestic Populations from Bolivia: Application on Control Interventions. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 94(3): 347-351.
49. Palmer, A.R. Strobeck, C. 1986. Fluctuatin Asymmetry (Measurement, Analysis, Patterns). *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 17: 391-421.
50. Peñalver, L.M. 1953. Estado actual de la enfermedad de Chagas en Guatemala. *Rev. Col. Med. Guat.*, 4:294-308.
51. 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.
52. Pinto Soares, R.P. Barbosa, S.E. Dujardin, J.P. Schofield, C.J. Moura, A. Diotaiuti, L. 1999. Characterization of *Rhodnius neglectus* from two regions of Brazil using isoenzymes, genitalia morphology and morphometry. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 94(2): 161-166.
 53. Quintanal, R. Polanco, G. 1977. Feeding preferences of *Triatoma dimidiata maculipennis* in Yucatán, México. Am. J. Trop. Med. Hyg. 26(1): 176-178.
 54. Rohlf, J. 1990. Morphometrics. Annu. Rev. Ecol. Syst. 21:299-316.
 55. Rohlf, J. 1998. NTSYSpc (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.0) Users Guide. Exeter Software. New York.
 56. Rohlf, J. Marcus, L. 1993. A Revolution in Morphometrics. Trends in Ecology and Evolution. 8(4): 129-132.
 57. 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.
 58. Schofield, C.J. 1994. Triatominae. (Biología y Control). Trad. S. Tims y C.J. Schofield. Eurocommunica Publications. Reino Unido. 80 pp.
 59. 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.
 60. 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.
 61. Sherlock, I. 2000. Vetores. En Brener, Z. Andrade, Z, Barral-Netto, M. (editores). *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2 ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 431 pp.
 62. Siegel, S. Castellan, Jr. N.J. 1988. Nonparametric statistics for the behavioral sciences. 2d ed. McGraw-Hill Book Company. USA. 399pp.
 63. Slice, D. Bookstein, F. Marcus, L. Rohlf, J. 1998. A glossary for geometric morphometrics. En <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>.

64. 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.
65. Solís-Mena, S. 2000. Genetic variability and morphometrics of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) geographical populations. Unpublished. London School of Tropical Medicine and Hygiene. London.
66. SPSS® Base 10.0 Applications Guide. 1999. SPSS Inc. USA. 426 pp.
67. 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.
68. Villar, L. 1997. Introducción a los Biomas. Documento técnico no publicado. CECON-USAC. Guatemala.
69. Zeledón, R. Guardia, V. Zúñiga, A. Swartzwelder, JC. 1970a. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811), I. Life cycle, amount of blood ingested, resistance to starvation, and size of adults. J. Med. Ent. 7(3): 313-319.
70. Zeledón, R. Guardia, V. Zúñiga, A. Swartzwelder, JC. 1970b. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811), II. Life span of adults and fecundity and fertility of females. J. Med. Ent. 7(4): 462-469.
71. Zeledón, R. Solano, G. Zúñiga, A. Swartzwelder, J.C. 1973. Biology and ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811), III. Hábitat and blood sources. J. Med. Ent. 10(4): 363-370.
72. Zeledón, R. 1981. El *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) y su relación con la Enfermedad de Chagas. Editorial Universidad Estatal a Distancia (EUNED). Costa Rica. 146 pp.
73. Zeledón, R. 1985. El *Triatoma dimidiata* (Latreille). En Carcavallo, R. Rabinovich, J. Tonn, J. (editores). Factores biológicos y ecológicos de la Enfermedad de Chagas. (Tomo I: Epidemiología-Vectores). Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. OMS. OPS. Servicio Nacional de Chagas. Ministerio de Salud y Acción Social. Argentina. 250 pp.

74.ANEXOS

74.1.ANEXO 1: ANÁLISIS ESTADÍSTICOS MULTIVARIADOS

74.1.1.Análisis de Componentes Principales (ACP)

Análisis diseñado para reducir el número de variables consideradas, a un pequeño número de índices (los componentes principales) que son combinaciones lineales de las variables originales (Manly 1986). El procedimiento de este análisis se basa en álgebra matricial.

El objetivo del análisis es tomar p variables correlacionadas X_1, X_2, \dots, X_p y encontrar combinaciones de estas que produzcan índices (*eigenvectors*) Z_1, Z_2, \dots, Z_p que no estén correlacionados. Los índices Z_i se denominan *componentes principales*. La pérdida de la correlación es una propiedad importante ya que significa que los índices están midiendo diferentes "dimensiones" en los datos (Manly 1986).

$$Z_1 = a_{11}X_1 + a_{12}X_2 + \dots + a_{1p}X_p$$

$$Z_2 = a_{21}X_1 + a_{22}X_2 + \dots + a_{2p}X_p$$

Ejemplo de combinaciones lineales de variables

El procedimiento consiste en primer lugar en componer con las variables una matriz de semejanza, tradicionalmente esta matriz consiste en las varianzas-covarianzas o correlaciones, pero también puede aplicarse a una matriz de distancias Euclidianas. Posteriormente esta matriz se particiona hacia un conjunto de ejes ortogonales (perpendiculares) o componentes. Cada componente corresponde a un *eigenvalue* de la matriz. El *eigenvalue* es la varianza para ese eje. En el ACP, los *eigenvalues* de la matriz de semejanza son extraídos en orden descendente de magnitud de tal manera que los ejes (componentes) representen sucesivamente cantidades mayores a menores de variación en la matriz (Ludwing & Reynold 1988).

Los componentes principales pueden utilizarse como coordenadas cartesianas para proyectar a los individuos en un espacio bi- o tri-dimensional. Los grupos que forma los individuos pueden ser identificados y delimitados por líneas conectando los individuos más externos. Existen tres posibilidades:

- a) los individuos, a pesar de pertenecer a grupos distintos, forman una sola "nube" de puntos. Se puede sospechar entonces que los grupos iniciales no tienen una base reconocida por la morfometría, o que simplemente son "falsos" grupos, sin fundamento ninguno;
- b) los individuos forman distintas "nubes", pero éstas no corresponden a los grupos conocidos por el investigador. El investigador tendrá entonces que buscar cuales son los parámetros que podrían explicar los agrupamientos observados;
- c) los individuos forman distintas "nubes" que corresponden a los grupos conocidos por el investigador. En este caso el ACP es capaz de reconstituir los grupos. Típicamente el ACP separa los individuos en función a su tamaño, tanto así que el primer componente principal (CP1) se puede convertir en un estimador del "tamaño global" (Dujardin 2000).

Por consecuencia, el ACP es una herramienta de exploración, capaz de revelar agrupaciones no sospechadas (Dujardin 2000).

74.1.2. Análisis de Componentes Principales Comunes (ACPC)

El ACPC es un análisis de componentes principales sobre varios grupos y su objetivo es encontrar una dirección del eje de crecimiento que no se aleje demasiado de las dirección individuales de cada grupo (Dujardin 2000).

Una de las diferencias con el ACP es que necesita reconocer *a priori* los grupos que va a ordenar, mientras que en el ACP todos los grupos son considerados como uno solo.

En sus aplicaciones se considera que el primer componente principal común (CPC1) es un modelo alométrico compartido por todos los grupos. El CPC1 generalmente tiene correlaciones altas y positivas con todas las variables, por lo que se interpreta como una variable de tamaño global. Los coeficientes de los componentes principales siguientes al CPC1 generalmente son de signos opuestos y no correlacionados con las variables originales, por lo cual se interpretan como representaciones de aspectos significativos de la forma (Jaramillo 2000).

74.1.3. Análisis Discriminante (AD)

Este análisis también se conoce con los nombres de análisis de función discriminante y análisis canónico variado. Un AD busca separar lo mejor posible dos o más grupos de individuos, basado en muchas variables medidas sobre éstos.

En general, existiran m muestras procedentes de diferentes grupos de tamaños n_1, n_2, \dots, n_m y existiran p variables X_1, X_2, \dots, X_p para cada miembro de la muestra. Se buscan entonces, funciones derivadas de las variables X_1, X_2, \dots, X_p que separen los m grupos lo mejor posible. El método más simple es através de la combinación lineal de las variables:

$$Z = a_1X_1 + a_2X_2 + \dots + a_pX_p$$

Los grupos pueden ser separados utilizando Z si las medias cambian considerablemente de un grupo a otro, permaneciendo constantes los valores dentro de cada grupo (Manly 1986).

Este análisis se diferencia esencialmente del ACP en que compara grupos, no individuos. Su objetivo no es cuestionar los grupos definidos por el investigador, sino discriminarlos de la mejor manera posible (Dujardin 2000).

El AD genera factores discriminantes, los cuales pueden ser utilizados como coordenadas cartesianas para proyectar a los individuos en un espacio bi- o tri-dimensional. Los grupos pueden ser identificados y delimitados por líneas conectando los individuos más externos, y estudiar de esta manera la discriminación entre los grupos.

El AD debe estar acompañado de un test de significancia que indique que tan separadas están las medias (centroides) de los grupos después de la discriminación. El estadístico *Wilks' Lambda* se utiliza para probar la hipótesis que las medias de los grupos (centroides) son iguales. *Lambda* tendrá valores entre 0 y 1, valores pequeños indican fuertes diferencias entre grupos, valores cercanos a 1, no hay diferencias (SPSS® Base 10.0 Applications Guide 1999).

El análisis discriminante produce una reclasificación de los individuos basada en los índices de las combinaciones lineales de las variables. Esta reclasificación puede compararse con la clasificación original reconocida por el investigador y medir su grado de concordancia, es decir, evaluar que proporción de los individuos que han sido re-asignados correctamente a los grupos originales.

El estadístico K de *Kappa* proporciona una medición del acuerdo entre variables categóricas. Cuando un individuo o caso es asignado en

categorías por distintos medios, el investigador quiere saber si las asignaciones están completamente en acuerdo entre sí, o si las asignaciones no muestran acuerdo y parecen ser al azar (Siegel & Castellan Jr. 1988). K 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, substancial, y mayor de 0.80, casi perfecta (Landis y Koch 1977, citado por Pinto Soares *et al*/1999).

Tabla 5.

Comparaciones univariadas (test U de Mann Withney) para estudiar las diferencias de los caracteres medidos, entre pares de grupos de *Triatoma dimidiata* hembras. Para la prueba se seleccionó $\alpha = 0.05$. Se reportan los valores de significancia asintótica (*significancia exacta en las comparaciones que incluyen a Alta Verapaz). Se resaltan aquellos que resultaron significativos después de la corrección por el método de Bonferroni, y que indican que las muestras no pertenecen a la misma población. **En la primera línea se muestra la proporción de caracteres significativamente diferentes respecto al total; mientras más caracteres diferentes, más disímiles los grupos.** Para una descripción de los caracteres ver Tabla 4, para una descripción de las localidades ver Figura 5.

Proporción Caracter	COMPARACIÓN														
	AZ-JUT	AZ-AV*	AZ-PET	AZ-QUI	AZ-SRL	JUT-AV*	JUT-PET	JUT-QUI	JUT-SRL	AV-PET*	AV-QUI*	AV-SRL*	PET-QUI	PET-SRL	QUI-SRL
	22/42	32/42	27/42	23/42	3/42	13/42	33/42	22/42	18/42	28/42	16/42	33/42	39/42	32/42	39/42
	CABEZA														
AC	0.0085	0.0225	0.0021	0.1798	0.0637	0.1103	0.7541	0.0816	0.2104	0.0949	0.0286	0.0289	0.0391	0.5930	0.1656
AO	0.0041	0.0000	0.0002	0.0948	0.0000	0.0000	0.5143	0.0316	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0095	0.0000	0.0000
EO	0.0001	0.0113	0.0001	0.2054	0.5748	0.6699	0.1966	0.0086	0.0000	0.2425	0.1426	0.0188	0.0012	0.0487	0.0000
LT	0.0022	0.0000	0.0022	0.2970	0.0000	0.0000	0.7150	0.0140	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0031	0.0000	0.0000
PO	0.5258	0.0307	0.6091	0.1906	0.0262	0.0181	0.9273	0.5465	0.1182	0.0233	0.0041	0.0022	0.4721	0.2768	0.0839
TA	0.0036	0.0000	0.0696	0.0721	0.0000	0.0000	0.7149	0.1758	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.5017	0.0000	0.0000
	ALA														
H12	0.0000	0.0000	0.0001	0.0001	0.1324	0.0543	0.0000	0.0015	0.0016	0.0000	0.7892	0.0004	0.0000	0.0000	0.0000
H13	0.0000	0.0000	0.0047	0.0047	0.4618	0.0006	0.0000	0.0394	0.0000	0.0000	0.0175	0.0000	0.0000	0.0002	0.0000
H14	0.0000	0.0002	0.0000	0.0000	0.7501	0.0847	0.0000	0.0045	0.0001	0.0000	0.9290	0.0001	0.0000	0.0000	0.0000
H15	0.0001	0.0137	0.0001	0.0001	0.0699	0.9816	0.0000	0.0001	0.0057	0.0001	0.0083	0.0863	0.0000	0.0000	0.0000
H16	0.0000	0.0002	0.0009	0.0009	0.4226	0.1041	0.0000	0.0012	0.0000	0.0000	0.4744	0.0001	0.0000	0.0000	0.0000
H17	0.0000	0.0000	0.0040	0.0040	0.1214	0.0256	0.0000	0.0002	0.0001	0.0000	0.9645	0.0000	0.0000	0.0001	0.0000
H18	0.0000	0.0000	0.0010	0.0010	0.0519	0.0483	0.0000	0.0001	0.0002	0.0000	0.5616	0.0001	0.0000	0.0000	0.0000
H19	0.0000	0.0001	0.2560	0.2560	0.0886	0.7640	0.0000	0.6672	0.0002	0.0000	0.3949	0.0007	0.0000	0.0078	0.0004
H23	0.0000	0.0000	0.4661	0.4661	0.5604	0.0006	0.0000	0.7949	0.0000	0.0000	0.0007	0.0000	0.0000	0.2560	0.0000
H24	0.0003	0.0009	0.0006	0.0006	0.7252	0.1041	0.0000	0.0340	0.0006	0.0000	0.7551	0.0009	0.0000	0.0003	0.0000
H25	0.0022	0.1307	0.0076	0.0076	0.1162	0.7640	0.0000	0.0000	0.1013	0.0049	0.0007	0.7013	0.0000	0.0001	0.0000
H26	0.0000	0.0007	0.0409	0.0409	0.3736	0.1267	0.0000	0.0069	0.0001	0.0000	0.7551	0.0009	0.0000	0.0006	0.0000
H27	0.0000	0.0000	0.0957	0.0957	0.1112	0.0256	0.0000	0.0023	0.0004	0.0000	0.5923	0.0000	0.0000	0.0013	0.0000
H28	0.0001	0.0000	0.0085	0.0085	0.0807	0.0091	0.0000	0.0002	0.0038	0.0000	0.5923	0.0000	0.0000	0.0002	0.0000
H29	0.0020	0.0000	0.0000	0.0000	0.8347	0.0038	0.0000	0.0031	0.0018	0.0000	0.1230	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

H34	0.3601	0.0027	0.0000	0.0000	0.8432	0.0021	0.0000	0.0004	0.2970	0.6718	0.0000	0.0049	0.0000	0.0001	0.0001
-----	--------	---------------	---------------	---------------	--------	--------	---------------	---------------	--------	--------	---------------	---------------	---------------	---------------	---------------

Continuación **Tabla 5.**

Carácter	COMPARACIÓN														
	AZ-JUT	AZ-AV*	AZ-PET	AZ-QUI	AZ-SRL	JUT-AV*	JUT-PET	JUT-QUI	JUT-SRL	AV-PET*	AV-QUI*	AV-SRL*	PET-QUI	PET-SRL	QUI-SRL
								ALA							
H35	0.3491	0.0000	0.0004	0.0004	0.0519	0.0000	0.0002	0.0000	0.3382	0.0133	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0001
H36	0.0058	0.1584	0.0044	0.0044	0.2487	0.0032	0.0000	0.0000	0.0773	0.7623	0.0000	0.0373	0.0000	0.0001	0.0000
H37	0.0053	0.2879	0.0448	0.0448	0.0770	0.4443	0.0000	0.0000	0.1800	0.0485	0.0003	0.7013	0.0000	0.0006	0.0000
H38	0.0380	0.2075	0.0010	0.0010	0.0322	0.7640	0.0000	0.0000	0.6703	0.0025	0.0060	0.3598	0.0000	0.0000	0.0000
H39	0.0083	0.0000	0.0000	0.0000	0.4958	0.0000	0.0000	0.0332	0.0003	0.0000	0.0014	0.0000	0.0000	0.0001	0.0000
H45	0.0907	0.0286	0.2681	0.2681	0.0058	0.0002	0.0062	0.0014	0.1391	0.1581	0.0000	0.0002	0.0000	0.0002	0.0115
H46	0.0001	0.0084	0.0025	0.0025	0.0770	0.7290	0.2746	0.0088	0.0990	0.8245	0.0430	0.3347	0.0007	0.3838	0.0016
H47	0.0007	0.0004	0.0171	0.0171	0.3122	0.0292	0.3984	0.0102	0.0215	0.0077	0.3702	0.0012	0.0037	0.2081	0.0001
H48	0.1732	0.0000	0.2185	0.2185	0.5753	0.0007	0.0234	0.0000	0.6473	0.0000	0.3018	0.0012	0.0000	0.0816	0.0000
H49	0.1255	0.0012	0.0000	0.0000	0.1767	0.0333	0.0000	0.0027	0.0050	0.0000	0.9645	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
H56	0.1979	0.0009	0.0015	0.0015	0.0666	0.0000	0.0000	0.0151	0.4563	0.2633	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0618
H57	0.1255	0.0009	0.0001	0.0001	0.5457	0.0000	0.0000	0.0455	0.3829	0.8245	0.0000	0.0006	0.0000	0.0000	0.0040
H58	0.1203	0.9237	0.0000	0.0000	0.8864	0.3174	0.0000	0.0688	0.1058	0.0002	0.0201	0.8857	0.0000	0.0000	0.0002
H59	0.0351	0.1737	0.0000	0.0000	0.6684	0.7290	0.0000	0.0000	0.0810	0.0002	0.0004	0.2879	0.0000	0.0000	0.0000
H67	0.1177	0.8480	0.0018	0.0018	0.0037	0.4727	0.0001	0.2890	0.0001	0.0314	0.8237	0.0545	0.0034	0.6025	0.0093
H68	0.4499	0.0000	0.0001	0.0001	0.0665	0.0001	0.0042	0.0512	0.3601	0.0000	0.0007	0.0000	0.0000	0.0175	0.0009
H69	0.0113	0.0015	0.0000	0.0000	0.6367	0.0483	0.0000	0.0007	0.0032	0.0000	0.5923	0.0001	0.0000	0.0001	0.0000
H78	0.1034	0.0003	0.0000	0.0000	0.5096	0.0000	0.0057	0.0000	0.0847	0.0000	0.0484	0.0015	0.0000	0.0000	0.0062
H79	0.0162	0.0001	0.0001	0.0001	0.8261	0.0106	0.0000	0.0002	0.0204	0.0000	0.8937	0.0000	0.0000	0.0001	0.0000
H89	0.0324	0.0002	0.0000	0.0000	0.4485	0.0256	0.0000	0.0001	0.0400	0.0000	0.4205	0.0007	0.0000	0.0000	0.0000

Tabla 6.

Comparaciones univariadas (test U de Mann Withney) para estudiar las diferencias de los caracteres medidos, entre pares de grupos de *Triatoma dimidiata* machos. Para la prueba se seleccionó $\alpha = 0.05$. Se reportan los valores de significancia asintótica (*significancia exacta en las comparaciones que incluyen a Alta Verapaz). Se resaltan aquellos que resultaron significativos después de la corrección por el método de Bonferroni, y que indican que las muestras no pertenecen a la misma población. **En la primera línea se muestra la proporción de caracteres significativamente diferentes respecto al total; mientras más caracteres diferentes, más disímiles los grupos.** Para una descripción de los caracteres ver Tabla 4, para una descripción de las localidades ver Figura 5.

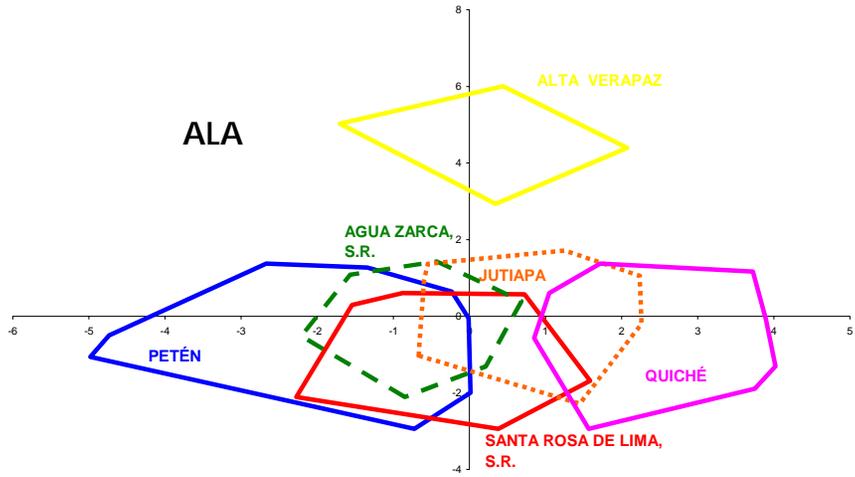
Proporción Caracter	COMPARACIÓN														
	AZ-JUT	AZ-AV*	AZ-PET	AZ-QUI	AZ-SRL	JUT-AV*	JUT-PET	JUT-QUI	JUT-SRL	AV-PET*	AV-QUI*	AV-SRL*	PET-QUI	PET-SRL	QUI-SRL
	28/44	21/44	38/44	40/44	5/44	10/44	42/44	29/44	21/44	31/44	12/44	19/44	43/44	39/44	42/44
	CABEZA														
AC	0.0063	0.0002	0.3896	0.0000	0.0001	0.0256	0.0548	0.0275	0.4914	0.0003	0.5645	0.0921	0.0000	0.0003	0.0166
AO	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0280	0.0000	0.0000	0.0004	0.0040	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
C49	0.1608	0.1150	0.0037	0.0809	0.1982	0.5630	0.0001	0.9830	0.0084	0.0004	0.4707	0.0233	0.0000	0.0598	0.0032
C911	0.0004	0.0000	0.0074	0.0000	0.0013	0.0000	0.0000	0.3657	0.1891	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0391
EO	0.0259	0.2342	0.8571	0.0000	0.0536	0.0038	0.0058	0.0033	0.7410	0.1349	0.0000	0.0076	0.0000	0.0210	0.0002
LT	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.1039	0.0002	0.0000	0.0432	0.0009	0.0000	0.0425	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
PO	0.1460	0.0124	0.5352	0.8232	0.6105	0.1987	0.1141	0.2251	0.0327	0.0132	0.0373	0.0032	0.4451	0.8759	0.5190
TA	0.0592	0.0000	0.0000	0.0023	0.9857	0.0000	0.0000	0.1478	0.0133	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0001
	ALA														
H12	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.1056	0.0045	0.0000	0.0018	0.0000	0.0000	0.2752	0.0001	0.0000	0.0000	0.0000
H13	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.6810	0.0036	0.0000	0.2604	0.0000	0.0000	0.0365	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
H14	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.7462	0.3847	0.0000	0.0028	0.0000	0.0000	0.3553	0.0017	0.0000	0.0000	0.0000
H15	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0744	0.0266	0.0000	0.0000	0.0001	0.0000	0.0002	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000
H16	0.0000	0.0001	0.0000	0.0000	0.2308	0.4156	0.0000	0.0012	0.0000	0.0000	0.3005	0.0008	0.0000	0.0000	0.0000
H17	0.0000	0.0001	0.0000	0.0000	0.0554	0.0959	0.0000	0.0004	0.0000	0.0000	0.5518	0.0002	0.0000	0.0000	0.0000
H18	0.0000	0.0001	0.0000	0.0000	0.0650	0.2076	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0744	0.0006	0.0000	0.0000	0.0000
H19	0.0000	0.0002	0.0000	0.0000	0.9025	1.0000	0.0000	0.5219	0.0001	0.0000	0.8293	0.0247	0.0000	0.0000	0.0000
H23	0.0000	0.0004	0.0005	0.0000	0.8406	0.5518	0.0000	0.3037	0.0000	0.0000	0.1523	0.0010	0.0000	0.0002	0.0000
H24	0.0000	0.0006	0.0000	0.0000	0.2483	0.2513	0.0000	0.0161	0.0013	0.0000	0.0108	0.3247	0.0000	0.0000	0.0000
H25	0.0000	0.0006	0.0001	0.0000	0.0178	0.0004	0.0000	0.0002	0.0128	0.0000	0.0001	0.0100	0.0000	0.0000	0.0000
H26	0.0000	0.0009	0.0000	0.0000	0.0169	0.5159	0.0000	0.0029	0.0002	0.0000	0.0266	0.1225	0.0000	0.0000	0.0000
H27	0.0000	0.0012	0.0000	0.0000	0.0018	0.9570	0.0000	0.0014	0.0005	0.0000	0.0959	0.0468	0.0000	0.0000	0.0000

H28	<i>0.0000</i>	<i>0.0017</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	0.0023	0.8716	<i>0.0000</i>	<i>0.0001</i>	0.0045	<i>0.0000</i>	0.0312	0.0738	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>
-----	---------------	---------------	---------------	---------------	--------	--------	---------------	---------------	--------	---------------	--------	--------	---------------	---------------	---------------

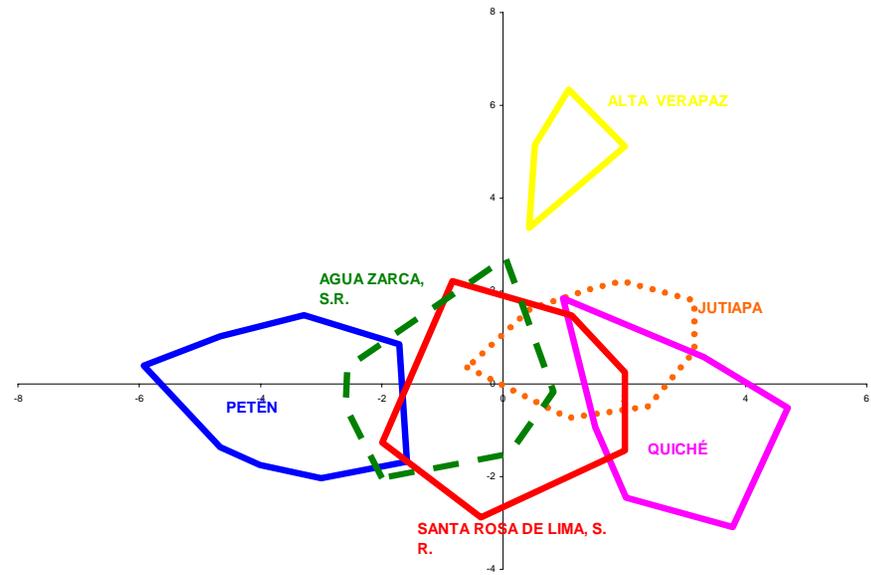
Continuación **Tabla 6.**

Caracter	COMPARACIÓN														
	AZ-JUT	AZ-AV*	AZ-PET	AZ-QUI	AZ-SRL	JUT-AV*	JUT-PET	JUT-QUI	JUT-SRL	AV-PET*	AV-QUI*	AV-SRL*	PET-QUI	PET-SRL	QUI-SRL
								ALA							
H29	<i>0.0000</i>	<i>0.0023</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	0.1895	0.5888	<i>0.0000</i>	<i>0.0048</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	1.0000	0.0060	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>
H34	0.6277	0.0031	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	0.0577	0.0225	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	0.1516	<i>0.0000</i>	<i>0.0001</i>	0.0049	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0001</i>
H35	0.0287	0.0052	<i>0.0009</i>	<i>0.0000</i>	0.0080	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	0.4146	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>
H36	<i>0.0005</i>	0.0066	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0013</i>	0.0744	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	0.8756	<i>0.0001</i>	0.0071	0.1345	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>
H37	<i>0.0001</i>	0.0066	<i>0.0001</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0001</i>	0.1364	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	0.6683	<i>0.0001</i>	0.0312	0.3028	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>
H38	0.0059	0.0083	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0008</i>	0.7462	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	0.3869	<i>0.0001</i>	0.0189	0.5938	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>
H39	<i>0.0000</i>	0.0083	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	0.6305	0.0846	<i>0.0000</i>	0.2072	<i>0.0000</i>	<i>0.0001</i>	0.0959	<i>0.0010</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>
H45	0.0047	0.0128	0.2412	<i>0.0000</i>	0.0099	<i>0.0001</i>	<i>0.0004</i>	<i>0.0003</i>	0.8239	<i>0.0005</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0006</i>	<i>0.0001</i>
H46	<i>0.0000</i>	0.0274	0.0218	<i>0.0000</i>	0.0127	0.9570	<i>0.0249</i>	0.0489	0.0278	<i>0.0007</i>	0.3553	0.1909	<i>0.0001</i>	0.8413	<i>0.0001</i>
H47	<i>0.0000</i>	0.0326	0.3117	<i>0.0000</i>	0.0257	0.3272	<i>0.0081</i>	0.0141	0.0673	<i>0.0013</i>	0.8293	0.0662	<i>0.0000</i>	0.3486	<i>0.0002</i>
H48	0.0420	0.0529	<i>0.0079</i>	<i>0.0000</i>	0.1237	0.0567	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	0.6924	0.0132	0.5888	0.0527	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>
H49	0.0048	0.0615	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	0.7068	0.4812	<i>0.0000</i>	<i>0.0023</i>	<i>0.0025</i>	0.0188	0.4812	0.0527	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>
H56	0.0145	0.0938	<i>0.0039</i>	<i>0.0000</i>	0.0335	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0004</i>	0.8561	0.0223	<i>0.0001</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0016</i>
H57	0.0108	0.1732	<i>0.0000</i>	<i>0.0001</i>	0.2629	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0025</i>	0.1294	0.0357	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0002</i>
H58	0.0251	0.1732	<i>0.0000</i>	<i>0.0001</i>	0.3818	0.0492	<i>0.0000</i>	0.0068	0.1081	0.0413	0.0057	0.0911	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0002</i>
H59	<i>0.0002</i>	0.1732	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	0.1095	0.0071	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0026</i>	0.0413	<i>0.0001</i>	0.2818	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>
H67	0.9670	0.2386	<i>0.0001</i>	0.5985	0.0072	0.0108	<i>0.0000</i>	0.6834	<i>0.0002</i>	0.0476	0.0131	0.0527	<i>0.0001</i>	<i>0.0025</i>	<i>0.0206</i>
H68	0.3119	0.3184	<i>0.0000</i>	0.1797	0.2016	0.4478	<i>0.0000</i>	<i>0.0032</i>	0.5311	0.0808	0.6268	0.3962	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0021</i>
H69	<i>0.0001</i>	0.4474	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	0.5578	0.6658	<i>0.0000</i>	<i>0.0007</i>	<i>0.0004</i>	0.0808	0.4156	0.0415	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>
H78	0.0829	0.4835	<i>0.0000</i>	<i>0.0007</i>	0.8542	0.0071	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	0.0328	0.1152	1.0000	0.1008	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0003</i>
H79	<i>0.0000</i>	0.5210	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	0.1075	0.1879	<i>0.0000</i>	<i>0.0002</i>	0.0033	0.2571	0.9570	0.0215	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>
H89	<i>0.0001</i>	0.7714	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	0.0730	0.5159	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	0.0082	0.7350	0.0492	0.0662	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>	<i>0.0000</i>

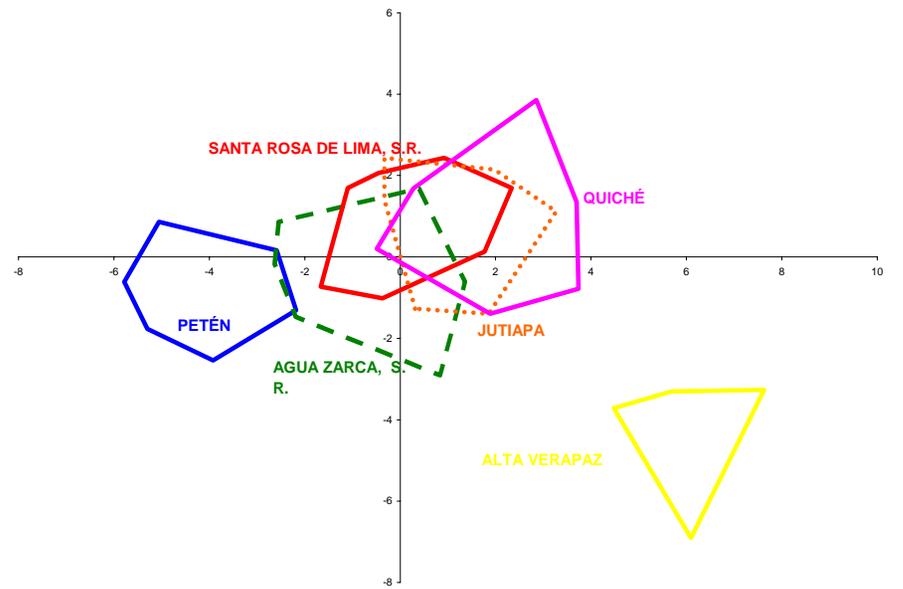
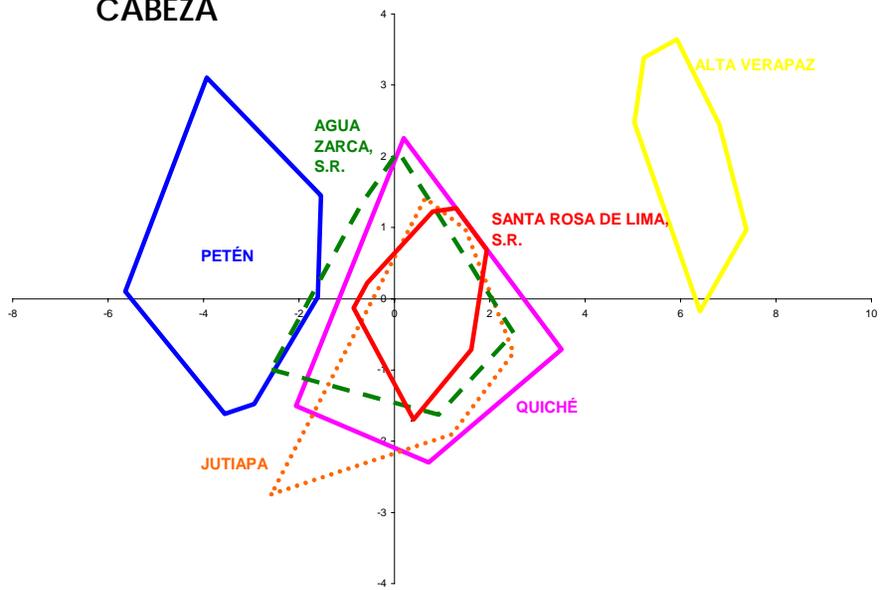
HEMBRAS

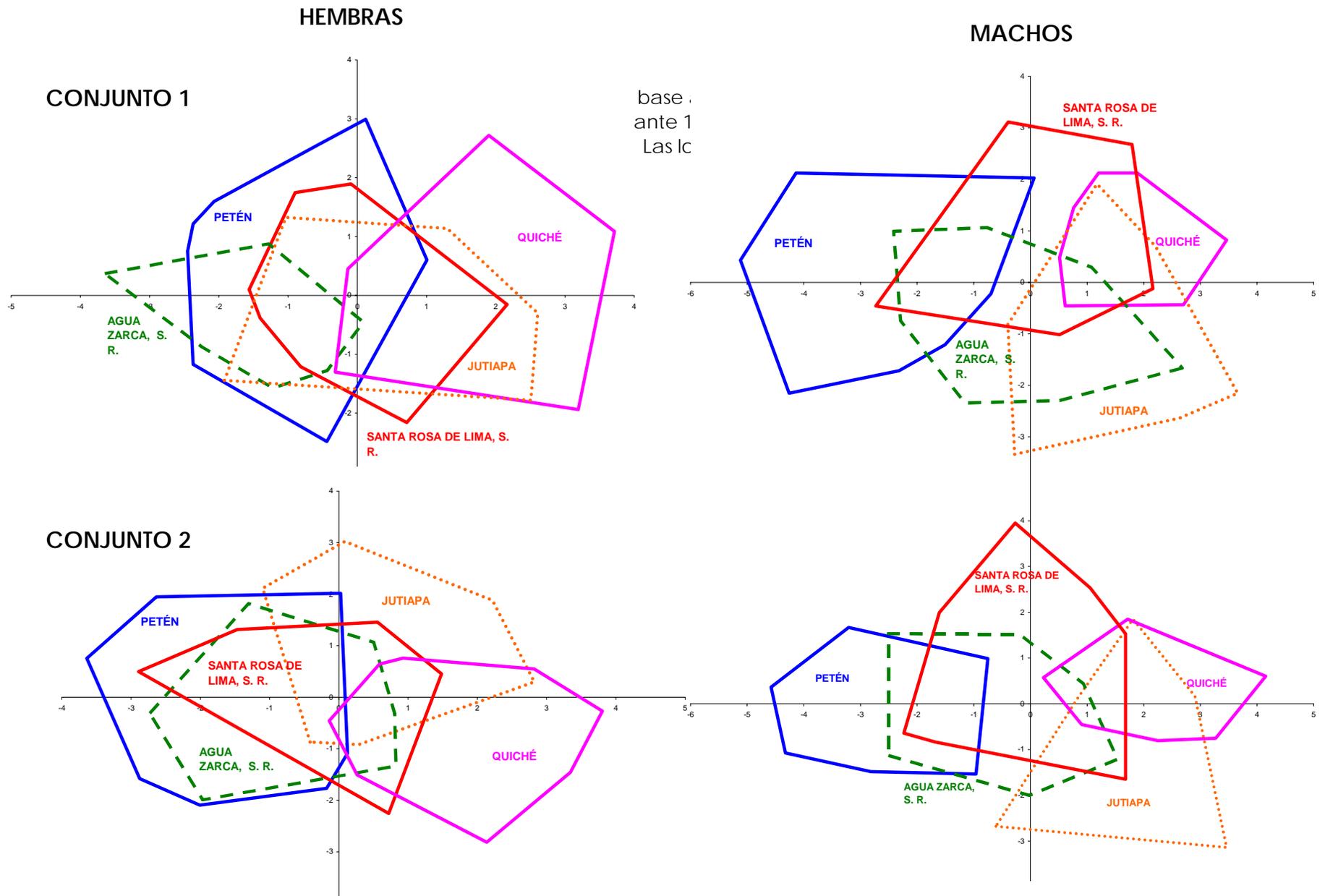


MACHOS



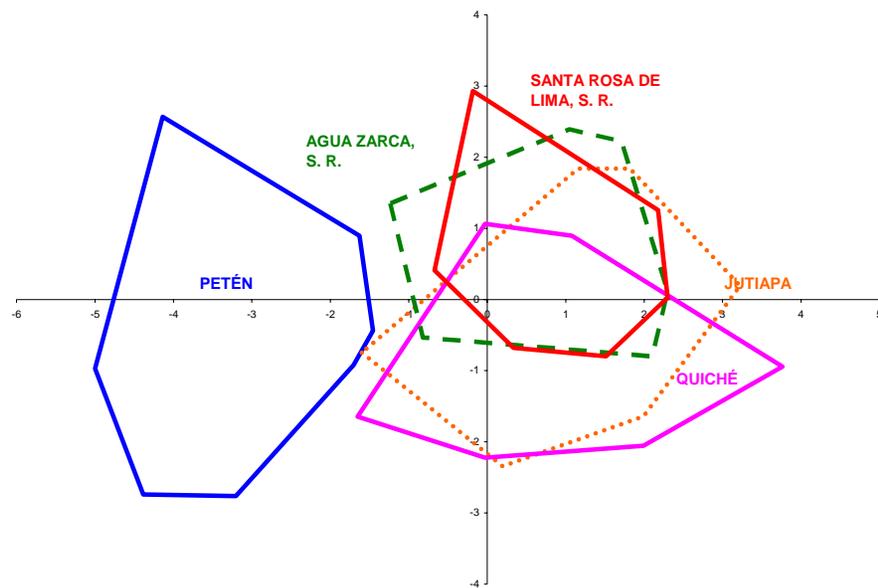
CABEZA



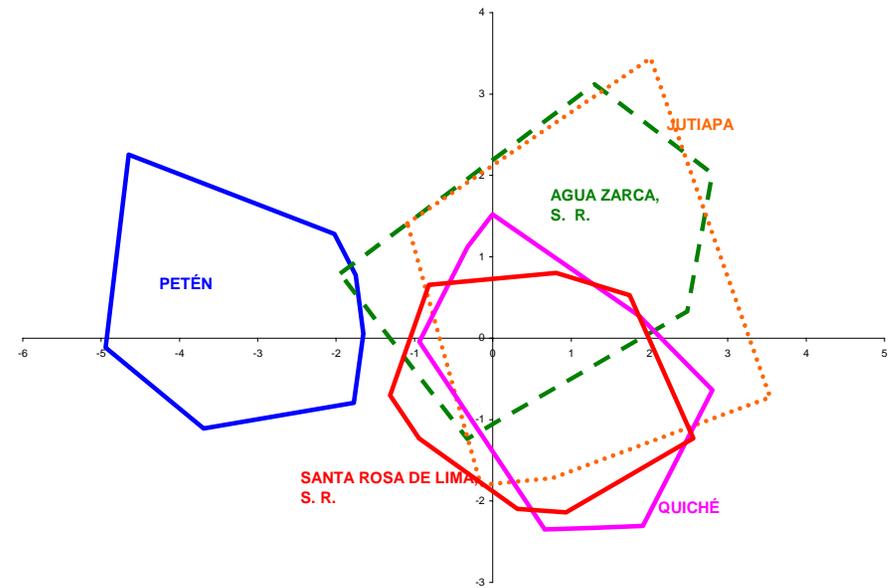


Gráfica 3. Separación de cinco grupos de *Triatoma dimidiata* en base a un análisis discriminante sobre las variables de la forma, obtenidas después de la corrección del tamaño por el método de Klingenberg (1996), en conjuntos de variables medidas sobre el ala (*hemelitrón* izquierdo). El factor discriminante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

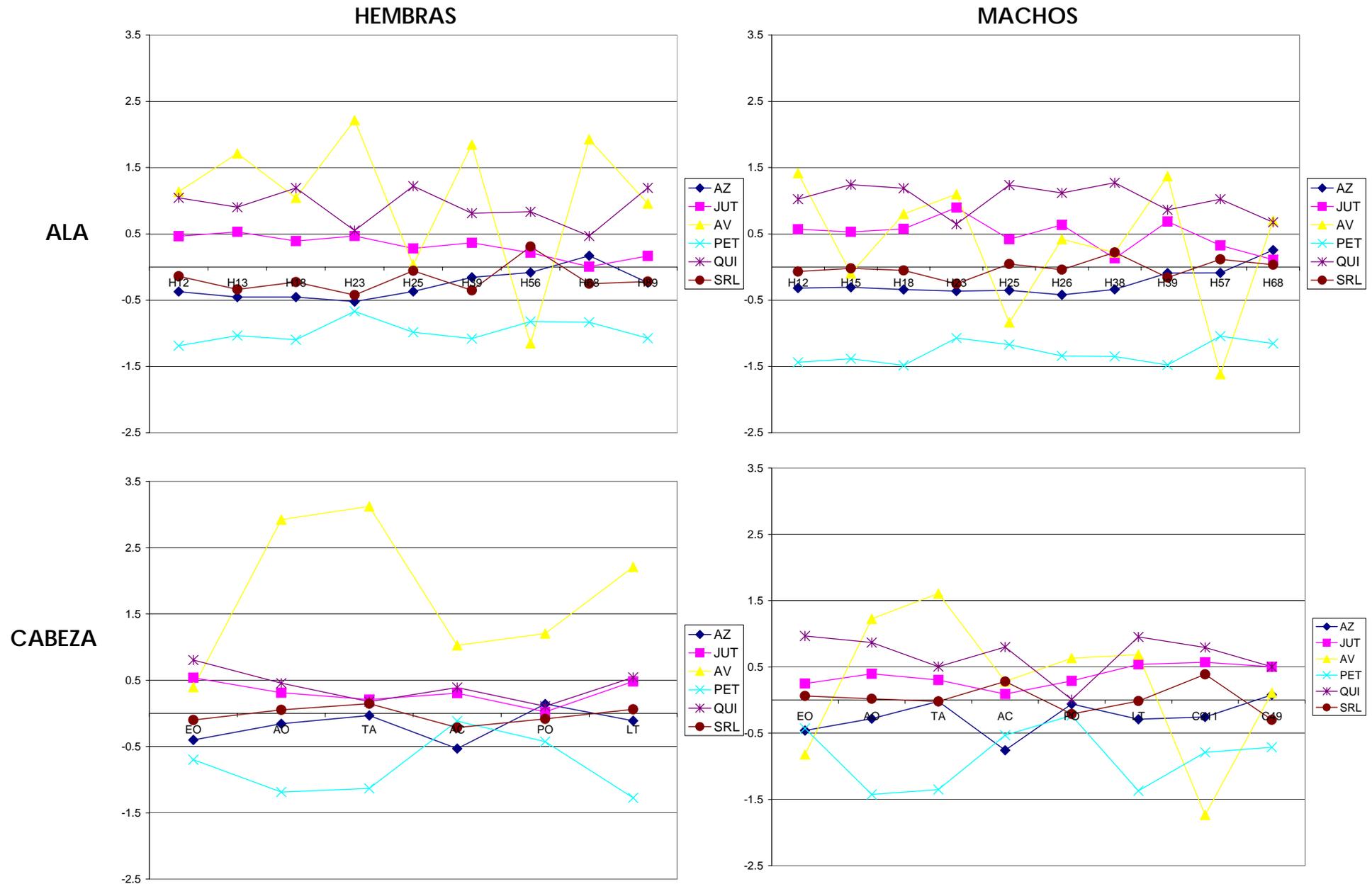
HEMBRAS



MACHOS



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 5, las localidades se describen en la Figura 4.



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.

Tabla 7.

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	Conjunto 1 Ala	Conjunto 2 Ala	Conjunto 1 Ala	Conjunto 2 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 alométrico de la corrección del tamaño por el método de Mossiman que se hizo para los caracteres medidos sobre la cabeza en los machos.

Tabla 8.

Estadísticos de los análisis discriminantes de la Gráficas 5.

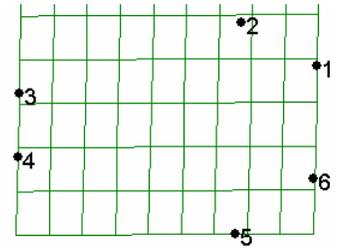
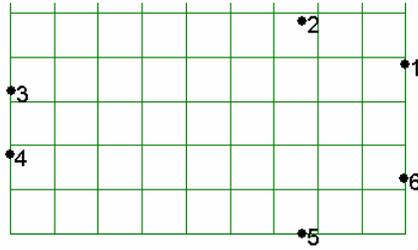
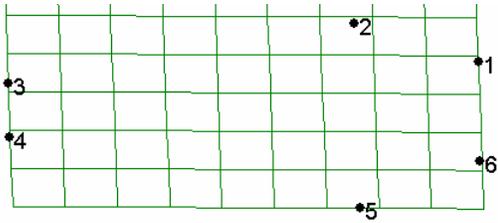
	HEMBRAS		MACHOS	
	Ala	Cabeza	Ala	Cabeza
Wilks' Lambda	0.1912	0.2266	0.3180	0.2044
Sig. Lambda	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
Kappa	0.5628	0.4613	0.4042	0.5094
Sig. Kappa	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
R ² (residuo)	0.0653 (6.53%)	0.4846 (48.5%)	0.0360 (3.60%)	0.5302 (53.0%)
%FD1	61.6438	91.3852	60.1165	89.3693
%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 ® Base 10.0 Applications Guide 1999).

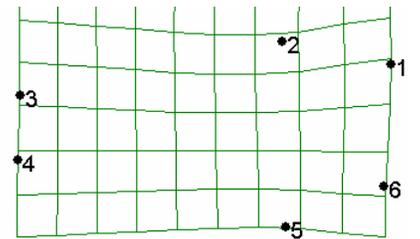
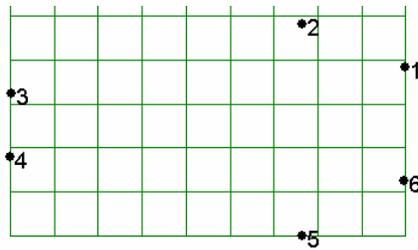
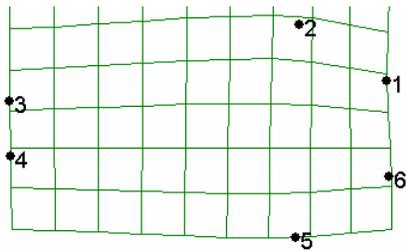
El Kappa proporciona una medición del acuerdo entre la clasificación original de los insectos en grupos, y la reclasificación producida por el análisis discriminante. Tendrá valores entre 0 y 1. Valores entre 0 y 0.20 indican una concordancia leve (cercana al azar); entre 0.21 y 0.40, regular; entre 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 centroide, para calcular el residuo alométrico.

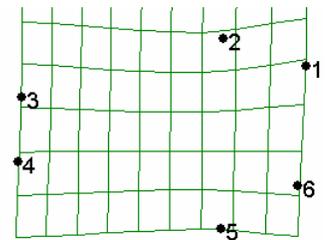
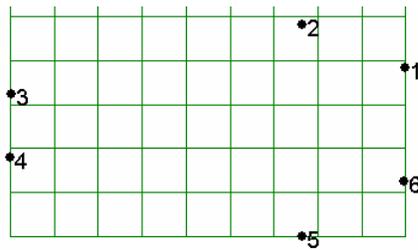
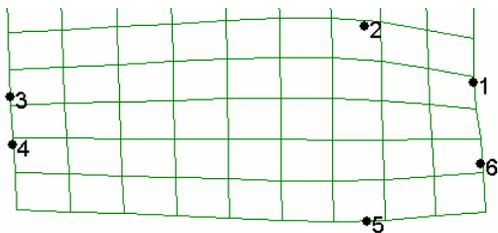
Cambios uniformes



Cambios no uniformes



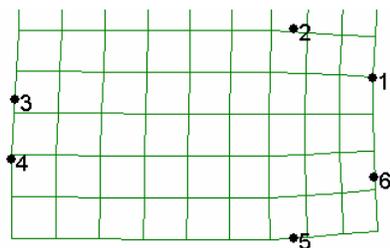
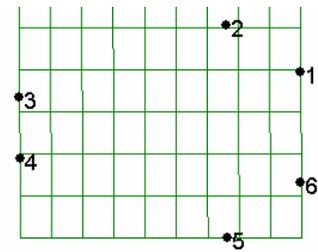
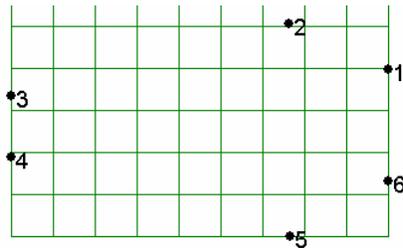
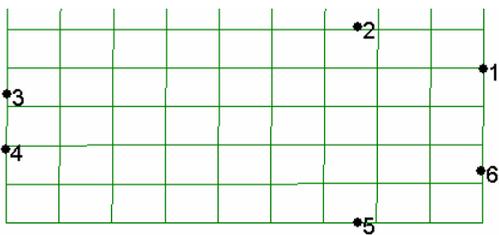
Cambios totales (uniformes y no uniformes)



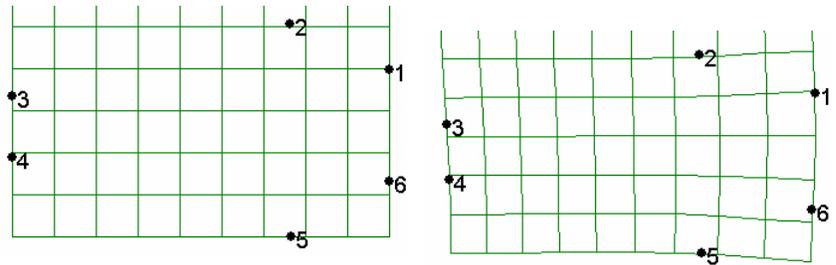
EJE DEL FACTOR DISCRIMINANTE 1 (XP3)			
Componentes No uniformes	1X	0.0672	0.00537 - S
	1Y	0.3405	0.00000 - S
	2X	0.0083	0.33506 - NS
	2Y	0.0405	0.03190 - S
	3X	0.0223	0.11252 - NS
Componentes Uniformes	3Y	0.0099	0.29117 - NS
	UniX	0.0608	0.00817 - S
	UniY	0.7429	0.00000 - S

Gráfica 6. Cambio de la conformación de la cabeza de *T. dimidiata* hembras a lo largo del factor discriminante 1 (FD1). 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. En la tabla se presentan los coeficientes de regresión (R^2) de los componentes en el FD1 y la significancia de la regresión (P) (S = Signficativo, NS = No significativo).

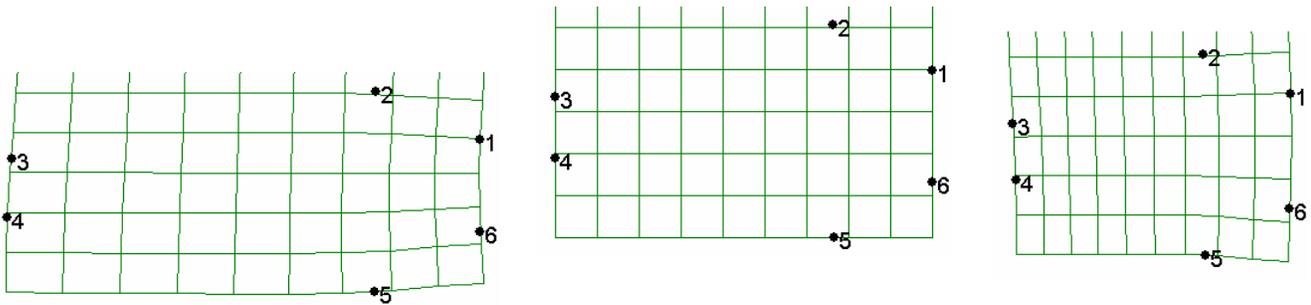
Cambios uniformes



Cambios no uniformes



Cambios totales (uniformes y no uniformes)



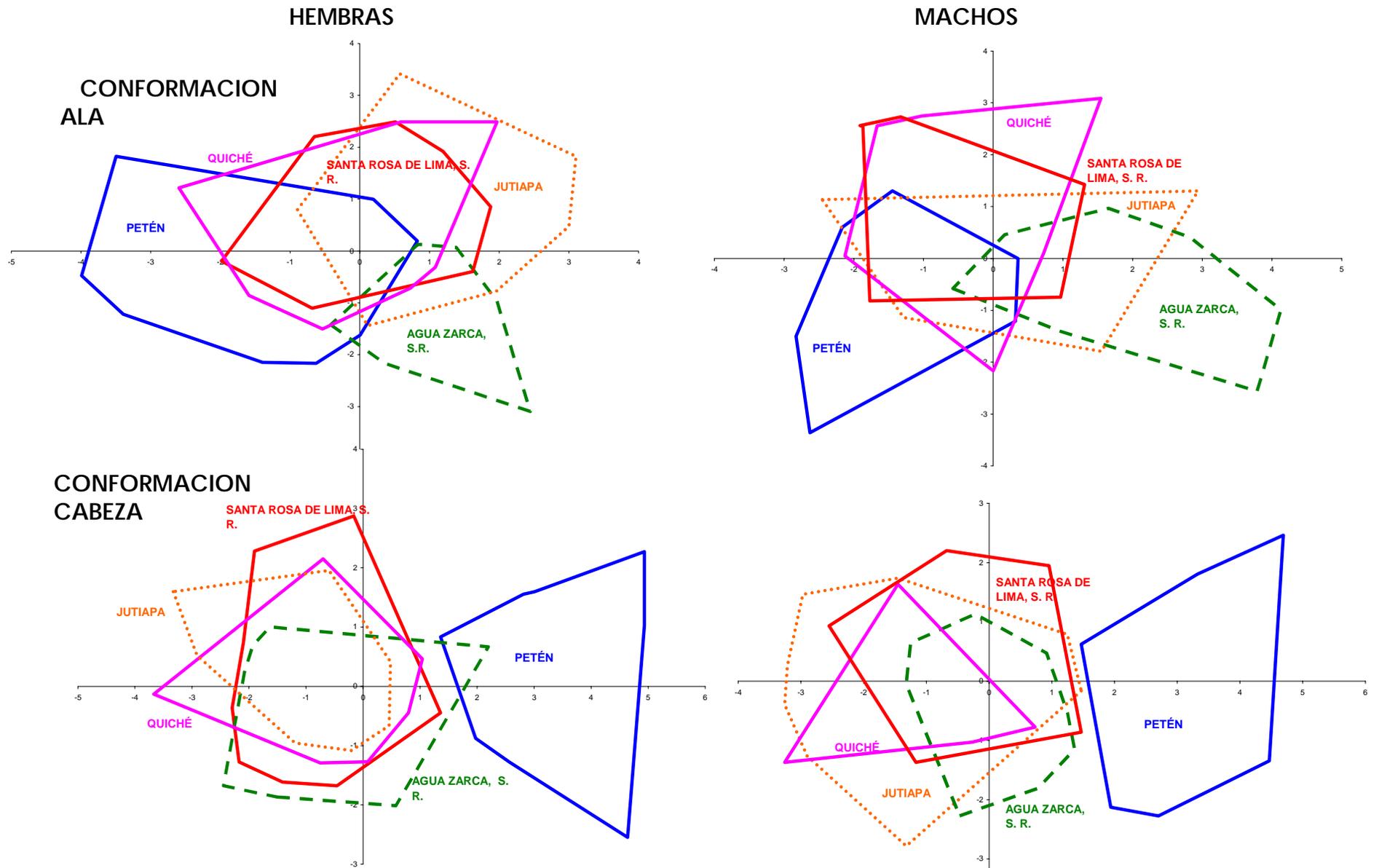
-11.0922
DOMESTICOS

-0.0010

12.5060
PETÉN

		R ²	P
EJE DEL FACTOR DISCRIMINANTE 1 (X 3) 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
	3Y	0.0021	0.61321 – NS
Componentes Uniformes	UniX	0.0035	0.51015 – NS
	UniY	0.7530	0.00000 – S

Gráfica 7. Cambio de la conformación de la cabeza de *T. dimidiata* machos a lo largo del factor discriminante 1 (FD1). 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. En la tabla se presentan los coeficientes de regresión (R²) de los componentes en el FD1 y la significancia de la regresión (P) (S = Significativo, NS = No significativo).

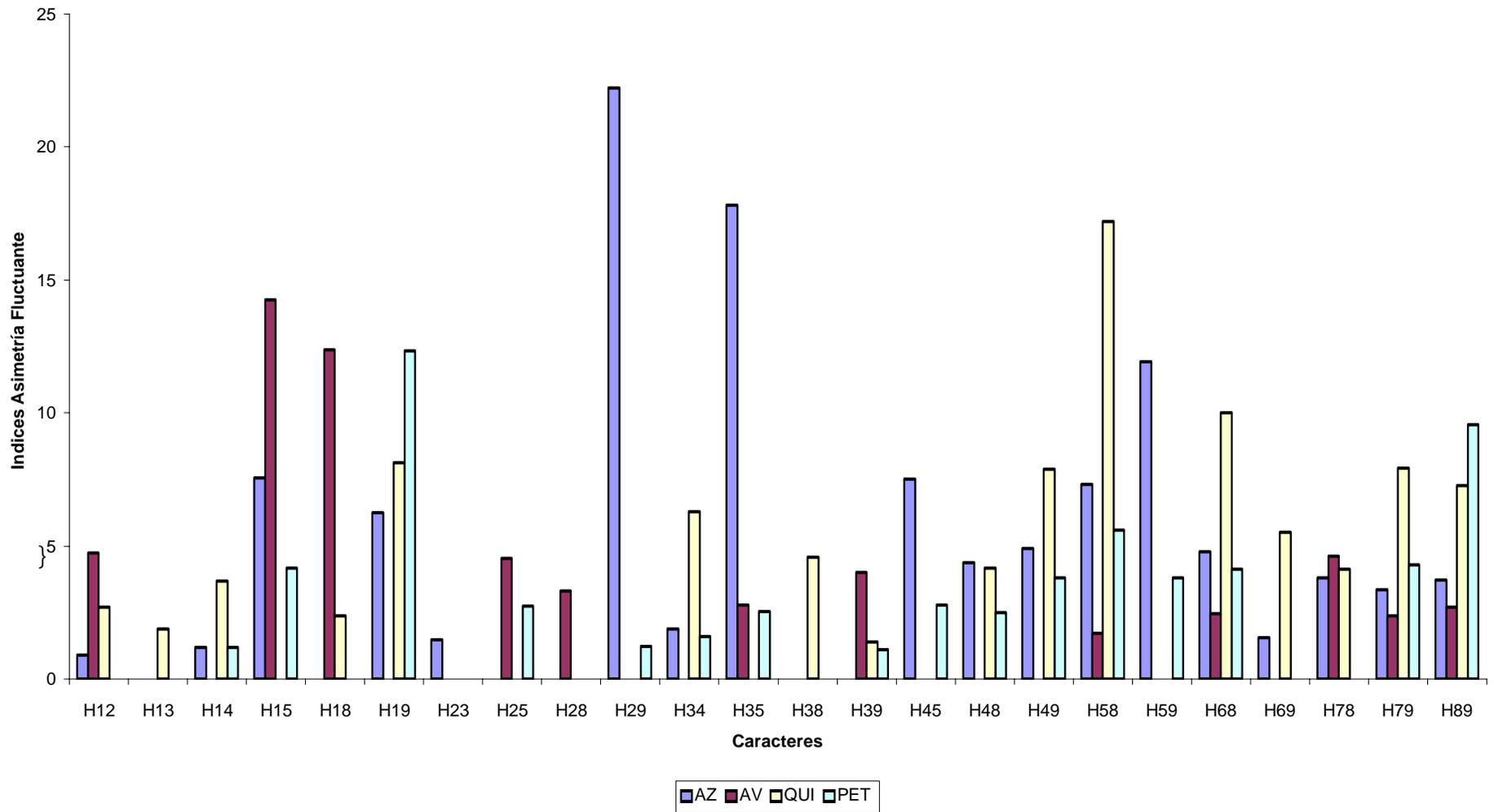


Gráfica 5. Separación de cinco grupos de *Triatoma dimidiata* en base a un análisis discriminante sobre los componentes uniformes y no uniformes de la conformación obtenidos de acuerdo al método de Rohlf *et al* (1996). El factor discriminante 1 está representado en la abscisa y el factor discriminante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

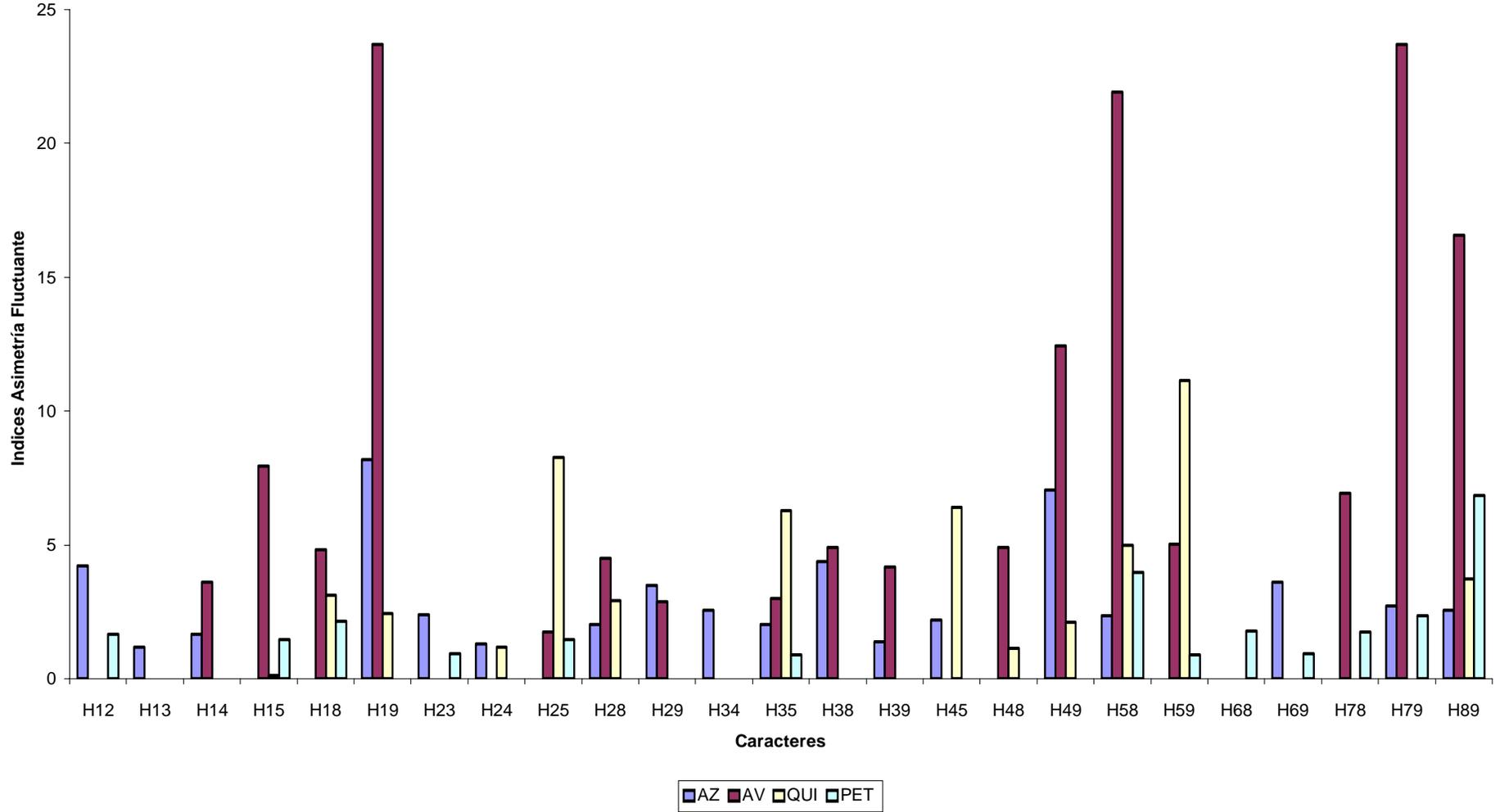
Tabla 9.

Estado de Simetría (S) o Asimetría (A) de los 24 caracteres seleccionados para cada una de las localidades estudiadas. AD significa Asimetría Direccional, AF significa Asimetría Fluctuante, y AS es Antisimetría.

CARÁCTER	HEMBRAS				MACHOS			
	AGUA ZARCA	QUICHE	ALTA VERAPAZ	PETEN	AGUA ZARCA	QUICHE	ALTA VERAPAZ	PETEN
H12	AF	AF	AF	AD	AF	S	S	AF
H13	S	AF	S	AD	AF	AF	S	S
H14	AF	AF	AS	AF	AF	S	AF	S
H15	AF	AF	AF	AF	S	AF	AF	AF
H18	S	AF	AF	S	S	AF	AF	AF
H19	AF	AF	S	AF	AF	AF	AF	AD
H23	AF	S	AS	S	AF	AF	S	AF
H25	AF	AF	AF	AF	S	AF	AF	AF
H28	S	AD	AF	AD	AF	AF	AF	S
H29	AF	S	S	AF	AF	AD	AF	S
H34	AF	AF	AS	AF	AF	AF	S	S
H35	AF	AF	AF	AF	AF	AF	AF	AF
H38	AS	AF	AS	S	AF	AF	AF	S
H39	AD	AF	AF	AF	AF	AF	AF	AD
H45	AF	AF	AS	AF	AF	AF	S	S
H48	AF	AF	AS	AF	AF	AF	AF	S
H49	AF	AF	AS	AF	AF	AF	AF	AD
H58	AF	AF	AF	AF	AF	AF	AF	AF
H59	AF	AF	AS	AF	S	AF	AF	AF
H68	AF	AF	AF	AF	AF	AF	S	AF
H69	AF	AF	S	AD	AF	S	S	AF
H78	AF	AF	AF	S	AF	AF	AF	AF
H79	AF	AF	AF	AF	AF	S	AF	AF
H89	AF	AF	AF	AF	AF	AF	AF	AF
TOTALES								
S	3	2	4	4	4	4	7	8
AD	1	1	0	4	0	1	0	3
AF	19	21	12	16	20	19	17	13
AS	1	0	8	0	0	0	0	0



Gráfica 8. Índices de Asimetría Fluctuante para los 24 caracteres seleccionados en 4 poblaciones de *T. dimidiata* – hembras. Para una descripción de los caracteres ver inciso 7.2, para una descripción de las localidades ver la Figura 1.



Gráfica 9. Índices de Asimetría Fluctuante para los 24 caracteres seleccionados en 4 poblaciones de *T. dimidiata* – machos. Para una descripción de los caracteres ver inciso 7.2, para una descripción de las localidades ver la Figura 1.