

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



Dirección General de Investigación Programa Universitario de Investigación en Ciencia Básica –PUICB-

"Determinación de hábitats y variabilidad fenotípica de poblaciones silvestres de Triatoma dimidiata (Hemiptera: Reduviidae), asociadas a comunidades rurales en la región norte de Guatemala".

Equipo de investigación:

Licda. Marianela Menes Hernández Coordinadora

Ph.D. María Carlota Monroy Escobar Investigadora Asociada Licda. Antonieta Rodas Retana Investigadora Asociada

Br. Mauricio José García Recinos Auxiliar de Investigación Asociado

Diciembre de 2007

Laboratorio de Entomología Aplicada y parasitología –LENAP-Escuela de Biología. Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas.

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

1. Resumen

El objetivo del pesente trabajo fue estudiar la variación fenotípica de poblaciones silvestres de Triatoma dimidiata provenientes de la región norte de Guatemala (Departamentos de Petén, Alta Verapaz e Izabal). Se utilizaron técnicas de morfometría tradicional que permitieron analizar las relaciones intraespecíficas entre poblaciones colectadas en ecotopos naturales y poblaciones colectadas en el interior de viviendas de comunidades rurales asociadas a sitios silvestres. Esta información se obtuvo con el fin de aportar nuevos conocimientos sobre la biología y dinámica poblacional del vector; principalmente para dilucidar la importancia del papel que juegan las poblaciones silvestres como posibles focos de infestación a las viviendas y contribuir de esta manera con las estrategias de control llevadas acabo por el personal del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

Utilizando los cuadernos de referencia de la colección de Tritominos del LENAP, se identificaron los sitios silvestres y las comunidades rurales asociadas a estos con presencia de *Triatoma dimidiata* en la región norte. Se encontraron 16 sitios sitios silvetres, de lo cuales 8 se encuentran en Petén; así como 61 localidades con especimenes domiciliados, de las cuales 55 se ncuentran an Alta Verapaz. Los ecotopos silvestres con presencia de la especie fueron 6 e incluyen cuevas, chultunes, madrigueras, troncos secos, palmeras y cúmulos de piedra.

Para analizar la variación intraespecie, se utilizaron caracteres métricos de la cabeza de los insectos. Las poblaciones se separaron según su procedencia y ecotopo del cual provenían, incluyéndose 2 poblaciones domiciliadas y 8 silvestres provenientes de 4 diferentes ecotopos (chultunes, selva, palmeras y cuevas). Se aplicaron análisis libres de alometría y libres de isometría, con el fin de maximizar, por medio de análisis discriminantes, las diferencias entre los grupos estudiados.

En el caso de los análisis libres de alometría, no se encontró un eje común de crecimiento entre las poblaciones estudiadas, por lo que no se pudieron realizar. Únicamente en el caso de las hembras, al excluir las poblaciones de cuevas y probar diferentes combinaciones de variables, se logró encontrar el modelo, seleccionando el grupo que mejor se adaptaba a este, para realizar el análisis. En los resultados obtenidos en los análisis de isometría, se observó una clara separación de dos grupos. El primero formado por las poblaciones de cuevas de San Luis, Petén y Lanquín Alta Verapaz y el segundo formado

por las poblaciones domiciliadas de Lanquín y Cahabón de Alta Verapaz, y las poblaciones silvestres de Los Amates, Izabal; Ecorregión Lachuá, Alta Verapaz; San Luis, Petén y Lanquín, Alta Verapaz. En todos los análisis realizados Wilk´s Lambda presentó valores cercanos a 0 con vlores de $p \le 0.05$, indicando que al menos uno de los grupos estudiados es significativamente diferente de los demás. Kappa presentó entre 0.34 y 0.47 p ≤ 0.05 , indicando que las reclasificciones van de regulares a moderadas con respecto a la clasificación original.

Dentro del segundo grupo se observó que las poblaciones silvestres de Yaxhá (chultún y selváticas) y la población silvestre de Yucatán, México, tienden a separarse de las poblaciones restantes, lo cual ya ha sido reportado anteriormente. Los resultados también permitieron observar que poblaciones colectadas en una misma localidad, pero en diferente ecotopo no tienden a relacionarse mucho entre sí, sugiriendo que estos ecotopos aportan características particulares que las hacen diferenciables unas de otras. La población de Los Amates en Izabal, colectada en palmeras, parece ser una importante fuente de variación para las poblaciones domiciliadas, mostrando un traslape importante con estas.

Los resultados muestran que la región norte del país, presenta una amplia diversidad de poblaciones de *Tritoma dimidiata*, que deben ser estudiadas a fondo con diferentes marcadores moleculares y fenéticos, ya que pueden representar una fuente importante de reinfestación o de no ser vigiladas pueden llegar a colonizar viviendas y establecer ciclos de infección de la Enfermedad. Por lo anterior los resultados deben ser tomados en cuenta para el planteamiento de las estrategias de control del vector.

2. Introducción

Guatemala se encuentra actualmente dentro de la Iniciativa de los Países de Centroamérica para la Interrupción de la Transmisión Vectorial y Transfucional de la Enfermedad de Chagas (IPCA), la cual tiene entre sus principales objetivos la disminución de la infestación intradomiciliar por el vector Triatoma dimidiata. Esta especie ha sido ampliamente estudiada utilizando diferentes técnicas tanto fenéticas como genéticas. Estos estudios han estado dirigidos principalmente a las poblaciones domésticas de este vector, con el fin de plantear estrategias de control que disminuyan los índices de infestación domiciliar. La principal estrategia utilizada hasta el momento, ha sido la aplicación de insecticidas piretroides en las viviendas, sin embargo, las reinfestaciones o poblaciones residuales de Triatoma dimidiata han sido reportadas después del rociamiento (Acevedo, 2000; Nakagawa, et al., 2003a; Nakagawa et al., 2003b). Estos resultados han evidenciado la necesidad de realizar estudios más profundos sobre la biología y comportamiento de esta especie, incluyendo no solo a las poblaciones domésticas, sino también a aquellas que puedan representar focos de infestación en el futuro, como es el caso de las poblaciones silvestres. De acuerdo con Agudelo (2006), la identificación de focos silvestres lleva a realizar estudios de las poblaciones para conocer mejor su dispersión y capacidad de domiciliación, para evaluar así el posible peligro que pueden representar para el hombre como especies vectoras de la Enfermedad de Chagas.

Una herramienta fenotípica, relativamente fácil de aplicar, que nos puede ayudar a conocer la variación morfológica de las poblaciones silvestres y diferenciarlas entre sí es la Morfometría, ya que la variación fenotípica de *Triatoma dimidiata* ha demostrado ser un buen marcador de diferenciación, así como un orientador de estudios con técnicas más especializadas. El objetivo del estudio fue conocer los ecotopos silvestres asociados a comunidades rurales y compararlos entre sí, con el fin de observar si se podían diferenciar entre ellos. Para lo anterior, se utilizaron mediciones de la cabeza y alas de los insectos, a las cuales se les aplicó técnicas de morfometría tradicional, que permitieron conocer la variación fenotípica intraespecie.

La importancia del estudio consistió en que por primera vez se compararon diferentes poblaciones silvestres, que provienen de una misma región del país en la que este es su principal hábitat y en la que cada vez con más frecuencia los pobladores reportan observar chinches en los ambientes

silvestres o ingresando a sus viviendas atraídos por la luz. Los resultados de este estudio, pueden tener importantes implicaciones en la definición de estrategias que se usaran en la iniciativa para el control de los vectores de la Enfermedad de Chagas en Centro América, ya que es necesario conocer el origen de las poblaciones que llegan a las viviendas; no solo por el riesgo de colonización sino también por el riesgo de reinfestación de focos ya tratados.

3. Antecedentes

La enfermedad de Chagas es endémica del continente americano y esta considerada como una de las enfermedades parasitarias más serias en Latinoamérica (Schofield, 2001). En la región mesoamericana, Guatemala presenta los índices más alarmantes con 4 millones de personas en riesgo, una seroprevalencia estimada en 730,000 casos y una incidencia anual de 28,387 nuevos casos en ausencia de estrategias de control adecuadas (OPS, 2000; Monroy, 2003; Schofield, 2004). A nivel de la Salud Pública, resulta poco factible tratar la Enfermedad de Chagas por lo cual el control se enfoca principalmente en la interrupción de la transmisión mediante la eliminación de las poblaciones de vectores domésticos (WHO, 1991).

El principal vector de la Enfermedad en el país es *Triatoma dimidiata*, una especie nativa de la región de América Central, que se caracteriza por su plasticidad fenotípica, que la hace altamente variable en diferentes aspectos tales como patrones cromáticos, estructuras corporales y proporciones, así como en su comportamiento intradomiciliar (Lent & Jurberg, 1985; Schofield, 2000). Ocupa una amplia variedad de hábitats domésticos, peridomésticos y silvestres (Monroy *et al.*, 1994; Schofield, 2000).

A pesar que *Triatoma dimidiata* se aleja de los vectores epidemiológicamente más importantes de la Enfermedad de Chagas, su amplia distribución y capacidad de colonizar las viviendas humanas, lo ha convertido en el principal objetivo de extensas operaciones de control. Las poblaciones domésticas raramente se asocian con las altas prevalencias de la enfermedad de Chagas y suelen ser pequeñas, pero hay que tener en cuenta que presenta poblaciones silvestres además de su distribución ya conocida, por lo que no se puede considerar como candidata viable para la erradicación utilizando los métodos actuales disponibles (Schofield, 2006).

Desde 1999, Guatemala forma parte de la iniciativa Centroamericana para la interrupción de la transmisión vectorial y transfusional de la Enfermedad de Chagas, quien tiene entre uno de sus principales objetivos la disminución de la infestación domiciliar por el vector *Triatoma dimidiata*. Durante los últimos años se han realizado diversas campañas de control en los departamentos con mayores índices de infestación domiciliar (OPS, 2003), la principal medida que se ha aplicado es el rociamiento

de viviendas con insecticidas piretroides, sin embargo se han reportado constantemente reinfestaciones postrociamiento, desconociéndose si se trata de poblaciones residuales o que infestan desde focos externos a las viviendas (Nakagawa, 2003).

Se ha sugerido constantemente que *Triatoma dimidiata* puede constituir una serie de subpoblaciones relativamente aisladas pero con un pequeño flujo genético entre ellas (Schofield, 2004;
Landaverde, 2004; Menes, 2004), por lo cual es necesario realizar estudios tanto fenéticos como
genéticos que ayuden a aclarar lo anterior. Los estudios poblacionales han contribuido a comprender la
diversidad y estructura de esta especie, pero han sido principalmente aplicados a poblaciones domésticas,
descuidándose aquellas poblaciones silvestres que se han reportado asociadas a poblaciones domésticas y
que ingresan a las viviendas atraídas por la luz; por lo cual no debe dejarse de lado que pueden
representar un importante foco de infestación a las viviendas.

4. Justificación

Entre los principales objetivos de la Iniciativa de los Países Centroamericanos para la Interrupción de la Transmisión Vectorial y Transfucional de la Enfermedad de Chagas –IPCA-, se encuentra la disminución de la infestación intradomiciliar por *Triatoma dimidiata* (OPS, 2002). Esto se debe a que se considera que el 80% de la transmisión total del parásito se da a través de los vectores (OMS, 1991; Guhl, 2000; Schofield, 1994). La principal estrategia de control utilizada hasta el momento, es el rociamiento tradicional de las viviendas con insecticidas piretroides, sin embargo han sido reportadas las poblaciones reinfestantes, constituyendo esto un grave problema en lo que se refiere al control.

Triatoma dimidiata presenta características particulares que la hacen muy variable, además que le permiten ocupar una amplia gama de ecotopos, principalmente silvestres, que hacen que el control no sea efectivo. La región norte del país se caracteriza por conservar aún múltiples ecotopos silvestres en los cuales se puede refugiar esta especie y que incluyen cuevas, selvas, madrigueras, palmeras, chultunes, cúmulos de piedra, entre otros. Con la migración de asentamientos humanos a esta región se han invadido zonas silvestres y las viviendas se han construido cercanas a estos ecotopos en los que se encuentran las chinches, las cuales pueden ser atraídas por la luz de las viviendas y llegar a estas. Cada vez son más frecuentes los reportes por parte de personas de la comunidad que han visto a las chinches en diferentes sitios silvestres o llegar volando a sus viviendas. Datos recientes de disección de ampollas rectales para búsqueda del parásito en el LENAP, mostraron que dos chinches silvestres colectadas recientemente en una palmera en el departamento de Izabal, presentaron una alta parasitemia, lo cual nos indica que es de suma importancia estudiar estas poblaciones y conocer cual es el origen de las chinches que llegan volando a las viviendas, ya que se podría llegar a establecer un ciclo de transmisión.

Las especies de mayor significación epidemiológica son las que colonizan fácilmente las viviendas de los humanos, sin embargo, muchas de las especies principalmente selváticas invaden ocasionalmente las casas, atraídas por la luz, y pueden contribuir a la transmisión de *T. cruzi* a los humanos (Schofield, 1994; Lent & Wygodzinsky, 1979). La infección por *Trypanosoma cruzi* existe en muchas áreas como un ciclo entre el Triatomino silvestre y los mamíferos pequeños como roedores y marsupiales. En muchos lugares no hay ningún contacto humano con la chinche silvestre; la infección humana sólo ocurre a

través del contacto accidental con ésta, o por iniciación de un ciclo doméstico de transmisión cuando invaden y colonizan casas. (Schofield, 1994; Schofield, 2000).

Schofield (2005), considera que el origen de Triatoma dimidiata esta en la península de Yucatán, sin embargo es en la región norte de Guatemala donde se manifiesta la mayor variación morfológica y donde se han descrito al menos dos diferentes citotipos (Panzera, 2006). La presencia de poblaciones silvestres asociadas a poblaciones domesticas y peridomesticas implica un cambio radical en las estrategias de control, ya que no es posible seguir pensando en un rociamiento permanente. El paso inicial es clarificar si realmente las poblaciones silvestres son las que están entrando en las viviendas después del rociamiento y considerar la biología y epidemiología de estas poblaciones, para que el rociamiento se mantenga únicamente en los lugares de alto riesgo. En Nicaragua se ha encontrado que hay poblaciones silvestres que aportan genes a las poblaciones domesticas y que estas poblaciones selváticas se encuentran en acantilados rocosos, afectando solamente algunas comunidades y no otras (Schofield, 2005). Estudios realizados en Colombia, mostraron una clara asociación entre poblaciones de cuevas y poblaciones provenientes de vivienda humanas cercanas y sus peridomicilios (Ramírez et, al., 2004).

Con este trabajo se pretendió determinar el tipo de ecotopos silvestres en los que se encuentra Triatoma dimidiata y aclarar por medio de técnicas morfométricas el papel que tienen algunas de estas poblaciones del Norte de Guatemala, en la infestación doméstica de la misma región, para replantear las estrategias de control en este tipo de áreas.

5. Objetivos

1. General:

Estudiar la variación fenotípica de poblaciones silvestres de *Triatoma dimidiata* de la región norte de Guatemala, utilizando técnicas de Morfometría Tradicional.

5.2 Específicos:

Determinar los diferentes hábitats silvestres asociados a comunidades rurales en los que se encuentra Triatoma dimidiata en la región norte de Guatemala.

Analizar si existen diferencias morfométricas entre poblaciones de *Triatoma dimidiata*, de diferentes hábitats silvestres en la región norte de Guatemala.

Analizar por medio de técnicas morfométricas la posible procedencia de los especimenes de *Triatoma dimidiata*, colectados en viviendas de comunidades asociadas a hábitats silvestres de esta especie en la región norte de Guatemala.

Contribuir con los conocimientos sobre la biología y dinámica del principal vector de la Enfermedad de Chagas en Guatemala, como aporte para el planteamiento de estrategias de control.

6. Revisión de Literatura

6.1 La Enfermedad de Chagas

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

Originalmente, la enfermedad fue una zoonosis y ha pasado a afectar al hombre por el proceso de domiciliación de sus insectos vectores. La interacción entre los ciclos doméstico y silvestre, ocurre como producto de diversoso factores, la mayoría de ellos dependientes del comportamiento humano (Agudelo, 2006).

Por su amplia distribución geográfica y las numerosas personas que corren el riesgo de ser infectadas, la Enfermedad de Chagas puede considerarse como una de las más importantes de las enfermedades tropicales (WHO, 1990, 1991; World Bank, 1993). A escala global, las estimaciones del Banco Mundial (1993) sitúan a la Enfermedad de Chagas en tercer lugar entre las causas más importantes de discapacidad atribuible a las enfermedades parasíticas (después de la malaria y esquistosomiasis). Datos disponible de WHO indicaban unos 16 millones de infectados o por lo menos con serología positiva para *T. cruzi* y 65 millones de personas expuestas al riesgo de infección (PAHO, 1984). Más recientemente hay datos que del total de 360 millones de personas que habitan los países endémicos, al menos 90 millones (25% de la población) se consideran en riesgo de infección y 16-18 millones están infectados (OMS, 1991). Schofield (2000) estimó una prevalencia de alrededor de 2.3 millones de personas infectadas en América Central y México, lo cual puede indicar, según el modelo de Hayes & Schofield (1990) una incidencia que sobrepase las 70,000 nuevas infecciones al año en ausencia de medidas de control.

Tabla 1. Prevalencia estimada e incidencia anual de la infección Chagásica en México y Centro América (Tomada de Schofield, 2000)

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

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

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

6.2 Vectores

Los Triatominos son una subfamilia de Hemípteros caracterizados en base de su hábito hematófago obligado (Schofield, 1994). Poseen alas delanteras con la porción basal engrosada y coríacea, y la apical membranosa (se denominan Hemelitra). Las partes bucales son del tipo picador chupador y presentan ojos compuestos bien desarrollados. Estos insectos tienen una metamorfosis simple y por lo

general cinco estadios ninfales. (Borror *et. al*, 1989). Se conocen 128 especies agrupadas en 17 géneros y 5 tribus (Schofield *et. al*, 1999). Estas están distribuidas en regiones tropicales y subtropicales, y más de la mitad ha sido natural o experimentalmente infectadas con *T. cruzi*. Probablemente deben considerarse todas las especies de Triatominae como vectores potenciales.

En el caso de los humanos, la transmisión del parásito se da a través de las deyecciones de las chinches (OMS, 1991). La infección por *Trypanosoma cruzi* existe en muchas áreas como un ciclo entre el Triatomino silvestre y los mamíferos pequeños como roedores y marsupiales. Todos los Triatominos son originarios del ambiente natural, tornándose epidemiológicamente importantes en la medida en que estrechan su relación con el hombre (Diotauiti, 2006). En muchos lugares no hay ningún contacto humano con la chinche silvestre; la infección humana sólo ocurre a través del contacto accidental con ésta, o por iniciación de un ciclo doméstico de transmisión cuando invaden y colonizan casas. (Schofield, 1994; Schofield, 2000).

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

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

Las especies de Triatominos con poblaciones silvestres y domiciliadas, representan un potencial riesgo para los programas de control de la Enfermedad de Chagas porque pueden infestar fácilmente las áreas tratadas a partir de sus poblaciones silvestres (Borgues et al., 1999; Costa, 1999; Angulo, 2006; Agudelo, 2006).

6.3 El Triatoma dimidiata Latreille

Clasificación

Pertenece a la clase Insecta, orden Hemiptera, Familia Reduviidae, subfamilia Triatominae, Tribu Triatomini, complejo Phyllosoma (Dujardin, Schofield & Panzera, 2000; Sherlock, 2000), aunque recientemente, Carcavallo *et. al,* (2000) opinan que en México hay tres especies relacionadas con *T. dimidiata,* las cuales son *T. hegneri, T. gomeznunezi* y *T. brailovskyi;* las cuales forman un complejo específico, con caracteres plesiomórficos muy similares a los de las Triatomas de Sur América y completamente diferentes a las de México y Estados Unidos.

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

Biología, Importancia Epidemiológica y Retos de Control

Triatoma dimidiata es una especie completamente nativa de la región de América Central (Schofield, 2000). Está considerada como uno de los vectores más importantes en Centro América y partes de México. Se ha reportado la presencia de poblaciones domésticas y peridomésticas en contacto con poblaciones silvestres locales en el sur de México, Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá y algunas partes de Colombia (Schofield, 2006; Ramírez, et al., 2004).

En Guatemala, es el principal vector de la Enfermedad de Chagas (Monroy, 1992; OPS, 2000). Esta especie es capaz de colonizar viviendas humanas, especialmente aquellas de adobe o bajareque, en las cuales se esconden en las grietas de las paredes. Se cree que el transporte pasivo de leña del campo a las viviendas representa un medio importante para la entrada de la chinche al ambiente humano; otro medio es la atracción por la luz artificial, ya que esta especie tiene gran capacidad de vuelo (Monroy, 1992, Schofield 1994). Es decir, que esta especie autóctona de la región, ocupa en general ecotopos

naturales y artificiales que pueden estar próximos a las casas, asociados a reservorios silvestres y peridomiciliares, presentando diferentes grados de antropofilia (Schofield, 2005; Panzera et al., 2006).

De acuerdo con la clasificación de Guhl (2000), *Triatoma dimidiata* se encuentra dentro de las especies adaptadas de manera relativamente estable a la vivienda, pero que también conservan importantes ecotopos silvestres. En Guatemala, la abundancia y diversidad de poblaciones de *Triatoma dimidiata* representa el mayor reto para el control vectorial, donde la presencia de poblaciones selváticas puede representar uno de los mayores obstáculos para el control de la especie (Schofield 2000).

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

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

La alta variabilidad de la especie se refleja también en los diferentes ecotopos en que puede encontrarse: cuevas ocupadas por murciélagos, montículos de piedra, montículos de adobe, ruinas, nidos de roedores o marsupiales, árboles huecos, palmeras (Zeledón 1981, Monroy 1992, Schofield 1994, Monroy et al. 2003c). En la actualidad, las poblaciones silvestres no se consideran candidatos factibles para su eliminación de la región, implicando que el control debe estar basado mayoritariamente en la eliminación de poblaciones domésticas, seguida de vigilancia e intervenciones designadas a impedir la recolonización desde focos silvestres (Schofield 2000).

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

6.4 Morfometría

La morfometría es la descripción cuantitativa, análisis e interpretación de la forma y la variación de esta en biología (Rohlf 1990). Tradicionalmente las variables usadas en los análisis morfométricos son las coordenadas de los puntos o distancias entre puntos. Una meta de la selección de variables en la Morfometría, es reducir el volumen de datos tanto como sea posible, pero sin perder la habilidad de representar la forma de las estructuras adecuadamente (Rohlf 1990). Se ha mostrado que la discriminación entre grupos es mejor con el uso de distancias (Strauss & Bookstein, citados por Rohlf 1990)

Se pueden encontrar dos tipos de Morfometría, la Tradicional y la Geométrica. La Morfometría Geométrica es una técnica que preserva la información de la geometría del organismo, mientras que la Morfometría Tradicional es una aplicación de métodos estadísticos multivariados a colecciones arbitrarias de variables de tamaño o conformación. La diferencia entre estos dos tipos, consiste en que en la Morfometría Tradicional se definen las longitudes o mediciones con el fin de registrar aspectos biológicos significativos del organismo, pero no se toman en cuenta las relaciones geométricas entre estas mediciones (Jaramillo & Dujardin 2002). En el presente estudio se va a aplicar Morfometría Tradicional o Multivariada. (Rohlf & Marcus 1993).

Morfometría Tradicional

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

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

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

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

Crecimiento Isométrico: El crecimiento isométrico es un caso particular de la alometría y se presenta cuando la velocidad de crecimiento es la misma que la del crecimiento global. Este tipo de crecimiento es una excepción en la naturaleza. En Morfometría tradicional es el cambio de tamaño global que se puede estimar con un vector que tiene todos sus coeficientes idénticos. (Jaramillo &

Dujardin 2002). El cambio isométrico resulta de la multiplicación de todas las dimensiones de un organismo por un mismo coeficiente, por lo que al aumentar el tamaño la forma permanece constante.

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

Tipos de Análisis en Morfometría Tradicional

A partir de los vectores de crecimiento se pueden realizar los análisis de Morfometría Tradicional, los cuales corresponden a análisis libres de tamaño alométrico y análisis libres de tamaño isométrico, con los que se persigue reducir los efectos ambientales y enfatizar el estudio del trasfondo genético responsable de la variación métrica.

La Morfometría en el estudio de variación intraespecífica

Para los estudios de la variación intraespecífica, es importante entender la definición de plasticidad fenotípica, la cual es la habilidad de un genotipo para producir más de una alternativa de forma morfológica, estado fisiológico y/o comportamiento en respuesta a las condiciones ambientales. Es decir que los cambios morfológicos dentro de una misma especie se consideran plasticidad fenotípica la cual juega un papel determinante en los procesos de especiación (West-Eberhard 1989). La plasticidad fenotípica no ha sido considerada como un factor importante en la evolución ya que evolución en general se define como un cambio en las frecuencias génicas, por lo que las variaciones asociadas con las condiciones ambientales no se consideran evolución. Sin embargo, el ambiente no es un agente de selección sólo en el sentido de que es la "arena" donde diferentes fenotipos alcanzan diversos grados de sobrevivencia y éxito reproductivo. Es también un agente de desarrollo, el cual influencia el rango de fenotipos que serán producidos por un genotipo. Los cambios fenotípicos son los primeros que ocurren en el proceso de la llegada de una población a un nuevo hábitat o nicho. El significado evolutivo de estos cambios radica en que permiten la persistencia y modificación de formas intragenómicas

divergentes; lo que significa que formas divergentes pueden volverse disociadas con poco o ningún cambio genético y sin aislamiento reproductivo (West-Eberhard 1989, Tomado de Bustamante 2001).

A menudo, la respuesta de los organismos a las fuerzas selectivas se puede manifestar como la adaptación de un número de rasgos a muchos factores biológicos y ambientales interdependientes. Morfológicamente, las respuestas pueden ocurrir de una forma multidimensional, en lugar de un cambio en un solo carácter. Las poblaciones y las especies se pueden traslapar cuando los caracteres son estudiados individualmente, pero pueden volverse identidades distintas cuando muchos caracteres se consideran juntos (Foottit 1992). Es decir, que al comparar conjuntos de individuos pertenecientes a diferentes entornos espaciales o ecológicos, frecuentemente se detecta una variabilidad Morfométrica importante, que corresponde a los atributos biológicos del grupo de organismos bajo estudio, no de los individuos por separado, y se obtienen del análisis del conjunto de rasgos morfométricos (Jaramillo & Dujardin 2002). Las primeras modificaciones que resultan de la separación geográfica son cambios en los caracteres cuantitativos (Falconer 1981), y las distancias entre dos puntos son caracteres cuantitativos continuos que se utilizan en genética cuantitativa para tratar de cuantificar estadísticamente su contribución al fenotipo (Dujardin 2000).

Morfometría Aplicada a Triatominos

Hasta la fecha, la morfometría se ha utilizado como un marcador fenético en los triatominos, aplicándose a diferentes campos tales como filogenética, diferenciación de ecotopos, diferenciación geográfica, etc. (Dujardin *et al.* 2000. Dujardin *et al.* 1997a. Schofield *et al.* 1996. Casini *et al.* 1995. Bustamante, 2001. *Monroy* et al. 2003b. Bustamante *et al.* 2004.).

La aplicación de marcadores fenéticos de relativamente fácil aplicación resulta de utilidad para conocer diferencias entre poblaciones las cuales pueden ser tomadas en cuenta en casos como infestaciones de individuos de poblaciones distintas a las que se encuentran en un lugar (Como en el caso de darse un transporte pasivo de un lugar a otro).

6.5 Sistemas de Información Geográfica

Los Sistemas de Información Geográfica (SIG) son sistemas para la recopilación, almacenamiento, integración, análisis y presentación de datos referenciados en el espacio. Permiten la rápida representación gráfica de mapas de enfermedades y de las exposiciones ambientales (OMS; 2003).

7. Metodología

7.1 Colecta de especimenes silvestres de Triatoma dimidiata:

Las colectas se realizaron en regiones selváticas asociadas a comunidades rurales, en los departamentos de Petén, Izabal y Alta Verapaz. Se realizaron tres viajes de campo en los que se colectó todo el material posible, colocando trampas de luz para colecta nocturna y realizando búsqueda activa de especimenes en viviendas, cuevas y palmeras.

Búsqueda Activa: Consistió en la búsqueda detallada del vector con la ayuda de pinzas y linternas.

Cuevas: Se ingresó a cada cueva por un lapso de 20 a 25 minutos, durante los cuales se revisó cuidadosamente con la ayuda de linternas. Se descansó fuera de la cueva por aproximadamente cinco minutos y se volvió a ingresar. Lo anterior se repitió por dos o tres veces, dependiendo del tamaño de la cueva. Se revisaron siete cuevas en San Luis, Petén y 10 en Lanquín y Santa María Cahabón en Alta Verapaz.

Palmeras: se solicitó autorización en diferentes fincas para botar palmeras viejas o muertas, de preferencia invadidas por matapalo. Se revisó cuidadosamente cada una de las brácteas. Se trabajaron 4 palmeras en el municipio de Los Amates, Izabal.

Revisión de viviendas: Se empleó el método hombre-hora, en el cual se revisararon las viviendas por un lapso de aproximadamente 25 a 30 minutos, con la ayuda de pinzas y linternas.

Trampas de luz: Se utilizaron trampas con luz ultravioleta, las cuales consisten en un bote de plástico blanco con un embudo y su respectiva lámpara. Se colocaron aproximadamente de las 18:00 a las 23:00 horas en los alrededores de comunidades rurales asociadas a hábitats silvestres o en sitios silvestres. Se utilizaron cuatro trampas que se colocaron cada 50 o 100 metros. Alrededor de cada trampa se pusieron sábanas blancas para facilitar la búsqueda de las chinches. De las 19:00 a las 21:00 horas se revisaron

cada 15 a 20 minutos aproximadamente y en las horas restantes cada media hora. En cada revisión se buscó cuidadosamente con ayuda de linternas en un radio de 5 metros alrededor de cada trampa.

El material colectado, vivo o muerto, fue trasladado al Laboratorio de Entomología Aplicada y Parasitología –LENAP-. Los especimenes vivos, adultos o ninfas, se colocaron en cultivos que fueron alimentados semanalmente, con el fin de obtener la mayor cantidad posible de chinches adultas. Los especimenes muertos fueron ingresados con sus respectivos datos de colecta en la colección de referencia del LENAP.

7.2 Determinación de hábitats silvestres de Triatoma dimidiata y comunidades rurales asociadas.

Revisión de cuadernos de la colección de referencia del LENAP: Se realizó una búsqueda minuciosa de especimenes de Triatoma dimidiata procedentes de la región norte de Guatemala (Petén, Izabal y Alta Verapaz), en los cuadernos de registro de colecta y colección del LENAP. En una base de datos se ingresaron los datos encontrados: código del especimen, procedencia (localidad, municipio, departamento), tipo de hábitat (silvestre o doméstico), lugar de colecta (palmera, cueva, vivienda, nido de mamífero, etc.) y fecha de colecta. Posteriormente se realizó un listado de los sitios silvestres con presencia de Triatoma dimidiata, así como de las comunidades rurales asociadas a estos en los tres departamentos estudiados.

7.3 Sistema de Información Geográfica –SIG-.

Cada sitio revisado en el que se encontró especimenes de *Triatoma dimidiata*, durante las colectas de campo, fue georeferenciado guardándose las coordenadas de ubicación y altitud a la que se encontraban. En el caso de las localidades identificadas en los cuadernos de referencia del LENAP, se buscó en la base de datos del SIG del LENAP si se encontraban las coordenadas correspondientes. En los casos en los que no, se obtuvieron los datos en el diccionario geográfico (IGN).

Los datos fueron ingresados a una base de datos de SIG y se sobrepusieron en mapas de uso de la tierra, altitud y relieve.

7.4 Selección de material biológico para técnicas morfométricas.

Con los códigos encontrados en los cuadernos, se realizó la búsqueda de los especimenes de Triatoma dimidiata en la colección de referencia. Los especimenes provienen tanto de colectas realizadas por investigadores del LENAP o del personal de malaria, así como de la participación comunitaria de pobladores de las comunidades.

Cada espécimen fue revisado para comprobar el estado en el que se encontraba y si contaba con sus estructuras. Una vez seleccionado el material en buen estado, se procedió a revisar que localidades o municipios contaban con el tamaño de muestra requerido para los análisis morfométricos (12 especimenes). Debido a que en el caso de las poblaciones silvestres el material con el que se contaba en la colección del LENAP era muy poco y en muchos casos las alas ya habían sido utilizadas para otros estudios, el material debía ser complementado con las colectas de campo, sin embargo, debido a problemas en la ejecución de los fondos para viáticos no se pudieron realizar todas las colectas y no se alcanzaron los tamaños de muestra requeridos, por lo que los análisis no fueron significativos, por lo que no se presentan los resultados. La tabla 2 muestra las poblaciones seleccionadas, su procedencia, hábitat y tamaño de muestra, tanto para hembras como para machos.

Tabla 2. Poblaciones estudiadas y tamaños de muestra.

Localidad	Procedencia o hábitat	Tamaño de muestra	
		Machos	Hembras
Cahabón, Alta Verapaz	Domésticas	15	14
Ecorregión Lachuá	Colectadas en viviendas atraídas por luz	7	13
Lanquín, Alta Verapaz	Cuevas	15	16
Lanquín, Alta Verapaz	Domésticas	12	13
Los Amates, Izabal	Silvestres de palmeras	24	13
San Luis, Petén	Cuevas y atraídas por luz	9	10
Yaxhá, Petén	Chultunes	13	20
Yaxhá, Petén	Trampas de luz, palmeras, madrigueras	20	14
Yucatán, México	Silvestres	8	7
Amatitlán, Guatemala	Participación comunitaria. Silvestres		12

7.5 Morfometría Tradicional.

Las variables utilizadas fueron mediciones de las cabezas de especimenes de *Triatoma dimidiata*. En una base de datos electrónica (Exel), se colocó la procedencia, hábito y fecha de colecta de los especimenes seleccionados.

Selección y tamaño de muestra: La muestra se seleccionó a conveniencia, de acuerdo a los individuos que estaban a disposición del LENAP. En Morfometría Tradicional, idealmente los grupos deben tener el doble de individuos que de variables medidas en un Análisis Discriminante. En estudios realizados en LENAP, se han utilizado 5 variables para este tipo de análisis, obteniéndose buenos resultados por lo que el número mínimo de individuos que se requería era de 10 adultos de cada sexo (Bustamante et al., 2004; Calderón et al., 2005). Se utilizaron adultos ya que los análisis deben realizarse en base a un mismo grupo etario y se trabajó por separado machos y hembras, debido a que presentan dimorfismo sexual.

Preparación de material

Cabezas: A cada insecto se le removió la cabeza con ayuda de pinzas de disección. Se montaron en alfileres en los cuales se fijaron a un triángulo de acetato con esmalte de uñas. En un triangulo de papel bond se colocó la identificación de cada muestra.

Colecta de datos morfométricos: Las imágenes de las cabezas fueron captadas utilizando un sistema de video (Cámara Olympus OLY-750, conectada a un estereoscopio Olympus SZ-STS). Las imágenes captadas se transmitieron a una computadora y fueron captadas por medio del software TVR. Para la toma de puntos se utilizó el programa tpsDig® (Rohlf, 2001) el cual sirve para analizar imágenes. Se obtuvieron las coordenadas de 14 puntos de la cabeza de cada individuo (Figura # 1).

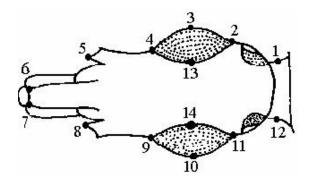


Figura # 1. Cabeza de Triatoma dimidiata con los 14 puntos que serán tomados.

Distancias Morfométricas: A partir de las coordenadas, se obtuvieron las mediciones morfométricas. Esto se realizó utilizando el programa TET_05 (Dujardin, JP) el cual calcula todas las distancias posibles entre los puntos y las convierte en sus logaritmos naturales. A partir de los datos obtenidos, se construyeron matrices de varianza-covarianza para ser utilizadas en los análisis.

Análisis Morfométricos

En morfometría tradicional se utilizan dos aproximaciones para analizar los datos: análisis libre de isometría y análisis libre de alometría.

Análisis libre de alometría (Jaramillo & Dujardin, 2002; Dujardin 2000): aplica el método propuesto por Klingenberg (1996) para la corrección del tamaño e indica que la eliminación del efecto del crecimiento implícito en los datos multivariados (tamaño) se logra proyectando los puntos de datos sobre un espacio que es ortogonal al vector de crecimiento. Se utilizaron 5 variables para representar la configuración general de la cabeza (Largo y ancho). Las variables fueron las distancias entre los puntos 1-2, 1-6, 3-10, 4-5 y 13-14 (ver figura 1). Para que este método pudiera ser aplicado a un conjunto de variables, fue necesario probar en primer lugar la compatibilidad de los datos con el modelo de un eje alométrico común, es decir, el modelo de los componentes principales comunes (Dujardin & Le Pont, 2000) por medio de una prueba de Chi cuadrado (X²) de bondad de ajuste. Este análisis es muy riguroso en cuanto al número de variables que pueden ser utilizadas, ya que se recomienda usar la mitad del número de individuos del grupo más pequeño a ser analizado.

En ninguno de los casos, tanto en machos como en hembras, el conjunto de variables seleccionado siguió el modelo necesario, por lo que se probaron 5 combinaciones de 4 variables, a partir del juego original, sin lograrse nuevamente en ninguno de los casos, que hubiera compatibilidad en el modelo. Debido a lo anterior se procedió a realizarse el segundo análisis.

Análisis libre de isometría (Jaramillo & Dujardin, 2002; Dujardin, 2000): Aplica el método de Mossiman y también se denomina Análisis de la Conformación (1970, citado por Dujardin 2000), e indica que la conformación C puede ser definida de la siguiente manera:

$$C = X/T$$

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

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

Se calcularon un total de 91 distancias correspondientes a todas las distancias posibles entre los catorce puntos tomados en las cabezas (ver figura 1). Este análisis no requiere una asignación a priori de los grupos, por lo que se considera a todos los individuos como un mismo grupo; es por esto que este análisis permite trabajar con un número mayor de variables. Se seleccionó un total de 27 distancias que representaran lo mejor posible el ancho y largo de la cabeza si ser redundantes. Las medidas utilizadas fueron las distancias entre los puntos: 1,2, 1,5, 1,6, 1-12,2-4, 2-5, 2-6, 2-11, 3-10, 3-13, 4-5, 4-6, 4-9, 5-6, 5-8, 6-7, 7-8, 7-9, 7-11, 7-12, 8-9, 8-11, 8-12, 9-11, 10-14, 11-12, 13-14 (ver figura 1).

A partir de las distancias se obtuvieron variables de conformación o variables libres de tamaño isométrico al restarles el valor de la variable de tamaño global, denominada tamaño isométrico (promedio de las mediciones de cada individuo). Las variables de conformación fueron sometidas a un análisis de componentes principales (ACP), debido a que después de retirar el tamaño isométrico se pierde un grado de libertad, ya que la suma de los valores de las variables de conformación para un individuo siempre suma cero (Dujardin 2000). Los primeros 10 componentes principales que contribuyeron con la mayor parte del porcentaje de variación pasaron a denominarse componentes de conformación o variables libres de isometría y se utilizaron como datos en un análisis discriminante. Los individuos se proyectaron en diagramas sobre los primeros dos factores discriminantes para examinar la diferenciación de los grupos.

Los análisis discriminantes -AD- se acompañaron de un test de significancia que indica que tan separadas están las medias (centroides) de los grupos después de la discriminación. El estadístico Wilks' Lambda se utilizó para probar la hipótesis que las medias de los grupos (centroides) son iguales. Lambda tiene valores entre 0 y 1, valores pequeños indican fuertes diferencias entre grupos, valores cercanos a 1, no hay diferencias (SPSS ® Base 10.0 Applications Guide 1999). Los análisis también se acompañaron del estadístico Kappa (K), el cual proporciona una medición del acuerdo entre la clasificación original de los insectos en grupos, y la reclasificación producida por el AD, es decir que cuando un individuo o caso

es asignado en categorías por distintos medios, el investigador quiere saber si las asignaciones están completamente en acuerdo entre sí, o sí las asignaciones no muestran acuerdo y parecen ser al azar. (SPSS 1999, Siegel & Castellan 1988). Kappa tiene valores entre 0 y 1. Valores entre 0 y 0.20 indican una concordancia leve (cercana al azar); entre 0.21 y 0.40, regular; entre 0.41 y 0.60, moderada; entre 0.61 y 0.80, sustancial y mayor de 0.80, casi perfecta (Landis y Koch 1977, citado en Pinto Soares et al 1999).

Los paquetes estadísticos utilizados fueron:

SPSS for Windows 10.1 (SPSS Inc. 1999): Análisis de Componentes Principales, Análisis Discriminante. NTSys pc 2.02j (Applied Bioestatistics Inc. 1998): Análisis de componentes principales comunes. TET_05 (Jean Pier Dujardin): cálculo de distancias.

8. Resultados

8.1 Morfometría Tradicional

8.1.1 Análisis Libres de Alometría

Los análisis libres de alometría eliminan el efecto del crecimiento (tamaño) sobre las variables medidas. Esto se logra eliminando el componente principal común 1 -cpc 1-, el cual es considerado como la variable de estimación del tamaño global, por lo cual al excluirlo se dejan únicamente las variables de forma (Jaramillo & Dujardin, 2002), las cuales son utilizadas en un Análisis Discriminante – AD-, con el fin de maximizar las diferencias entre los grupos.

Para poder realizar este análisis, se tuvo que probar la compatibilidad de las variables con el modelo de componentes principales comunes (p≥0.05). Se eligieron 5 variables, las cuales representaban el largo y ancho de la cabeza de los insectos. Sin embargo, ni las hembras ni los machos de las poblaciones estudiadas siguieron el modelo necesario, por lo que se trabajó probando diferentes combinaciones posibles de 4 variables a partir del set original. Debido a que las poblaciones de cuevas (Lanquín y San Luis) presentaban diferencias morfométricas muy marcadas, se realizó un nuevo análisis, tanto para machos como para hembras, removiendo estas poblaciones. En los machos ningún juego de variables siguió el modelo. En las hembras todos los juegos de 4 variables siguieron el modelo con un valor de p ≥0.05. Se seleccionó el modelo que mejor se ajustó al de los CPC, siendo el juego de variables 1-2, 3-10, 4-5, 13-14 con un valor de p= 0.315. Los resultados de los modelos de CPC, así como el análisis libre de alometría realizado, se muestran en las tablas 3-6 y la figura 2. Los análisis libres de alometría se utilizan para estudios de variación intraespecífica aplicados en un mismo contexto:

misma especie, mismo rango geográfico; pues se espera que los individuos tengan una misma manera de crecer. Es posible que debido a que las poblaciones incluidas a pesar de provenir del mismo rango geográfico, presenten características propias de la adaptación a sus ecotopos y que por esta razón no se haya encontrado el eje de crecimiento común en la mayoría de los casos.

La significancia de los estadísticos se muestra en la tabla 7. Los valores de Wilk's Lambda muestran que existe al menos un grupo que es diferente del resto (p<0.05), sin embrago el valor de Kappa es bajo (0.297), indicando que la reclasificación producida por el AD tiene una concordancia regular con la clasificación original.

Tabla 3. Significancia Modelo de CPC para Hembras de Triatoma dimidiata (Todos los grupos).

Juego de variables	X2	p
1-2, 1-6, 3-10, 4-5 y 13-14	187.06	0.00000 < 0.05
1-6, 3-10, 4-5, 13-14	114.36	0.00000 < 0.05
1-2, 3-10, 4-5, 13-14	93.65	0.00066 < 0.05
1-2, 1-6, 4-5, 13-14	129.74	0.00000 < 0.05
1-2, 1-6, 3-10, 13-14	115.67	0.00000 < 0.05
1-2, 1-6, 3-10, 4-5	119.46	0.00000 < 0.05

Tabla 4. Significancia Modelo de CPC para Hembras de Triatoma dimidiata (sin cuevas)

Juego de variables	X2	p
1-2, 1-6, 3-10, 4-5 y 13-14	92.12	0.03943 < 0.05
1-6, 3-10, 4-5, 13-14	48.52	0.22678 > 0.05
1-2, 3-10, 4-5, 13-14	45.88	0.31456 > 0.05
1-2, 1-6, 4-5, 13-14	55.67	0.07691 > 0.05
1-2, 1-6, 3-10, 13-14	47.65	0.25371 > 0.05
1-2, 1-6, 3-10, 4-5	55.56	0.07833 > 0.05

Tabla 5. Significancia Modelo de CPC para Machos de Triatoma dimidiata (Todos los grupos).

Juego de variables	X2	p
1-2, 1-6, 3-10, 4-5 y 13-14	177.18	0.00000 < 0.05
1-6, 3-10, 4-5, 13-14	122.30	0.00000 < 0.05
1-2, 3-10, 4-5, 13-14	112.63	0.00000 < 0.05
1-2, 1-6, 4-5, 13-14	115.53	0.00000 < 0.05
1-2, 1-6, 3-10, 13-14	95.01	0.00060 < 0.05
1-2, 1-6, 3-10, 4-5	110.25	0.00000 < 0.05

Tabla 6. Significancia Modelo de CPC para Machos de Triatoma dimidiata (sin cuevas).

Juego de variables	X2	P
1-2, 1-6, 3-10, 4-5 y 13-14	108.32	0.00013 < 0.05
1-6, 3-10, 4-5, 13-14	92.84	0.00000 < 0.05
1-2, 3-10, 4-5, 13-14	65.91	0.00171 < 0.05
1-2, 1-6, 4-5, 13-14	62.71	0.00381 < 0.05
1-2, 1-6, 3-10, 13-14	66.93	0.00132 < 0.05
1-2, 1-6, 3-10, 4-5	60.97	0.00578 < 0.05

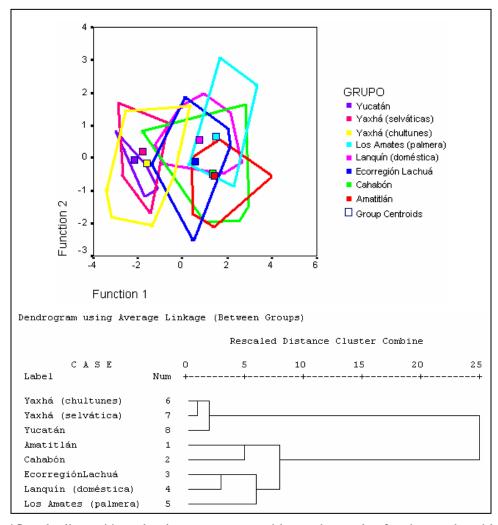


Figura 2. Gráfico de dispersión y dendrograma construidos en base a las funciones obtenidas de un AD sobre los componentes principales comunes 2, 3 y 4 obtenidos en un ACPC sobre el juego de variables 1-2, 3-10, 4-5, 13-14; de hembras de *Triatoma dimidiata* de la región norte de Guatemala (excluyendo las poblaciones de cuevas).

Tabla 7. Estadísticos análisis libre de alometría para el juego de variables 1-2, 3-10, 4-5, 13-14; de hembras de *Triatoma dimidiata* de la región norte de Guatemala (excluyendo las poblaciones de cuevas).

Estadístico	valor	p
%variación Función 1	90.6	
% variación función 2	7.2	
Wilk`s Lambda	0.249	0.000<0.05
% de reclasificación AD	38.7	
Kappa	0.297	0.000<0.05

8.1.2 Análisis Libres de Isometría

Los análisis libres de isometría fueron realizados utilizando 27 distancias tomadas sobre la cabeza de los individuos de *Triatoma dimidiata*. Los resultados obtenidos para las hembras se muestran en las figuras 3-5; mientras que los resultados de los machos se muestran en las figuras 6-8. Las tablas 8-10 y 11-13 muestra los valores, para hembras y machos respectivamente, de los estadísticos Wilk's Lambda y Kappa con sus respectivas significancias (valor p), así como el porcentaje de contribución de los 4 primeros componentes principales –cp-, a partir de los cuales se realizaron los análisis discriminantes y el porcentaje de variación que representan los 2 primeros factores discriminantes (funciones), en base en los cuales están construidos los gráficos de dispersión. Las figuras 4 y 7 muestran dendrogramas construidos en base a la totalidad de los factores discriminantes (100% de la información), utilizando cluster jerárquicos a partir de distancias euclidianas.

Tanto los machos como las hembras presentaron resultados similares en los análisis. En las figuras 4 y 7 se puede observar la formación de dos grupos. El primero está formado por las poblaciones de cuevas de San Luis y Lanquín, las cuales se separan claramente del segundo grupo formado por las poblaciones domiciliadas y selváticas en la función 1 (76% de la variación en machos y 77.2 en hembras). Dentro del segundo grupo se puede observar la tendencia de las poblaciones silvestres de Yaxhá (chultunes y selváticas) y Yucatán, a separarse del resto de poblaciones domésticas y selváticas. 76 y 77.2.8% de la información para machos y 75.1% para hembras), sin mostrar ningún traslape entre ellos.

En las tablas 8-13, se puede observar que en todos los análisis, el estadístico Wilk's Lambda presentó valores cercanos a 0 (0.02 a 0.190) con valores de p<0.05, lo cual indica que existen diferencias significativas entre al menos uno de los grupos estudiados. El estadístico Kappa presentó valores entre

0.348 y 0.474 con valores de p<0.05, lo cual indica que las reclasificaciones generadas por los análisis van de regular a moderada con respecto a la clasificación original.

8.1.2.1 Hembras

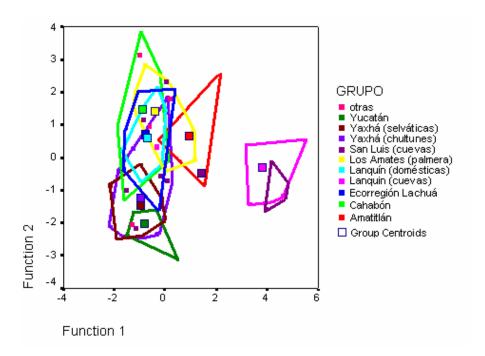


Figura 3. Gráfico de dispersión construido en base a las funciones obtenidas de un AD sobre los 4 primeros componentes principales obtenidos en un ACP sobre 27 variables de la cabeza de hembras de *Triatoma dimidiata* de la región norte de Guatemala.

Tabla 8. Estadísticos análisis libre de isometría de hembras de *Triatoma dimidiata* de la región norte de Guatemala.

Estadístico	valor	р
%información 4 componentes principales	87.371	
%variación Función 1	60.5	
% variación función 2	34.0	

Wilk`s Lambda	0.102	0.000<0.05
% de reclasificación AD	41.9	
Kappa	0.356	0.000<0.05

8.1.2.1.1 Poblaciones silvestres y domésticas

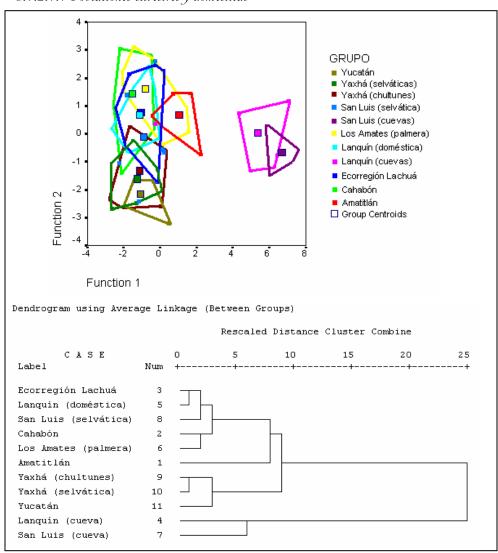


Figura 4. Gráfico de dispersión y dendrograma construidos en base a las funciones obtenidas de un AD sobre los 4 primeros componentes principales obtenidos en un ACP sobre 27 variables de la cabeza de 10 poblaciones de hembras de *Triatoma dimidiata* de la región norte de Guatemala.

Tabla 9. Estadísticos análisis libre de isometría de 10 poblaciones de hembras de *Triatoma dimidiata* de la región norte de Guatemala.

Estadístico	valor	P
%información 4 componentes principales	87.257	
%variación Función 1	77.2	
% variación función 2	19.7	
Wilk`s Lambda	0.044	0.000<0.05
% de reclasificación AD	46.9	
Kappa	0.412	0.000<0.05

8.1.2.1.2 Poblaciones silvestres y domésticas, excluyendo poblaciones de cuevas

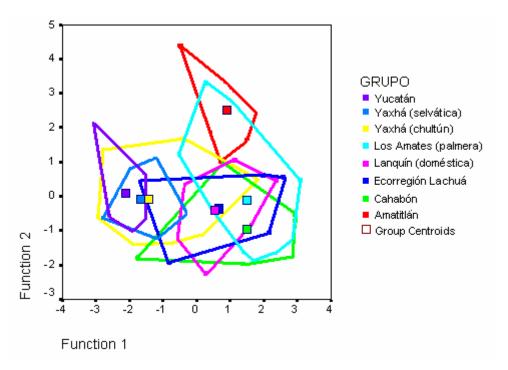


Figura 5. Gráfico de dispersión construido en base a las funciones obtenidas de un AD sobre los 4 primeros componentes principales obtenidos en un ACP sobre 27 variables de la cabeza de 8 poblaciones de hembras de *Triatoma dimidiata* de la región norte de Guatemala.

Tabla 10. Estadísticos análisis libre de isometría de 8 poblaciones de hembras de *Triatoma dimidiata* de la región norte de Guatemala (excluyendo poblaciones de cueva).

Estadístico	valor	P
%información 4 componentes principales	78.021	

%variación Función 1	64.9	
% variación función 2	29.5	
Wilk`s Lambda	0.157	0.000<0.05
% de reclasificación AD	48.1	
Kappa	0.406	0.000<0.05

8.1.2.2 Machos

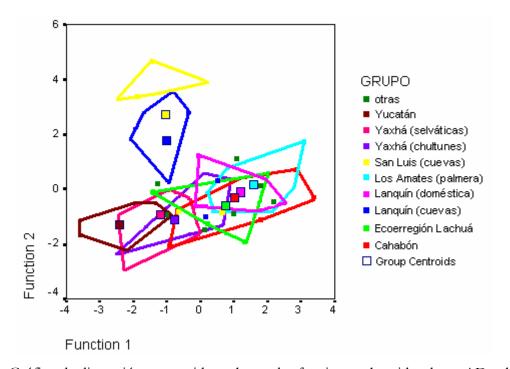


Figura 6. Gráfico de dispersión construido en base a las funciones obtenidas de un AD sobre los 4 primeros componentes principales obtenidos en un ACP sobre 27 variables de las cabezas de machos de *Triatoma dimidiata* de la región norte de Guatemala.

Tabla 11. Estadísticos análisis libre de isometría de machos de *Triatoma dimidiata* de la región norte de Guatemala.

Estadístico	valor	р
%información 4 componentes principales	85.596	

%variación Función 1	49.7	
% variación función 2	39.8	
Wilk`s Lambda	0.112	0.000<0.05
% de reclasificación AD	43.1	
Карра	0.359	0.000<0.05

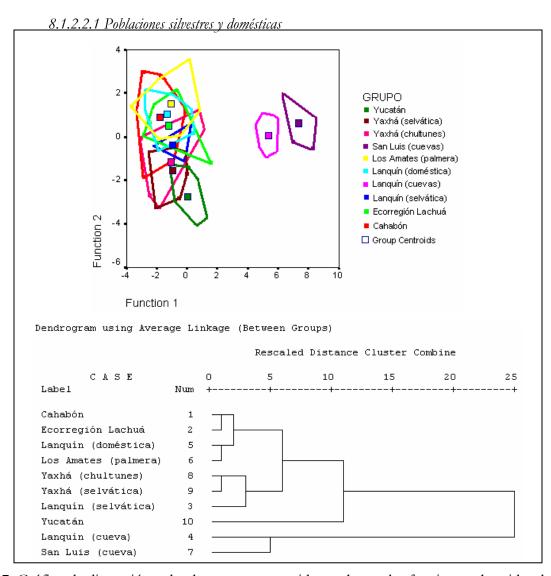


Figura 7. Gráfico de dispersión y dendrograma construidos en base a las funciones obtenidas de un AD sobre los 4 primeros componentes principales obtenidos en un ACP sobre 27 variables de la cabeza de 9 poblaciones de machos de *Triatoma dimidiata* de la región norte de Guatemala.

Tabla 12. Estadísticos análisis libre de isometría de 9 poblaciones de hembras de *Triatoma dimidiata* de la región norte de Guatemala.

Estadístico	Valor	P	
%información 4 componentes principales	85.484		
%variación Función 1	76.0		
% variación función 2	19.0		
Wilk`s Lambda	0.026	0.000<0.05	
% de reclasificación AD	53.3		
Kappa	0.474	0.000<0.05	

8.1.2.2.2 Poblaciones silvestres y domésticas, excluyendo poblaciones de cuevas

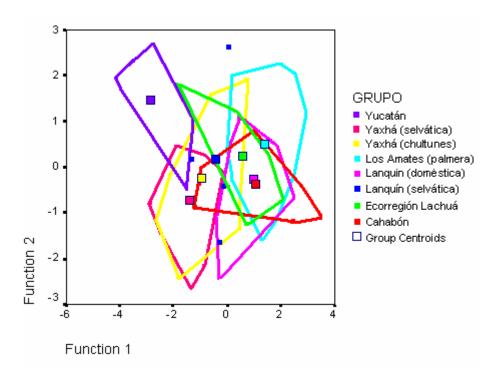


Figura 8. Gráfico de dispersión construido en base a las funciones obtenidas de un AD sobre los 4 primeros componentes principales obtenidos en un ACP sobre 27 variables de las cabezas de 7 poblaciones de machos de *Triatoma dimidiata* de la región norte de Guatemala.

Tabla 13. Estadísticos análisis libre de isometría de 7 poblaciones de machos de *Triatoma dimidiata* de la región norte de Guatemala (excluyendo poblaciones de cueva).

Esta	lístico	Valor	P	

%información 4 componentes principales	73.698	
%variación Función 1	77.2	
% variación función 2	15.0	
Wilk`s Lambda	0.190	0.000<0.05
% de reclasificación AD	44.1	
Kappa	0.348	0.000<0.05

8.2 Sistema de Información geográfica

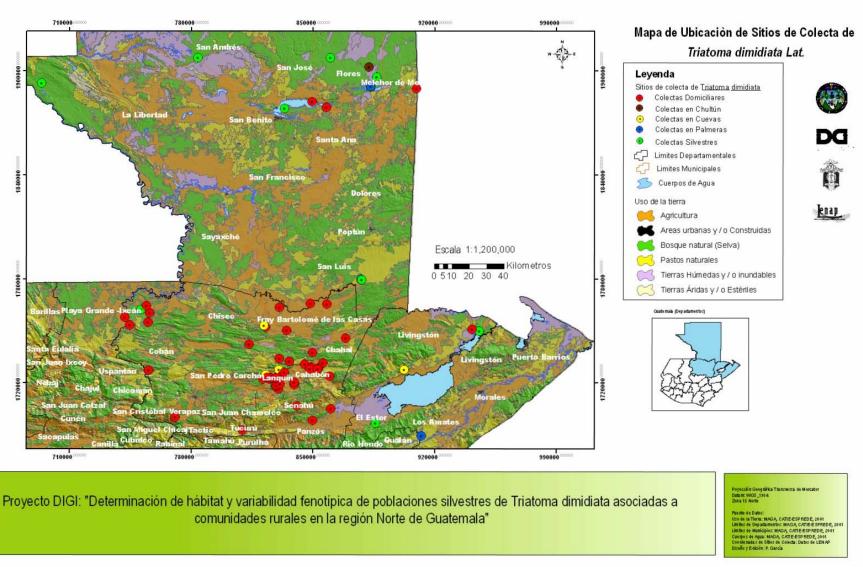


Figura 9. Ubicación geográfica de poblaciones domésticas y silvestres de Triatoma dimidiata en la región norte de Guatemala

8.3 Determinación de hábitats silvestres

Se localizaron 16 sitios con presencia de poblaciones silvestres de *Triatoma dimidiata* en la región norte de Guatemala. Los ecotopos en los cuales fueron encontrados los especimenes se enlistan a continuación:

- 1. Cuevas
- 2. Chultunes
- 3. Madrigueras
- 4. Troncos secos
- 5. Palmeras
- 6. Cúmulos de piedra

Muchos de los especimenes silvestres han sido colectados utilizando trampas de luz o al ser atraídos por la luz de las estaciones biológicas o viviendas cercanas.

8.4 Comunidades asociadas a hábitats silvestres de Triatoma dimidiata.

Se identificaron alrededor de 61 comunidades rurales asociadas a sitios silvestres en la región norte del país. El departamento de Alta Verapaz presento 55 de estas localidades, mientras que en Izabal se encontró 1 y en Petén 5. El listado se puede observar en los anexos.

La poblaciones fueron ubicadas por medio de sus coordenadas geográficas en mapas de altitud, relieve y uso de la tierra. En la figura 9 se puede observar la ubicación de los sitios y el tipo de población de *Triatoma dimidiata* presente (domiciliada o silvestre).

9. Discusión de Resultados

9.1 Selección de las poblaciones estudiadas

Triatoma dimidiata es una especie que se ha encontrado en 21 de los 22 departamentos del país (Monroy, 1992). A pesar que epidemiológicamente no se ubica entre los vectores más importantes, su amplia distribución, capacidad de colonizar las viviendas y los repetidos procesos de reinfestación después del tratamiento con insecticidas, la ha convertido en el principal objetivo de extensas operaciones de control. Aunado a lo anterior, aunque las poblaciones domésticas raramente se asocian con las altas prevalencias de la enfermedad, la especie presenta también una amplia gama de poblaciones silvestres, que pueden representar un grave riesgo de colonización o reinfestación de localidades ya tratadas, y que hacen que no pueda ser considerada como candidata viable para la erradicación utilizando los métodos actuales disponibles (Schofield, 2006; Nakagawa et al., 2003). Por lo anterior, se considera como una prioridad urgente el estudio de la estructura genética y fenética de las poblaciones de T. dimidiata (Schofield, 2000).

En el país se han realizado diversos estudios poblacionales de *Triatoma dimidiata*, utilizando tanto marcadores fenéticos como genéticos (Bustamante et al., 2004; Calderón Fernández et al., 2005; Landaverde, 2004), pero estos han estado dirigidos principalmente a poblaciones domésticas del vector. Sin embargo últimamente son cada vez más frecuentes los reportes de la presencia del vector en zonas silvestres y en comunidades rurales asociadas a estos sitios.

El LENAP cuenta con una amplia colección de especimenes de *Triatoma dimidiata*, los cuales se han obtenido por colectas de los investigadores, del personal de malaria o por participación comunitaria. Sin embargo, el material silvestre o asociado a este, es muy difícil de colectar por lo cual el número de especimenes ha sido muy pequeño y no se ha logrado realizar estudios poblacionales. Esto ha llevado a realizar colectas en los últimos dos años que han permitido aumentar este número. Las poblaciones se seleccionaron de acuerdo con la disponibilidad de las muestras y a su importancia epidemiológica y geográfica, dado la importancia que están tomando últimamente las poblaciones silvestres debido a los continuos procesos de reinfestación encontrados en *Triatoma dimidiata*.

9.2 Morfometría Tradicional.

Debido a la importancia de los estudios poblacionales en Triatominos, se han aplicado diferentes técnicas moleculares y no moleculares, entre las que se encuentran PCR-RAPD, ITS-2, Electroforesis de Isoenzimas, Patrones de sensilas antenales, Perfiles de Hidrocarburos Cuticulares de las alas, Citometría, Morfometría, etc. (Calderón, 2002; Marcilla et al., 2000 y 2002; Ordóñez, 2002; Panzera et al., 1997; Panzera et al., 2006; Panzera et al., 2007; Dujardin et al., 1999a; Bustamante, 2001b; Bustamante et al., 2003; Calderón et al., 2004; Schofield et al., 1999). Cada una de estas técnicas presenta ventajas y desventajas. Las herramientas moleculares presentan desventajas en cuanto al costo y lo detallado de sus metodologías. Las herramientas no moleculares suelen ser menos costosas y se ha recomendado su uso como técnicas complementarias (Dujardin, 2006).

Dentro de las herramientas no moleculares utilizadas, la Morfometría ha sido resultado ser una técnica de fácil aplicación, ampliamente utilizada para detectar diferenciación geográfica intraespecie, así como para diferenciar poblaciones provenientes de distintos hábitats (Schofield *et al.*, 1996; Casini *et al.*, 1995; Monroy *et al.*, 2003b; Bustamante *et al.*, 2004; Dujardin *et al.*, 1997 a y b; Dujardin, 1998; Galíndez *et al.*, 1997; Solís-Mena, 2000; Noireau *et al.*, 1997; Borges *et al.*, 2000).

9.2.1 Análisis Libres de Alometría e Isometría

Los análisis libres de alometría mostraron que a pesar de que las poblaciones estudiadas provienen de un mismo rango geográfico, no presentan una misma forma de crecer, lo cual puede deberse a que provienen de diferentes ecotopos con características particulares (palmeras, cuevas, madrigueras, etc.), a las cuales pueden estar adaptadas y que pueden estar aportando una importante diferenciación a pesar de su cercanía en cuanto a su ubicación geográfica. Lo anterior puede observarse en los resultados de los análisis libres de isometría, los cuales muestran que poblaciones colectadas en una misma localidad pero en diferentes ecotopos se separan claramente unas de otras. Esto sucede en el caso de San Luis, Petén en el que las poblaciones de cuevas se separan de los especimenes colectados en palmeras o atraídos con luz; además de que se presenta un caso especial en el que especimenes colectados en una cueva donde parió una perra, se diferencian de los especimenes de las cuevas restantes. Algunas de estas diferencias se pueden observar a simple vista, ya que presentan una coloración más oscura. Esto es muy importante ya que sugiere que puede existir un flujo importante

entre ecotopos y que las chinches tienen capacidad, tanto de movimiento como de colonización. Sin embargo las diferencias presentadas por la población de las cuevas restantes es muy grande y la asocia con la población de cuevas de Lanquín, la cual en otros estudios fenéticos se ha encontrado más relacionada con otras especies de Triatominos que con *Triatoma dimidiata* (Bustamante *et al.*, 2004; Calderón *et al.*, 2005).

En el caso de Lanquín se puede observar también la diferenciación entre sus poblaciones; no solo las de cuevas sino también las selváticas, colectadas con trampas de luz y las domiciliadas. Un dato importante con respecto a la población domiciliada de este lugar, es que no se relaciona muy cercanamente con la población domiciliada de Cahabón, las cual se encuentra geográficamente muy cercana y que presenta un hábitat muy similar. En ambos casos, rara vez se encuentra una vivienda colonizada por el vector (con presencia de ninfas); lo más común es encontrar individuos adultos, por lo que se asume que llegan a la vivienda volando atraídos por la luz y buscando refugio, pero dado el tipo de vivienda del lugar no logran colonizar fácilmente. Sin embargo, en ambos casos no se conoce de donde provienen los especimenes que llegan a las viviendas, pero podrían venir de ecotopos silvestres diferentes y deberse a esto que no se relacionen estrechamente.

La mayoría de las poblaciones estudiadas (excepto las de cuevas y Yucatán), muestran un traslape, que sugiere que existe algún flujo entre ellas y que las adaptaciones particulares a cada ecotopo aún no han creado barreras suficientemente grandes para separarlas unas de otras; aunque para verificar lo anterior es necesario profundizar en estudios de biología y comportamiento, como en el caso de los cruces experimentales (Panzera et al., 2006).

En el caso de las poblaciones silvestres de Yaxhá, estas muestran una tendencia a separarse del resto de las poblaciones de su grupo. Esta población ha sido la más estudiada y lo anterior ha sido reportado en los resultados (Bustamante et al., 2004; Calderón et al., 2005; Lehmann et al., 2005). Panzera et al. (2006), identificaron por medio de análisis cromosómicos, tres diferentes citotipos en poblaciones de *Triatoma dimidiata* de diferentes países de Centro América, México y Colombia. El citotipo 1 correspondió a las poblaciones domésticas de los cuatro países estudiados; el citotipo 2 se encontró en las poblaciones silvestres y domésticas de la Península de Yucatán; el citotipo tres fue identificado exclusivamente en la población silvestre de Yaxhá, Petén; Los datos sugieren fuertemente que *T. dimidiata*, considerada durante largo tiempo como una única especie, probablemente comprenda al

menos dos especies crípticas adicionales, las cuales incluyen a Yucatán y Petén. A pesar de que los estudios no han incluido otras poblaciones silvestres, lo anterior podría respaldarse con los resultados de la morfometría que ya han sugerido que las poblaciones de Yaxhá presentan características particulares de adaptación a su medio y que podrían encontrarse en un proceso de especiación (Bustamante *et al.*, 2004; Menes, 2004).

Con respecto a la población silvestre de Los Amates, Izabal está se agrupó con las poblaciones domiciliadas y silvestres del segundo grupo, sin mantener una relación con una población específica en hembras y machos. Sin embargo, en las figuras se puede observar que tiene una importante influencia en las poblaciones de su grupo, mostrando un traslape con la mayoría de estas. La población de Izabal proviene de palmeras, sin embargo, estas chinches tienen capacidad de vuelo y se ha reportado su presencia por los moradores en viviendas cercanas. Esto podría respaldar su asociación con las poblaciones domiciliadas que como ya se mencionó anteriormente ingresan a las viviendas principalmente atraídas por la luz. De ser verificado lo anterior, el control de esta población sería muy importante, ya que podría estar jugando un papel muy importante en la infestación domiciliar y representaría un grave riesgo de infección humana, ya sea accidentalmente o por el establecimiento de un ciclo doméstico, ya que datos de disección de ampollas rectales de especimenes de este lugar han mostrado una alta parasitemía. Lo anterior es una característica muy importante a diferencia del caso de Yaxhá en el que a pesar de tener reportes de especimenes positivos, las poblaciones se consideran completamente selváticas.

En el caso de las hembras, se incluyó la población silvestre de Amatitlán, la cual es estudiada por primera vez. Esta población es la única silvestre con la que se cuenta, que no proviene del área norte del país, sin embargo no se ha logrado determinar su procedencia y se cree que se encuentra en formaciones rocosas del lugar. En los análisis mostró una clara tendencia a diferenciarse del resto de poblaciones, traslapándose únicamente con la población de palmeras de los Amates, Izabal. Debido a que no se contaba con un tamaño de muestra adecuado para los análisis con machos, no se pudieron incluir, pero es muy importante su estudio, ya que esta población representa un grave riesgo de infestación a zonas urbanas y semiurbanas.

La interacción entre los ciclos doméstico y silvestre, ocurre como producto de diversos factores, la mayoría de ellos dependientes del comportamiento humano (Agudelo, 2006). El proceso más

importante, en este sentido, es la colonización de ambientes artificiales, es decir, la formación de colonias construidas por insectos jóvenes y adultos, en generaciones consecutivas que pueden alcanzar altas densidades de Triatominos. De manera general, las colonias tienen inicio con la introducción, pasiva o activa, de Triatominos en el nuevo ambiente, muchas veces a partir de una única hembra (Diotauiti, 2006). El reporte de poblaciones silvestres con capacidad de vuelo ingresando a las viviendas representan un grave riesgo para la transmisión de la enfermedad, y en este sentido es muy importante reforzar en la región norte la información sobre la chinche y la Enfermedad de Chagas, para que los moradores sepan reconocerla y eviten la colonización.

El mapa de uso de la tierra, presenta la ubicación de las localidades selváticas y domiciliadas positivas para *Triatoma dimidiata*. Es importante observar que a pesar de que aun se encuentran muchas zonas boscosas en la región, la agricultura ocupa un área importante y en las zonas en las que se asocia a remanentes de bosque es donde se encuentran más poblaciones domiciliadas del vector (Alta Verapaz). El asentamiento humano ha cambiado dramáticamente los ambientes naturales, a través de la deforestación extensiva. La simplificación del hábitat por el desarrollo de la agricultura ha llevado a una considerable reducción de los nichos de los triatominos. Como sea, donde las actividades humanas se extienden al bosque virgen en el cual están presentes especies silvestres, la transmisión con *Trypanosoma cruzi* puede ocurrir más fácilmente (WHO, 2002; Monroy, 2003).

Para *Triatoma dimidiata* en centro América, el escenario que surge es el de una serie de poblaciones silvestres relativamente discretas, asociadas principalmente con afloramientos rocosos donde los huéspedes de reservorios salvajes podrían ser relativamente abundantes. Sobre esta distribución primitiva están uno o más eventos de domesticación que conducen a cierto número de poblaciones domésticas y peridomésticas (Schofield, 2006). Parece probable que algunas poblaciones domésticas se derivan ahora directamente de otras poblaciones domésticas por medio del vuelo del adulto o del traslado accidental asociado con personas, pero algunas derivan directamente de las invasiones caseras por parte de insectos silvestres. Basados en esto, trazar el mapa de las poblaciones silvestres de *Triatoma dimidiata* se convierte en algo de gran importancia operacional, ya que existe la posibilidad de que la reinvasión de casas ya tratadas o la colonización de nuevas viviendas se vuelva problemática (Schofield, 2006).

10. Conclusiones

- 1. Las técnicas morfométricas permitieron diferenciar claramente 2 grupos. El primero formado por las poblaciones de cueva de San Luis, Petén y Lanquín, Alta Verapaz. El segundo formado por las poblaciones domiciliadas de Lanquín y Cahabón, Alta Verapaz y las poblaciones silvestres de Los Amates, Izabal; Ecorregión Lachuá, Alta Verapaz; San Luís, Petén; Yaxhá, Petén y Yucatán, México.
- 2. Dentro del segundo grupo, las poblaciones estrictamente silvestres de Yaxhá y la población de Yucatán tienden a separarse de las poblaciones restantes.
- 3. Los resultados morfométricos respaldan que *Triatoma dimidiata* se trata de un complejo de especies, con cierto flujo entre ellas.
- 4. En las poblaciones de San Luis, Lanquín y Yaxhá, se observó que existe una diferenciación entre las poblaciones colectadas en diferentes ecotopos, a pesar de estar ubicadas geográficamente en el mismo lugar.
- 5. La población silvestre de Los Amates, se asoció con las poblaciones domiciliadas de la región, lo que sugiere que puede ser una potencial fuente de infestación en localidades cercanas, ya que las chinches llegan volando a las viviendas cercanas del lugar.
- 6. El departamento de Alta Verapaz, presenta una mayor cantidad de áreas boscosas asociadas a áreas de cultivo, y a la vez presenta el mayor número de localidades positivas con poblaciones domiciliadas del vector (55 de 61).
- 7. Se identificaron 7 ecotopos silvestres de *Triatoma dimidiata* en la región norte que incluyen cuevas, chultunes, madrigueras, troncos secos, palmeras y cúmulos de piedra.

11. Recomendaciones

- 1. Es importante profundizar en el estudio de las poblaciones silvestres desde dos enfoques diferentes. Desde el punto de vista de la sistemática, para aclarar el estatus taxonómico de las poblaciones de esta región; y desde el punto de vista de la salud pública, para el monitoreo de poblaciones con potencial riesgo de colonización, como el caso de Los amates, Izabal.
- 2. Se debe profundizar en los estudios de las localidades que presentan más de una población silvestre además de las domiciliadas, para determinar si existe un flujo entre ellas o si se encuentran en procesos de especiación que crean barreras entre ellas.
- Se recomienda el uso de herramientas moleculares y no moleculares complementarias a los análisis morfométricos, que nos permitan profundizar sobre la biología y comportamiento de la especie.
- Realizar colectas sistemáticas de poblaciones silvestres con el fin de obtener tamaños de muestra más representativos.
- 5. Realizar investigaciones inter-países con el fin de observar el comportamiento de las poblaciones silvestres y compararlo.
- 6. Realizar estudios sobre *Triatoma dimidiata* para todo el país, utilizando sistemas de información geográfico

12. Bibliografía

- Acevedo, F. Godoy, E. Schofield, CJ. 2000. Comparision of Intervention strategies for control of <u>Triatoma</u> <u>dimidiata</u> in Nicaragua. Mem Inst Oswaldo Cruz, Vol. 95(6): 867-871.
- 2. Agudelo, A. 2006. Experiencias epidemiológicas del grupo Chagas de la Universidad de Antioquia. En memorias VIII Curso Internacional Eco-epidemiología de la Enfermedad de Chagas y métodos para su estudio. Editores, Jaramillo, N; Parra, G; Triana, O. pp: 113-123
- 3. Angulo, V. 2006. Ensayo de estrategias de control y vigilancia de *T. dimidiata*. En VI reunión de la IAPCEF. Editor Felipe Guhl. Colombia. Pp: 91-102
- 4. Borges, E. Pires, H. Barbosa, S. Nunes, C. Pereira, M. Romanhia, A. Diotaiouti, D. 1999. *Genetic variability in Brazilian triatominaes and the risk of domiciliation*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Vol. 94, (sup. 1), 371-373
- 5. Borror, D.J. Triplehorn, C. A. Johnson, N.F. 1989. *An introduction to the study of Insects.* 6 ed. Saunders College Publishers. USA. 875 pp.
- 6. Bustamante, DM. 2001. Morfometría de seis poblaciones del principal vector de la enfermedad de Chagas en Guatemala, <u>Triatoma dimidiata</u> (Latreille) 1811 (Hemíptera: Reduviidae: Triatominae), parala caracterización geográfica de la especie. Informe de Tesis, Escuela de Biología, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 121 pp.
- 7. Bustamante, DM. Monroy, C. Menes, M. Rodas, A. Salazar-Schettino, PM. Rojas, G. Pinto, N. Guhl, F. Dujardin, JP. 2004. *Metric Variation among Goegraphic Populations of the Chagas Vector Triatoma dimidiata (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) and Related Species.* J. Med. Entomol. 41(3): 296-301.
- 8. Calderón, G; Juárez, MP; Monroy, C; Menes, M; Bustamante, DM, & Mijailovsky, S. 2005. Intraespecific variability in Triatoma dimidiata (Hemiptera: Reduviidae) populations from Guatemala based on chemical and morphometric analyses. J. Med. Entomol. 42(1): 29-35
- Casini, C.E. Dujardin, J.P. Martínez, M. Bentos-Pereira, A. Salvatela, R. 1995. Morphometric differentiation between two geographic populations of <u>Triatoma infestans</u> in Uruguay. Research and Reviews in Parasitology, 55 (1): 25-30.
- 10. Carcavallo, R. Jurberg, J. Lent, H. Noireau, F. Galvão, C. 2000. *Phylogeny of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) proposals for Taxonomic arrangements*. Editor Dr. José Jurberg. Entomología y Vectores, Rio de Janeiro, Vol. 7 (Supl,1): 1-99.
- 11. Daly, H. 1985. Insect Morphometrics. Ann. Rev. Entomol. 30: 415-38.

- 12. Daniel, Wayne. 1999. *Bioestadística, base para el análisis de las ciencias de la salud.* Editorial Limusa, México. 878 pp.
- 13. Darroch, JN; Mossimann, JE. 1985. Canonical and Principal components of shape. Biometrika, 72: 241-252.
- 14. Diotaiuti, L. 2006. Eco-epidemiología das espécies de Triatomíneas brasileiras. En memorias VIII Curso Internacional Eco-epidemiología de la Enfermedad de Chagas y métodos para su estudio. Editores, Jaramillo, N; Parra, G; Triana, O. pp. 11-14
- 15. Diotaiuti, L. 2006. Métodos atuais para determinar o padrao de infestacao de especies de triatomineas, nos ambientes doméstico, peridoméstico e silvestre. En memorias VIII Curso Internacional Eco-epidemiología de la Enfermedad de Chagas y métodos para su estudio. Editores, Jaramillo, N; Parra, G; Triana, O. pp. 15-18
- 16. Diotauti, L. 2006. Métodos de Processamento de Triatomíneos e da informacao associada para determinar os fatores de risco de transmissao do *Trypanosoma cruzi* as comunidades humanas. En memorias VIII Curso Internacional Eco-epidemiología de la Enfermedad de Chagas y métodos para su estudio. Editores, Jaramillo, N; Parra, G; Triana, O.
- 17. Dujardin, JP; Bermudez, H; Schofield, CJ. 1997a. The use of morphometrics in entomological surveillance of sylvatic foci of <u>Triatoma infestans</u> in Bolivia. Acta Tropica, 66: 145-153.
- 18. Dujardin, JP. Bermudez, H. Casini, C. Schofield, CJ. Tibayrenc, M. 1997b. *Metric differences between sylvatic and domestic <u>Triatoma infestans</u> (Heteroptera: Reduviidae) in Bolivia. J. Med. Entomol. 34(5): 544-551.*
- Dujardin, JP. Forgues, G. Torrez, M. Martínez, E. Cordova, C. Gianella, A. 1998. Morphometrics of domestic <u>Panstrongylus rufotuberculatus</u> in Bolivia. Annals of Tropical Medicine & Parasitology, Vol. 92, No. 2, 219-228.
- Dujardin, JP; Schofield, CJ; 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.
- 21. Dujardin, JP; LePont, F. 2000. *Morphometrics of a neotropical sandfly subspecies, <u>Lutzomyia carrerai</u> thula. C. R. Acad. Sci. Paris, Life Sciences. 323: 273-279.*
- 22. Dujardin, JP. 2000. *Introducción a la Morfometría* (Con énfasis en Phlebotominae y Triatominae). Inédito.
- 23. Falconer, DS. 1981. *Introduction to quantitative genetics*. Longman Inc. London and New York. 300 pp.

- 24. Foottit, R. Sorensen, J. 1992. Ordination Methods: Their Contrast to Clustering and Cladistic Techniques. En Sorensen JT, Foottit R, editors. Ordination in the study of Morphology, Evolution and Systematics of insects: Applications and quantitative genetic rationals. Amsterdam, Elsevier Science Publishers B V. pp 1-10.
- 25. Galíndez, I. Torres, E. Matos, E. Araujo, V. Márquez, J. Barazarte, R. Araque, L. Castillo, L. 1997. Estudio Morfométrico preliminar de <u>Rhodnius robustus</u> Larrouse, 1927 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), del occidente de Venezuela. Entomología y Vectores Vol. 4 No.4.
- 26. Guhl, F. 2000. *Chagas Disease: Modes of Transmission, Ecological Factors.* WHO, Second Expert Committee on the Control of Chagas Disease, Brasilia.
- 27. Ibáñez-Bernal, S. Paz-Rodríguez, R. 1998. Los Complejos de Especies de Triatoma en México y Centro América. En C.J. Schofield y Carlos Ponce Editores. II Taller Internacional Sobre Genética Poblacional y Control de Triatominos. Honduras. 131 pp.
- 28. Klingenberg, CP. 1996. *Multivariate allometry*. En LF Marcus, M Conti, A Loy, GJ Naylor, DE Slice (editores). Advances in morphometrics, NATO ASI, Series A: Life Sciences. New York, Plenum Press, Volume 284, pp 23-49.
- 29. 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.
- 30. Jaramillo, N. Dujardin, JP. 2002. Análisis Morfométrico: significado biológico del tamaño y la conformación. Colombia. Inédito.
- 31. Landaverde, P. 2004. Comparación de poblaciones silvestres y domésticas de <u>Triatoma</u> dimidiata (Latreille, 1811) de México y Centroamérica por medio de la técnica de ampliación aleatoria del ADN polimórfico (RAPD-PCR). Informe de Tesis, escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. 108pp.
- 32. Lehmann, P; Ordoñez, R; Ojeda-Baranda, R; Mendez de Lira, J; Hidalgo-Sosa, L; Monroy, C; Ramsey, JM. 2005. *Morphometric analysis of* Triatoma dimidiata *populations* (*Reduviidae: Triatominae*) from Mexico and Northern Guatemala. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, vol. 100(5): 477-482.
- 33. 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.
- 34. Lent, H; Jurberg, J. 1985. Sobre a variação intra-especifica em <u>Triatoma dimidiata</u> (Latreille) e <u>T. infestans</u> (Klug) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Mem.Inst.Oswaldo Cruz, 80 (3): 285-299.

- 35. Marcilla, A. Bargues, M. Ramsey, J. Magallon-Gastelum, E. Salazar-Schettino, PM. Abad-Franch, F. Dujardin, JP. Schofield, CJ. Mas-Coma, S. 2001. The ITS-2 of the nuclear rDNA as a molecular marker for populations, species, and phylogenetic relationships in Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), vectors of Chagas disease. Mol. Phylogenet. Evol. 18: 136-142.
- 36. Menes, M. 2004. Morfometría de Triatoma dimidiata de México, Centro Amñerica y Colombia: Efecto de la procedencia geográfica y el ecotopo. Informe de Tesis, escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- 37. Monroy, C. 1992. Vectores de la Enfermedad de Chagas en Guatemala. En K Ogata (editor), Informe Anual No. 1(GJET-1) del Proyecto de Cooperación Guatemala Japón para la Investigación de Enfermedades Tropicales. JICA, Guatemala, 128 pp.
- 38. Monroy, C. 2003. Ecology and Control of Triatominae (Hemíptera:Reduviidae) vectors of Chagas Disease in Guatemala, Central América. Tesis doctoral. Uppsala University Sweden. 22 pp.
- 39. Monroy, C; Mejía, M; Rodas, A. 1994. *Ecología Intradomiciliar de <u>Rhodnius prolixus</u>, <u>Triatoma dimidiata y Triatoma nútida</u>. Enfermedades Tropicales en Guatemala 94. Informe anual No. 3 del Proyecto de Cooperación Guatemala-Japón para la Investigación de Enfermedades Tropicales. JICA. Guatemala. Págs. 104-109*
- 40. Monroy, C. Rodas, A. Mejía, M. Rosales, R. Tabaru, Y. 2003a. Epidemiology of Chagas Disease in Guatemala: Infection Rate of <u>Triatoma dimidiata</u>, <u>Triatoma nitida</u> and <u>Rhodnius prolixus</u> (Hemiptera, Reduviidae) with <u>Trypanosoma cruzi</u> and <u>Trypanosoma rangeli</u> (Kinetoplastida, Trypanosomatidae). Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 98(3): 305-310.
- 41. Monroy, C. Bustamante, D. Rodas, A. Rosales, R. Mejía, M. Tabaru, Y. 2003b. Geographic Distribution and Morphometric Differentiation of <u>Triatoma nitida</u> Usinger 1939 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Guatemala. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 98(1): 37-43.
- 42. Monroy, C. Bustamante, DM. Rodas, A. Enríquez, E. Rosales, R. 2003c. *Habitats, Dispersión and Invasión of Sylvatic <u>Triatoma dimidiata</u> (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Petén, Guatemala. J. Med. Entomol. 40(6): 800-806.*
- 43. Nakagawa, J. Hashimoto, K. Cordon-Rosales, C. Juárez, J. Trampe, R. Marroquín, L. 2003a. The impact of vector control on <u>Triatoma dimidiata</u> in the Guatemalan department of Jutiapa. Annals of Tropical Medicine & Parasitology, Vol. 97, No. 3, 289-298.

- 44. Nakagawa, J. Cordon-Rosales, C. Juárez, J. Itzep, C. Nonami, T. 2003b. Impact of Residual Spraying on <u>Rhodnius prolixus</u> and <u>Triatoma dimidiata</u> in the Department of Zacapa in Guatemala. Mem Inst oswaldo Cruz, Vol. 98(2): 277-281.
- 45. Nakagawa, J. Juarez, J. Marroquin, L. 2003c Evaluation Report of the Chagas disease Control project in Guatemala. Ministry Of Health. 15 pp.
- Noireau, Francois. Flores, R. Gutiérrez, T. Dujardin, JP. 1997. Detection of sylvatic dark morphs of <u>Triatoma infestans</u> in the Bolivian Chaco. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 92(5): 583-584.
- 47. OMS. 1991. *Control de la Enfermedad de Chagas*. Serie de Informes Técnicos 811, Organización Mundial de la Salud, Ginebra, 102 pp.
- 48. OMS. 2003. Defensa global contra la amenaza de enfermedades infecciosas. Editado por Mary Kindhauser. OMS/CDS/2003.15.
- 49. OPS. 2000. Segunda reunión de la comisión intergubernamental del a iniciativa de Centroamérica y Belice para la interrupción de la transmisión vectorial de la Enfermedad de Chagas por Rhodnius prolixus, disminución de la infestación domiciliar por Triatoma dimidiata y la eliminación de la transmisión transfusional del Trypanosoma cruzi. OPS/HCP/164/00.
- 50. OPS. 2002. Taller para el establecimiento de pautas técnicas en el control de Triatoma dimidiata. Document OPS/HCP/HCT/214/02. Washington, DC: PAHO.
- 51. Palmer, A; Strobeck, C. 1986. Fluctuatin Asymmetry (Measurement, Analysis, Patterns). Ann. Rev. Ecol. Syst. 17: 391-421.
- 52. Panzera, F. Ferrandis, I. Ramsey, J. Ordoñez, RE. Salazar-Schettino, PM. Cabrera, M. Monroy, MC. Bargues, MD. Mas-Coma, S. Oconnor, JE. Angulo, VM. Jaramillo, N. Cordon-Rosales, C. Gomez, D. and Perez, R. 2006. Chromosomal variation and genome size support existence of cryptic species of Triatoma dimidiate with different epidemiological importance as Chagas disease vectors. Tropical Medicine and International Health 11(7): 1092-1103.
- 53. Panzera F, Ferrandis I, Ramsey J, Salazar-Schettino PM, Cabrera M, Monroy C, Bargues MD, Mas-Coma S, O'Connor JE, Angulo V, Jaramillo N, Pérez R. 2006b. Genome size determination in Chagas Disease transmitting bugs (Hemiptera -Triatominae) by flow cytometry. Submitted Am. J. Trop. Med. Hyg.
- 54. Ramirez *et al.* 2004. Genetic structure of sylvatic, peridomestic and domestic populations of *T. dimidiata* from endemic zone. Boyaca, Colombia. Acta Trop 93(1) 23-29.

- 55. Rohlf, J. 1990. *Morphometrics*. Rev. Ecol. Syst. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, USA.
- 56. Rohlf, J. Marcus, L. 1993. A Revolution in Morphometrics. Trends in Ecology and Evolution. Vol. 8, No. 4. 129-132.
- 57. Rohlf, J. 1998. NTSYSpc (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.0) Users Guide. Exeter Software. New York.
- 58. Rohlf, J. 2001. tpsDig, version 1.27. Ecology and Evolution. State University of New York, Stony Brook, NY.
- 59. Schofield, C.J; 1994. *Triatominae.* (Biología y Control). Trad. S. Tims y C.J. Schofield. Eurocommunica Publications. Reino Unido. 80 pp.
- 60. Schofield, CJ. Diotaiuti, L. Dujardin, JP. 1999. *The Process of Domestication in Triatominae*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 94(1): 375-378.
- 61. Schofield, CJ. 2000. Challenges of Chagas Disease Vector Control in Central America. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2000.1. 36 pp.
- 62. Schofield, CJ. 2001. Field Testing and Evaluation of Insecticides for Indoor Residual Spraying Against Domestic Vectors of Chagas Disease. Document WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2001.1. Geneva: WHO.
- 63. WHO. 2002. Control of Chagas Disease. Tecnical report series 905. Secon report of WHO Expert Committee, Geneva.
- 64. Schofield, C. 2005. Primer taller Internacional sobre control de la Enfermedad de Chagas. 2005. Curso Diagnostico, Manejo y Tratamiento de la Enfermedad de Chagas. VI Reunión de la Iniciativa Andina para el control de la Enfermedad de Chagas. Universidad de los Andes, Bogota, Colombia. Editor Felipe Guhl, 435 pp
- 65. Schofield, C. 2006. Propuestas de Estrategias para el control de *T. dimidiata* en Colombia. En I Taller Internacional sobre el Control de la Enfermedad de Chagas. Editor Felipe Guhl. pp: 55-61
- 66. 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.
- 67. SPSS ® Base 10.0 Applications Guide. 1999. SPSS Inc. USA. 426 pp.
- 68. West-Eberhard, MJ. 1989. *Phenotypic Plasticity and the origins of Diversity*. Annu. Rev. Ecol. Syst. 20: 249-278.

- 69. WHO 1990. *Tropical disease 1990*. Geneva: World Health Organization, mimeographed document TDR/CTP/HH90.1.
- 70. WHO 1991. Control of Chagas disease. Technical Report Series 811. Geneva: Woeld Health Organization.
- 71. World Bank. 1993. World Development Report 1993 Investing in Health. Oxford University Press, New York. 329 pp.
- 72. Zeledón, R. Rabinovich, J.E. 1981. *Chagas disease: an ecological appraisal with special emphasis on its insect vectors.* Annual Review of Entomology, 26: 101-133.
- 73. Zeledón, R. 1981. *El <u>Triatoma dimidiata</u>* (*Latreille, 1811*) y su relación con la Enfermedad de Chagas. EUNED. San José, Costa Rica. 164 pp.

13. Anexos

Localidades positivas para Triatoma dimidiata en la región norte del país.

Localidad	Municipio	Departamento	Lugar de colecta
Macanché		Petén	Doméstica
Jolompiche		Petén	Doméstica
Sitio Arqueológico Pochitoca	Melchor de Mencos	Petén	Chultun
Melchos de Mencos	Melchor de Mencos	Petén	Doméstica
Judá	Melchor de Mencos	Petén	Doméstica
Parque Arqueológico Yaxhá		Petén	Chultún
			Palmera
			Selva
Parque Arqueológico Nakum		Petén	Chultún
Cerro Cahuí		Petén	Doméstica
Sierra Lacandón		Petén	Selva
Estación Laguna del Tigre		Petén	Selva
Arcas		Petén	Selva
Santa Isabel	San Luis	Petén	Cueva
			Palmera
			Selva
Parque Nacional Tikal		Petén	Selva
Biotopó Chocón Machacas	Livingston	Izabal	Selva
El Caliz	Livingston	Izabal	Doméstica
Manacal	Los Amates	Izabal	Palmera
Estación Bocas del Polochic		Izabal	Selva
Caslampun o Cashlampum	El Estor	Izabal	Cuevas
PN Laguna de Lachúa	Cobán	Alta Verapaz	Selva
Saholom	Cobán (Lachuá)	Alta Verapaz	Doméstica
Santa Lucía	Cobán (Lachuá)	Alta Verapaz	Doméstica
Seacté II	Fray Bartolomé	Alta Verapaz	Doméstica
	Teleman	Alta Verapaz	Doméstica
	Senahú	Alta Verapaz	Doméstica
	Tucurú	Alta Verapaz	Doméstica
	Chahal	Alta Verapaz	Doméstica
	Panzós	Alta Verapaz	Doméstica
	San Cristobal Verapaz	Alta Verapaz	Doméstica
	Fray Bartolomé	Alta Verapaz	Doméstica
Sehix	Chisec	Alta Verapaz	Doméstica
Caserío Searanx	Chisec	Alta Verapaz	Doméstica
Aldea El Quetzal	Chisec	Alta Verapaz	Cuevas
Cobán	Cobán	Alta Verapaz	Doméstica
Salacuím	Cobán	Alta Verapaz	Doméstica
Tzetoc	Cobán	Alta Verapaz	Doméstica

...Continuación

Localidad	Municipio	Departamento	Lugar de colecta
Rocjá	Cobán	Alta Verapaz	Doméstica
Chuchun Chamá	Cobán	Alta Verapaz	Doméstica
Satolohox	Cobán	Alta Verapaz	Doméstica
Buena Vista	Cobán	Alta Verapaz	Doméstica
Semox II	Carchá	Alta Verapaz	Doméstica
Lanquín	Lanquín	Alta Verapaz	Cuevas
Seluc	Lanquín	Alta Verapaz	Doméstica
Chicanuz	Lanquín	Alta Verapaz	Doméstica
Semil	Lanquín	Alta Verapaz	Doméstica
Seseb	Lanquín	Alta Verapaz	Doméstica
Chisubín	Lanquín	Alta Verapaz	Doméstica
Saquijá	Lanquín	Alta Verapaz	Doméstica
Chiball	Lanquín	Alta Verapaz	Doméstica
Yutball	Lanquín	Alta Verapaz	Doméstica
Sisbalha	Lanquín	Alta Verapaz	Doméstica
Chiquelex	Lanquín	Alta Verapaz	Doméstica
Chipata	Lanquín	Alta Verapaz	Doméstica
Chicanchia	Lanquín	Alta Verapaz	Doméstica
Santa María Cahabón	Cahabón	Alta Verapaz	Cuevas
Palmar	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Chinatal	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Sequixquib	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Santa Rosa	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Chuchub	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
La Montañita	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Semuc	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Chiacté	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Pajché	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Champerico	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Cajqual I	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
San Francisco	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Pekixul	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Guplibaj	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Chupoc o Chipoc	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Secatalcab	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Agua Caliente I	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Corozales	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Sepoc o Sapoc	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Santo Domingo	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Santa Rita	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Chichaj	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Chiuitle	Cahabón	Alta Verapaz	Doméstica
Amatitlan	Amatitlan		silvestre