

INFORME FINAL

I. TITULO DEL PROYECTO

Movimientos poblacionales de *Triatoma dimidiata* a lo largo de un año y relaciones parentales de la misma especie en una vivienda demolida.

II. AUTORES

María Carlota Monroy
Dulce Bustamante Zamora
Juan José Chávez
Antonieta Rodas Retana.
Maria Eugenia Morales-Betoulle
Silvia Bor Arrechea
Sergio Melgar Valladares
Regina Rosales
Marianela Menes
Patricia Landaverde

III. UNIDAD ACADÉMICA RESPONSABLE

Laboratorio de Investigación en Entomología y Parasitología
Escuela de Biología
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
Universidad de San Carlos de Guatemala.

IV. RESUMEN EJECUTIVO

La investigación fue orientada para obtener datos útiles en la actual campaña nacional del control de vectores de la enfermedad de Chagas. Una parte del trabajo consistió en monitorear viviendas humanas con el vector *Triatoma dimidiata* a lo largo de un año y hacer un estudio morfométrico mes por mes y agrupando varios meses de tal manera que se determinara la época del año en la cuál este vector presenta movimientos poblacionales.

La técnica que se utilizó fue la morfometría. Una serie de mediciones alares y de la cabeza del insecto mostraron que existe diferencia morfológica significativa entre los especímenes colectados en los meses de verano y los de invierno. Lo que señala que en los meses de la entrada y establecimiento del invierno: junio, julio y agosto es cuando tienen lugar la mayor cantidad de movimientos de poblaciones. Esto indica que la mejor época para realizar intervenciones químicas como fumigación o rociamiento con insecticidas son los meses de marzo y abril y aún el mes de mayo, de tal manera que en la época seca y de más calor es cuando las poblaciones de estos vectores cuentan con el mayor número de individuos, siendo así el mejor momento para una intervención con propósitos de control. Es interesante el resultado que surgió de comparar la morfometría en dos viviendas humanas de dos lugares diferentes: Agua Zarca y Pueblo Nuevo Viñas, del Departamento de Santa Rosa. La diferencia con significancia estadística fue observada únicamente en Agua Zarca y no así en Pueblo Nuevo Viñas. Esto posiblemente indica que las dinámicas de movimientos de poblaciones podrían ser variables dependiendo de las condiciones ambientales y de la población en particular. Lo que nos señala la importancia de hacer estudios genéticos de poblaciones domiciliadas.

Por otro lado se estudiaron las relaciones parentales de *Triatoma dimidiata* en una sola vivienda en donde se colectaron 130 individuos. A estos insectos se les extrajo el ADN, el cual se amplificó utilizando como cebadores los oligonucleótidos L1, L4 y H3 de OPERON. La amplificación con estos primers permitió el análisis de 14 loci dominantes con frecuencias alélicas comprendidas entre 0.1 y 0.6. Para el análisis de datos se usaron los programas Gen Profiler (RFLPSCAN) de Scanalytics Inc.; Mcalc y Fingers. El uso de estos

programas permitió estimar el número de familias de *T. dimidiata* en una vivienda de El Cuje, Pueblo Nuevo Viñas. Se estimó que 17 era el número de familias de “hermanos completos” en esa vivienda. El tamaño de las familias y el número de familias reflejan una endogamia moderada y ponen en evidencia un flujo genético intradomiciliario, el cual beneficia el intercambio genético de la especie en esas condiciones. De estos resultados puede inferirse que las familias numerosas, ligeramente endogámicas sean el tipo de población con una mayor probabilidad de éxito en los rociamientos intradomiciliares. Sin embargo el alto número de familias pequeñas, con pocos miembros, señala la posibilidad de flujos genéticos del exterior, por lo que el control de este tipo de poblaciones es el que no podría ser efectuado eficazmente con los métodos y procedimientos tradicionales.

V. ANTECEDENTES

Desde 1992 se han hecho varios estudios sistemáticos relacionados con la enfermedad de Chagas en Guatemala, especialmente enfocados a los vectores y su forma de control. Estos resultados mostraron la factibilidad y la conveniencia económica de invertir en el control de estos insectos (Tabaru *et al.*, 1999). En 1997 el Laboratorio de Investigación en Entomología y Parasitología de la Escuela de Biología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de San Carlos, juntamente con la Sección de Chagas y Leishmaniasis del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social del Gobierno de la república, presentaron un proyecto a la Agencia de Cooperación Japonesa (JICA) con el objetivo de buscar financiamiento para el rociamiento de 300,000 viviendas en el país. Este proyecto se aprobó parcialmente y tanto los fondos como los suministros y los colaboradores japoneses comenzaron a hacer efectivo este objetivo en el año 2000.

Por otro lado, existen tres iniciativas, la Sudamericana, Andina y Centroamericana para el control de los vectores de la enfermedad de Chagas. La última en gestionarse fue la Centroamericana. Sin embargo, algunos países de la región ya iniciaron la campaña de control de los vectores con rociamientos utilizando insecticidas piretroides. Honduras es el país de Centroamérica que tiene más experiencia y mayor número de viviendas fumigadas, le sigue Nicaragua que inició su campaña en 1999 con fondos donados por el gobierno de Taiwan.

En Guatemala la campaña se inició en agosto del año en curso y la meta de este proyecto es el rociamiento de 50,000 viviendas en los departamentos de Chiquimula, Zacapa, Santa Rosa, Jutiapa y Jalapa. Se están utilizando tres piretroides: Landacyalotrina, Deltrametrina y Ciflutrina. El rociamiento está a cargo del Ministerio de Salud Pública, y los fondos se obtuvieron del gobierno de Japón (JICA) y del Gobierno de Guatemala. Cada región de Salud cuenta con un vehículo y bombas para el efecto.

Estudios previos (Monroy *et al.*, 1998; Córdón-Rosales 2000) han demostrado que *Rhodnius prolixus* puede ser controlado fácilmente por ser exclusivamente domiciliario, sin embargo, *T. dimidiata* habita tanto en el domicilio como en el peridomiclio y en condiciones silvestres (Monroy *et al.* 2000). En eventos de rociado esta especie vuelve a colonizar la vivienda humana en poco tiempo por lo que estudios sobre la dinámica y diferencias poblacionales son prioritarios.

Desde 1992 se han realizado varios estudios en la región del Municipio de Ixwatán, departamento de Santa Rosa, una de las zonas con alta endemia de Chagas (Monroy 1993), el trabajo de morfometría aquí presentado se realizó en este departamento, en la aldea Agua Zarca del Municipio de Ixwatán, y en la aldea el Cuje del Municipio de Pueblo Nuevo Viñas. Se visitaron varias viviendas a lo largo de año sin embargo por el número de individuos colectados únicamente dos viviendas se analizaron en su totalidad con el método de morfometría.

En este trabajo se utilizó el RAPDs-PCR como herramienta para la estimación del número de familias de “hermanos completos” (hijos del mismo padre y de la misma madre) de *Triatoma dimidiata* que viven en una sola vivienda humana. Este estudio tiene el siguiente fundamento.

Las huellas “dactilares” genéticas han sido utilizadas ampliamente para estudiar la organización social de numerosas especies (Apóstol, *et al.*, 1992). Generalmente para las huellas “dactilares” genéticas o “fingerprinting” se han utilizado VNTR’s (Números Variables de Repeticiones en Tándems). Sin embargo

hace más o menos una década Welsh y McClelland introdujeron una nueva forma para detectar polimorfismo. Esta técnica es el RAPD's, una modificación del PCR. El RAPD's, Amplificación al Azar de ADN Polimórfico, utiliza un solo tipo de "primer", corto, de unos 10 pares de bases. El tamaño pequeño de este "primer" aumenta considerablemente las probabilidades para que se una en distintos puntos del genoma. Si se unen suficientemente cerca dos "primers" en una y otra hebra de la doble hélice de ADN, la Taq polimerasa podrá amplificar esa región, dando lugar a un fragmento con un peso molecular determinado. Como las probabilidades para que se una en distintos sitios son elevadas, la Taq polimerasa podrá amplificar otros fragmentos con pesos moleculares distintos. El conjunto de fragmentos amplificados es lo suficientemente variable para poder detectar polimorfismo entre individuos de una misma especie con esta técnica. Se asume que estos fragmentos amplificados son loci dominantes que se segregan independientemente, o sea que pueden ser considerados como loci individuales. Las ventajas del RAPD's son que se requiere poca cantidad de ADN, la detección de los amplicones (fragmentos amplificados) es no radiactiva, es un proceso relativamente rápido comparado con otras técnicas clásicas, y no se necesita información previa acerca de la secuencia de nucleótidos.

El primer paso después de amplificar las muestras y correrlas en los geles de agarosa fue identificar cada uno de los loci replicados, es decir detectar cada una de las bandas. Para esto se utilizó el programa de análisis de imágenes RFLPscan, un programa especializado para este tipo de estudio. Este programa tradujo la fotografía de cada uno de los geles a una matriz binaria de "0" y "1", siendo el "0" la ausencia de banda y el "1" la presencia. Con esta matriz fue posible calcular la fracción de bandas compartidas como ausencias y presencias. Se amplía la información proporcionada por la matriz considerando los alelos recesivos. El número de coincidencias "M" (de "matches" en inglés) se calculó con la siguiente fórmula $M = Nab / Nt$ siendo Nab el total de bandas coincidentes entre los individuos a y b, y Nt, el total de bandas consideradas en el estudio. Un valor M de 1 indica que los individuos a y b comparten un mismo patrón de bandeos y un M de 0 indica que el patrón entre los individuos a y b es completamente diferente. Para estimar el número de familias entre individuos emparentados, medio emparentados y no emparentados hay que estimar el valor 1-M. Esto es necesario para minimizar la probabilidad de incluir a un individuo no emparentado en un grupo de individuos hermanos completos, y viceversa debido a la varianza elevada al considerar parentescos (Apóstol, et al 1992). El valor de 1-M permite seleccionar a las familias de hermanos completos, estando éstas agrupadas con valores inferiores a ese valor. Para determinar el valor de 1-M, se seleccionaron previamente loci con frecuencias alélicas comprendidas entre 0.1 y 0.6. Esto se hizo colectando individuos de *Triatoma dimidiata* aledañas a la casa de estudio, para tener el marco de referencia de frecuencias génicas de la región estudiada. Apóstol, et al demostraron que valores debajo de 0.1 ó arriba de 0.6 no son adecuados para estimar el número de familias, ya que alelos con frecuencias muy bajas –debajo de 0.1-, subestimarían el grado de parentesco entre individuos, ya que son alelos poco frecuentes de por sí en la población. Valores superiores a 0.6 harían lo contrario; sobreestimarían el parentesco, ya que son alelos frecuentes en la población. Así dos individuos compartirían el mismo alelo no por estar emparentados sino porque el alelo considerado es recurrente en la población. Para poder seleccionar los loci se estudiaron 21 individuos amplificados exitosamente con los tres primers L1, L4 y H3 de la casa Operon, colectados alrededor de la casa en estudio. Con el programa Mcalc, del paquete RAPD's de W.Black, se seleccionaron los loci con frecuencias alélicas entre 0.1 y 0.6. El cálculo supone que la población estudiada está en equilibrio Hardy-Weinberg, y que las bandas presentes son alelos dominantes. Los alelos con frecuencias no comprendidas entre 0.1 y 0.6 fueron descartados en la matriz con los individuos colectados en la vivienda de estudio. Luego esa nueva matriz se ingresó al programa Fingers del mismo paquete de W.Black y se estimó el número de familias.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6. A. MORFOMETRIA:

Insectos: Se utilizaron 158 especímenes adultos de *Triatoma dimidiata*¹. Estos especímenes se distribuyen de la siguiente manera:

¹ Estos especímenes son parte de la colección del Laboratorio de Investigación en Entomología y Parasitología de la Escuela de Biología, Universidad de San Carlos de Guatemala. Han sido colectados durante los estudios de la biología y control de vectores de la enfermedad de Chagas en Guatemala.

12 machos colectados en el mes de abril de 1998 (verano) y 12 machos colectados en el mes de octubre de 1998 (invierno), en la residencia del Sr. Cástulo López, Agua Zarca, Ixwatán, Santa Rosa.

23 hembras colectadas en el mes de abril en los años 1997 y 1998, 14 en los meses de mayo y julio de 1997 y 1999, y 13 en el mes de octubre de 1998.

22 machos colectados desde marzo hasta mayo de 1999 y 22 machos colectados desde julio hasta octubre de 1999, en la residencia de la Sra. Eulogia López, El Cuje, Pueblo Nuevo Viñas, Santa Rosa.

18 hembras colectadas desde marzo hasta mayo de 1999 y 22 hembras colectadas desde julio hasta octubre de 1999, en la residencia de la Sra. Eulogia López, El Cuje, Pueblo Nuevo Viñas, Santa Rosa.

A cada insecto le fueron removidos los hemélitros, y se montaron entre porta y cubre objetos utilizando como medio Solución de Hoyer. Para los machos colectados en la residencia de Sr. Cástulo López también se utilizaron las cabezas como objeto de medición. Por esto fueron removidas del cuerpo y montadas en alfileres.

Morfometría: Se aplicaron las técnicas de Morfometría Tradicional. En primer lugar se capturaron las imágenes de las alas *izquierdas* de los individuos utilizando un sistema de video (Cámara Olympus OLY-750, conectada a un estereoscopio Olympus SZ-STS). Las imágenes captadas por el video eran transmitidas a una computadora y captadas por medio del software Video Highway Xtreme (AIMS Lab, Inc. 1997), por medio del cual las imágenes podían ser almacenadas como archivos tipo *mapa de bits* (.BMP).

Los archivos de imagen fueron trabajados utilizando el programa de computadora tpsDig® (Version 1.11, 1996, James Rohlf, Ecology & Evolution, Suny at Stony Brook). Este programa colocaba la imagen del ala sobre un plano Cartesiano y permitía obtener las coordenadas (x,y) de los nueve puntos de intersección de las venaciones del ala que se muestran en la Figura 2.

Los datos de las coordenadas se ingresaron en una hoja electrónica (Microsoft Excel®, 1998 Microsoft Corporation), donde se ordenaron. En primer lugar, a partir de las coordenadas se obtuvieron 36 distancias (tabla 1) entre puntos homólogos, utilizando el Teorema de Pitágoras:

$$d = \sqrt{\left((x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2 \right)}$$

donde d es distancia, y x_n y y_n representan las coordenadas de los dos puntos entre los cuales se desea conocer la distancia. Las distancias que se utilizaron para este estudio no tienen dimensiones, siendo 1 milímetro igual a 54 unidades adimensionales.

Tabla 1

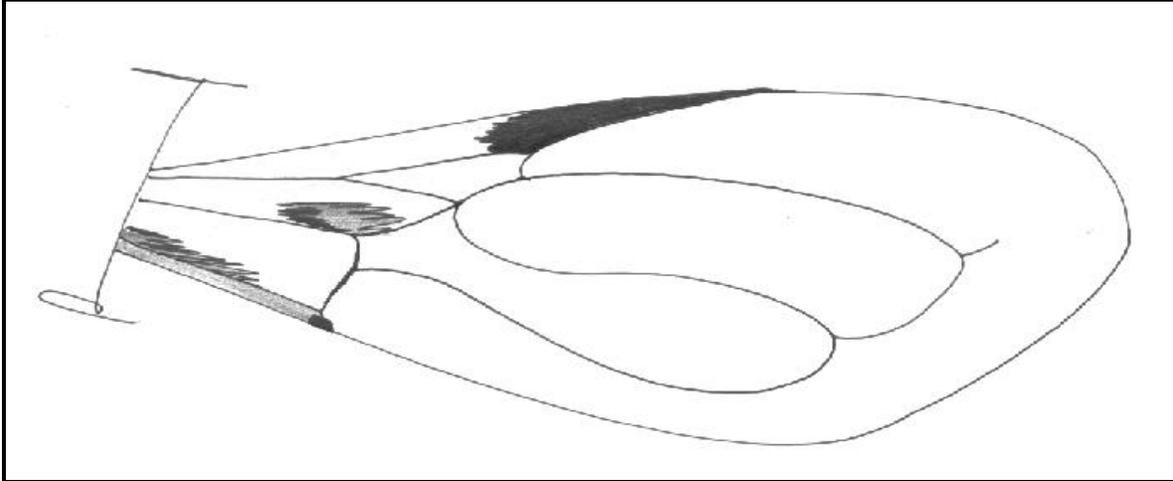
Distancias entre puntos homólogos sobre el hemielitro

H12, H13, H14, H15, H16, H17, H18, H19
H23, H24, H25, H26, H27, H28, H29
H34, H35, H36, H37, H38, H39
H45, H46, H47, H48, H49
H56, H57, H58, H59
H67, H68, H69
H78, H79
H89

(Tabla 1). Estas son todas las combinaciones de distancias que se obtuvieron a partir de 9 puntos ("landmarks", ver Figura 2) sobre las alas de *Triatoma dimidiata*. H significa hemielitro; los números significan los puntos entre los cuales se obtuvieron las mediciones. Por ejemplo, H12 significa la distancia en el hemielitro entre los puntos 1 y 2.

Figura 1

ESQUEMA DEL HEMIÉLITRO DE UN TRIATOMINO CON LOS PUNTOS CONSIDERADOS PARA LAS MEDICIONES MORFOMETRICAS
(Ala Mesotorácica)



Análisis de los datos: Los valores de las distancias (caracteres métricos ó variables) fueron transformados a su logaritmo natural.

Análisis Univariado:

Se utilizó estadística no paramétrica (análisis de Kruskal Wallis) para averiguar que caracteres métricos se mostraban significativamente diferentes entre los grupos. Debido a que ninguno de los análisis fue significativo, no se muestran en los resultados.

Análisis Multivariado

Morfometría Tradicional:

Análisis de la Conformación (Dujardin 2000): Para cada grupo analizado se obtuvo una variable que representa el tamaño global (Tamaño Isométrico = Taiso), la cual se obtiene promediando los valores de todas las mediciones por individuo. Se restó el valor de Taiso a cada uno de los valores de las distancias, y se obtuvo un nuevo conjunto de variables libres de tamaño isométrico, que se denominan *variables de conformación*. Estas fueron sometidas a un Análisis de Componentes Principales (ACP). Los componentes obtenidos (excepto el último, de contribución muy baja ó casi nula a la variación), fueron sometidos a un Análisis Canónico Discriminante (ACD), que proporcionó una *reclasificación* de los individuos basado en sus caracteres métricos libres de cambio isométrico. La significancia del ACV se evaluó por medio del estadístico Wilks Lambda. El acuerdo o concordancia de la clasificación original con la reclasificación producida por el ACV se evaluó con el estadístico Kappa (K) (Siegel & Castellan 1988), el cual mide el acuerdo de las asignaciones de dos o más clasificadores. Cuando el acuerdo entre los clasificadores es completo, $K = 1$; en cuanto si no hay acuerdo (otro que el acuerdo que sería esperado por azar) entre los clasificadores, entonces $K = 0$.

Análisis de la Forma (Dujardin 2000): Para cada grupo, se probaron conjuntos de variables para saber si eran compatibles con un eje alométrico común (Dujardin & Le Pont 2000), es decir, si encajaban en el modelo del Análisis de Componentes Principales Comunes (ACPC). Para ambos sexos se encontró un conjunto de variables que cumplía con el modelo; seguidamente, la influencia de la alometría intragrupo fue removida

extrayendo los Componentes Principales Comunes (CPCs) que se denominan *variables de forma*, excepto el primero, que representa el tamaño. Sobre las variables de forma se hizo un Análisis Canónico Discriminante (ACD), que proporcionó una reclasificación de los individuos basado en sus caracteres métricos libres de cambio alométrico. También se utilizaron los estadísticos Wilks Lambda y Kappa para probar la significancia del ACD.

Nota: El número de variables, ya sea de conformación o de forma, que se utilizan para el ACD es igual a la mitad del número de individuos en el grupo menor; si el grupo más pequeño posee 12 individuos sólo se pueden utilizar 6 variables.

Para realizar los análisis estadísticos univariados y multivariados (de Componentes Principales y Canónico Discriminante) se utilizó el software SPSS for Windows (SPSS, Inc. Release 7.5, 1996); para realizar el Análisis de Componentes Principales Comunes se utilizó el Software NTSys® (Applied Biostatistics Inc., 1998).

6. B. RAPDS- PCR

Se utilizaron 130 chinches de una sola vivienda humana ubicada en la aldea el Cuje del Municipio de Pueblo Nuevo Viñas, departamento de Santa Rosa. Perteneciente a doña Eulogia López.

Los especímenes fueron colectados durante más de un año de colectas mensuales y fueron trasladados al laboratorio en donde se les cortaron las patas para extracción de ADN.

El ADN fue amplificado con los primers de la casa Operon denominados L1 (5´CGG CCC CTG G 3´), L4 (5´GTG GAT GCG A 3´), H3 (5´ CAT CCC CCT G 3´) que corresponden a oligonucleótidos. Los amplicones son colocados en geles teñidos con bromuro de etidio para detectar las bandas las cuales corresponden a los alelos dominantes, los geles son fotografiados con una cámara digital Olympus y trasladados a una computadora en donde se analizan utilizando el programa de RFLPscan. Con el programa Mcal se seleccionaron los loci con frecuencias alélicas entre 0.1 y 0.6. El cálculo presupone que la población estudiada está en equilibrio Hardy Weinberg y que las bandas presentes son alelos dominantes. Los alelos con frecuencias no comprendidas entre 0.1 y 0.6 fueron descartadas. Estos datos fueron ingresados al programa Fingers para estimar el número de familias existentes.

VII. RESULTADOS

7.A. MORFOMETRÍA

MORFOMETRIA DE *Triatoma dimidiata* COLECTADOS EN AGUA ZARCA, IXWATAN, SANTA ROSA.

7. EVALUACIÓN DE LAS DIFERENCIAS ENTRE LAS POBLACIONES DE MACHOS DE VERANO Y MACHOS DE INVIERNO COLECTADOS EN UNA SOLA VIVIENDA LOCALIZADA EN AGUA ZARCA, SANTA ROSA.

Para esta evaluación se utilizaron 12 machos colectados en el mes de abril de 1998 (verano) y 12 machos colectados en el mes de octubre de 1998 (invierno), en la residencia del Sr. Cástulo López, Agua Zarca, Ixwatán, Santa Rosa.

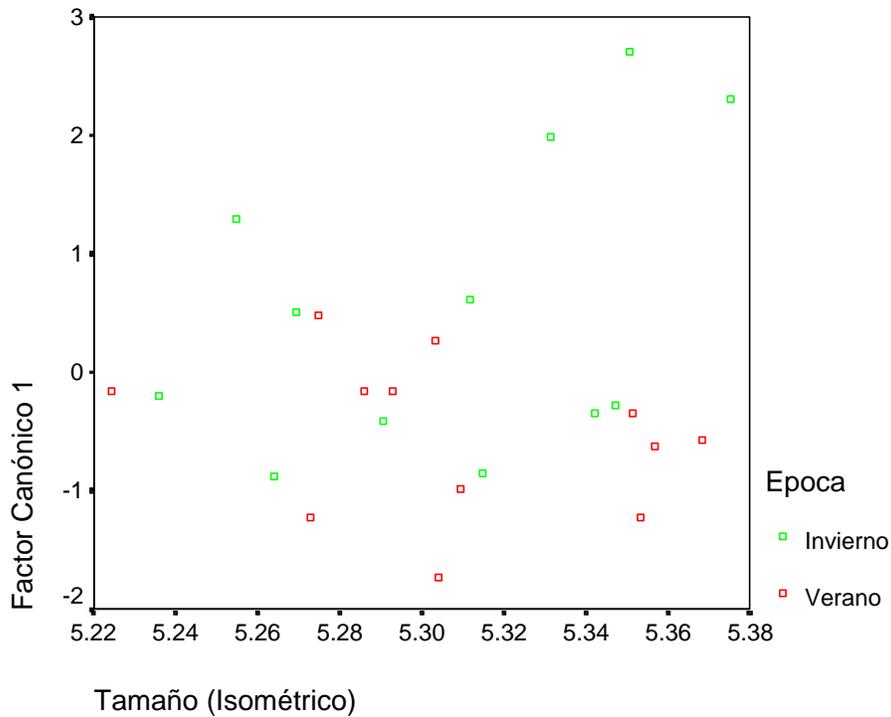
7.1. MORFOMETRIA DE ALAS

7.1.1. ANALISIS DE LA CONFORMACIÓN

El Análisis Canónico Discriminante **no produjo** una diferenciación significativa (Wilks lambda = 0.760, $p = 0.376$), de las poblaciones de verano-invierno de los machos. Se obtuvo que solamente 66.7% de los casos fueron reclasificados por el Análisis Canónico Discriminante en su grupo original; al evaluar esta reclasificación con el estadístico Kappa (Kappa = 0.333, $p = 0.083$) se encuentra que el resultado obtenido se

acerca mucho a uno que pudo obtenerse por azar, por lo que este análisis de la conformación no logra diferenciar satisfactoriamente los machos en dos grupos.

Gráfica 1

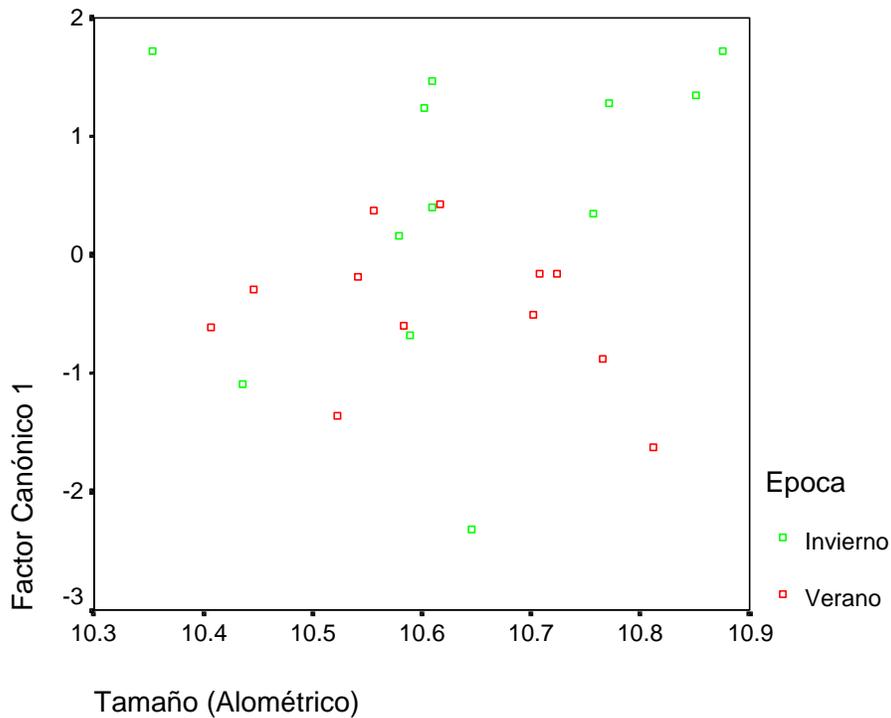


Gráfica 1. En esta gráfica se observa que los 12 individuos de verano **no** constituyen un grupo diferenciado de los 12 individuos de invierno, en base al análisis morfométrico de la conformación sobre las alas. El Tamaño Isométrico es el promedio de todas las mediciones para cada individuo, mientras que el Factor Canónico 1 proviene de los Componentes Principales de mayor contribución a la variación, obtenidos del Análisis de Componentes Principales aplicado a 36 variables de conformación.

7.1.2. FORMA

El análisis de la forma tampoco provee una diferenciación de los individuos de verano-invierno (Wilks Lambda = 0.808, $p = 0.528$). El Análisis Canónico Discriminante reclasifica 79.2% de los individuos en su grupo original (13.5% más que el análisis de la conformación). Sin embargo, esta reclasificación aún no es considerable (Kappa = 0.583, $p = 0.004$).

Gráfica 2



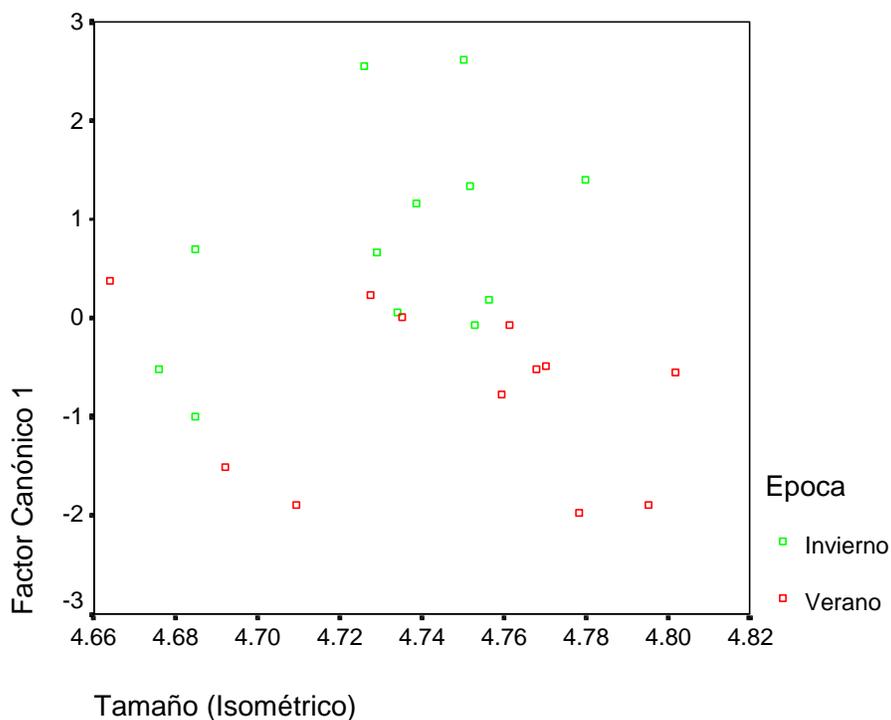
Gráfica 2. Los 12 individuos de verano **no** constituyen un grupo diferenciado de los 12 individuos de invierno, sobre la base del análisis morfométrico de la forma sobre las alas. Las variables de forma se obtuvieron a partir del ACPC (ver Análisis de los datos) sobre seis distancias medidas sobre el ala (H12, H25, H56, H68, H89, H19) que cumplían con el modelo de los Componentes Principales Comunes ($X^2 = 23.69935$, $p = 0.07038$). El tamaño alométrico es el Primer CPC, y el Factor Canónico 1 se obtuvo de un ACD sobre los restantes CPC.

7.2. MORFOMETRIA DE CABEZAS

7.2.1. ANALISIS DE LA CONFORMACION

Para este análisis, la diferenciación por medio del Análisis Canónico Discriminante (ACD) entre los 12 individuos de verano y los 12 de invierno no fue significativa (Wilks Lambda = 0.616, $p = 0.092$), y la reclasificación que produjo el ACD solamente reasignó correctamente a su grupo original al 75% de los individuos (Kappa = 0.500, $p = 0.14$).

Gráfica 3

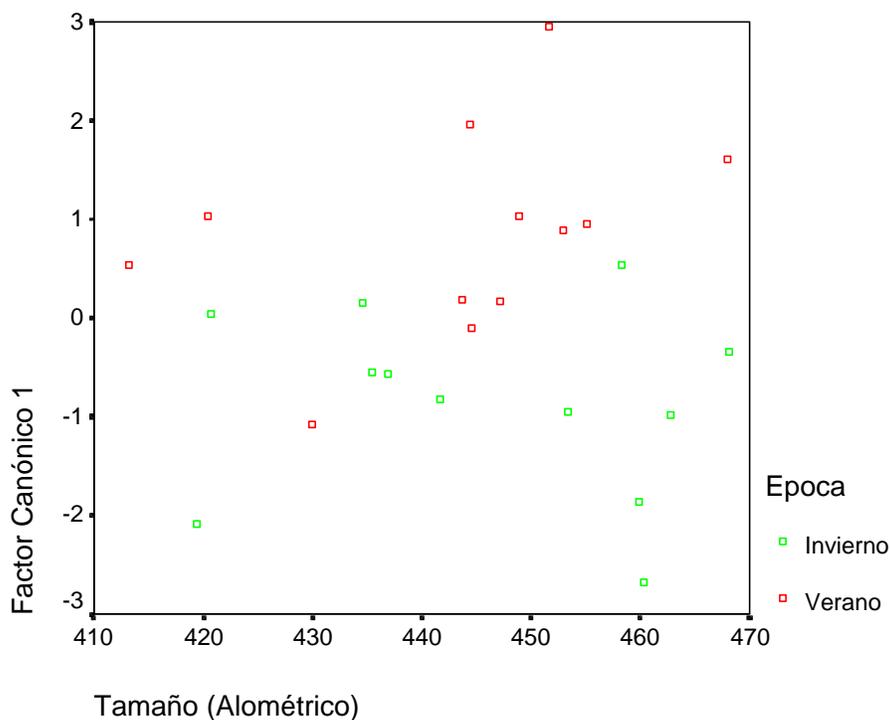


Gráfica 3. Los 12 individuos de verano **no** constituyen un grupo diferenciado de los 12 individuos de invierno, sobre la base del análisis morfométrico de la conformación sobre la cabeza. El Tamaño Isométrico para cada individuos es el promedio de las distancias obtenidas de su cabeza; el Factor Canónico 1 se obtiene a partir de un Análisis Canónico Discriminante sobre las seis variables de conformación obtenidas de la cabeza.

7.2.2. ANALISIS DE LA FORMA

El análisis de la forma sobre la cabeza *si provee una diferenciación significativa* entre los individuos de verano e invierno (Wilks Lambda = 0.563, $p = 0.048$). El Análisis Canónico Discriminante reclasifica 79.2% de los individuos en su grupo original. Esta reclasificación es moderada (Kappa = 0.583, $p = 0.004$), pero se cree es poco probable que se deba al azar.

Gráfica 4



Gráfica 4. Los 12 individuos de verano *si constituyen* un grupo moderadamente diferenciado de los 12 individuos de invierno, en base al análisis morfométrico de la forma sobre la cabeza. Las variables de forma se obtuvieron a partir del ACPC (ver Análisis de los datos) sobre seis distancias medidas sobre la cabeza (ver Figura 2) que cumplían con el modelo de los Componentes Principales Comunes ($X^2 = 19.22990$, $p = 0.20350$). El tamaño alométrico es el Primer CPC, y el Factor Canónico 1 se obtuvo de un ACD sobre los restantes CPC.

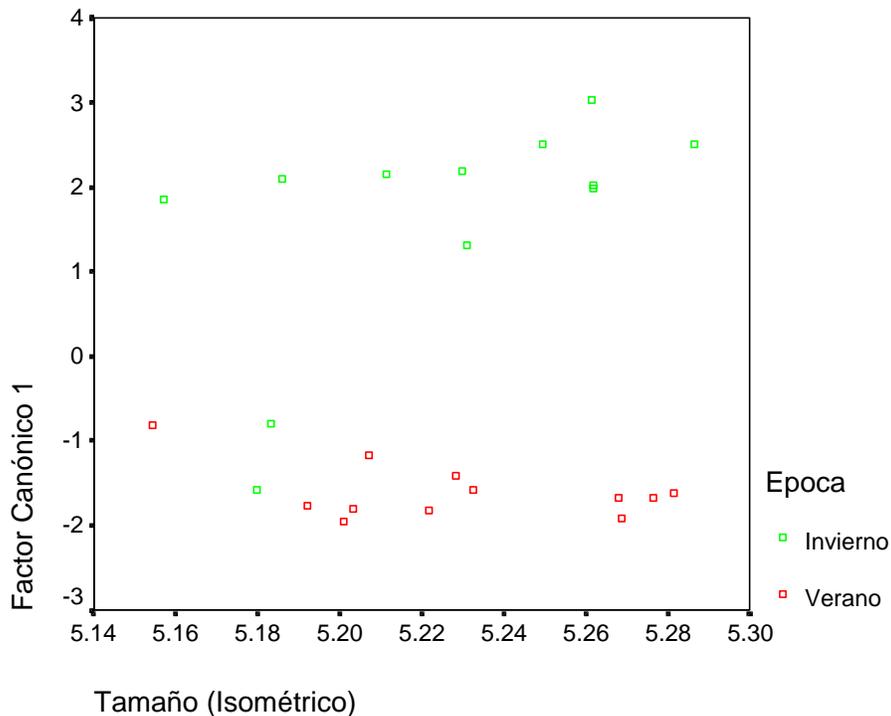
7.3. ANALISIS DE MORFOMETRIA COMBINANDO LAS MEDICIONES DE ALAS Y CABEZAS.

7.3.1. ANALISIS DE LA CONFORMACIÓN

Este análisis combinado logró una diferenciación altamente significativa (Wilks Lambda = 0.262, $p = 0.000$), permitiendo una reclasificación del 91.7% correctamente asignados a su grupo original (Kappa = 0.833, $p = 0.000$), lo cual es casi perfecto. Ninguno de los individuos de verano se reclasificó sobre la base de su morfología en el grupo de invierno, mientras que dos de los individuos de invierno se clasificaron en el grupo de verano.

Al evaluar con estadística no paramétrica (U Mann Withney), cuáles de los caracteres métricos utilizados eran significativamente diferentes entre los individuos de invierno y verano y por ende, estarían contribuyendo más a la diferenciación, se encontró que el único significativamente diferente es la distancia postocular ($U = 27.5$, $p = 0.008$) (ver figura 2).

Gráfica 5



Gráfica 5. Los doce individuos colectados en verano **SI** constituyen un grupo casi perfectamente diferente del grupo de invierno. El Factor Canónico 1 se obtuvo a partir del ACD sobre las variables de conformación. La regresión lineal del Factor Canónico 1 en el Tamaño Isométrico ($r^2 = 0.0188$, $p = 0.523$) permite sugerir que la influencia del tamaño en la diferenciación de los grupos ha sido removida casi totalmente, con un residuo de solamente 1.88%.

MORFOMETRIA DE *Triatoma dimidiata* COLECTADOS EN ALDEA EL CUJE, PUEBLO NUEVO VIÑAS, SANTA ROSA.

EVALUACIÓN DE LAS DIFERENCIAS ENTRE LAS POBLACIONES DE MACHOS Y HEMBRAS DE VERANO-INVIerno DE LA CASA DE SRA. EULOGIA LÓPEZ, EL CUJE, PUEBLO NUEVO VIÑAS.

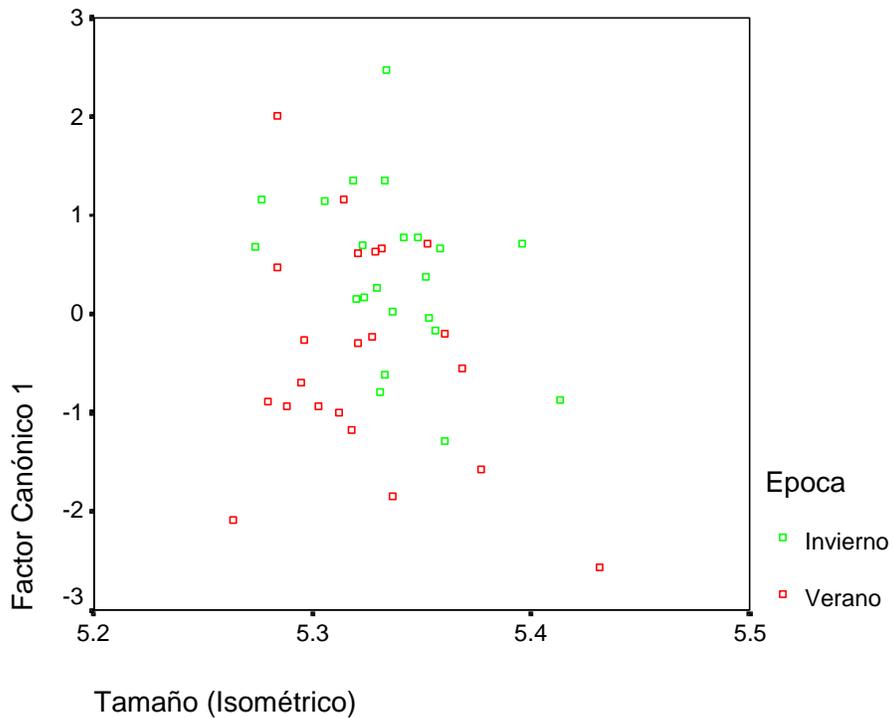
MACHOS

7.4. MORFOMETRIA DE LAS ALAS

7.4.1 ANÁLISIS DE LA CONFORMACIÓN

El Análisis Canónico Discriminante **no** produjo una diferenciación significativa (Wilks lambda = 0.850 , $p = 0.816$), de las poblaciones de verano-invierno de los machos de El Cuje. La reclasificación del Análisis Canónico Discriminante fue moderada y colocó el 75.0% de los casos en su grupo original (Kappa = 0.409, $p = 0.007$).

Gráfica 6

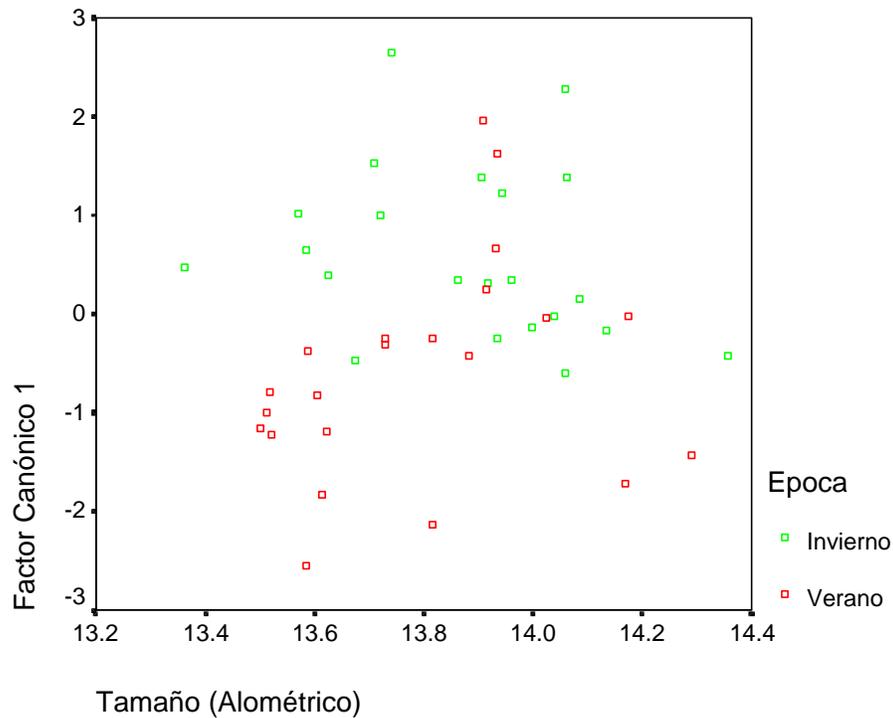


Gráfica 6. Los 22 individuos de verano **no** constituyen un grupo diferenciado de los 22 individuos de invierno, sobre la base del análisis de la conformación de las alas. El tamaño isométrico es el promedio de todas las mediciones para cada individuo, mientras que el Factor Canónico 1 proviene del ACD sobre las variables de conformación.

7.4.2 ANÁLISIS DE LA FORMA

El análisis de la forma tampoco provee una diferenciación de los individuos de verano-invierno (Wilks Lambda = 0.731, $p = 0.226$). El Análisis Canónico Discriminante reclasifica 75.0% de los individuos en su grupo original. Esta reclasificación es moderada (Kappa = 0.500, $p = 0.001$).

Gráfica 7



Gráfica 7. Los individuos de verano **no** constituyen un grupo diferenciado de los individuos de invierno, sobre la base del análisis morfométrico de la forma sobre las alas. El tamaño alométrico representa al Primer Componente Principal Común, derivado de una Análisis de Componentes Principales Comunes realizado sobre 10 distancias (H15, H25, H35, H45, H56, H57, H58, H59, H29, H49) medidas sobre las alas que cumplían con el modelo de los Componentes Principales Comunes ($X^2 = 53.16058$, $p = 0.18877$).

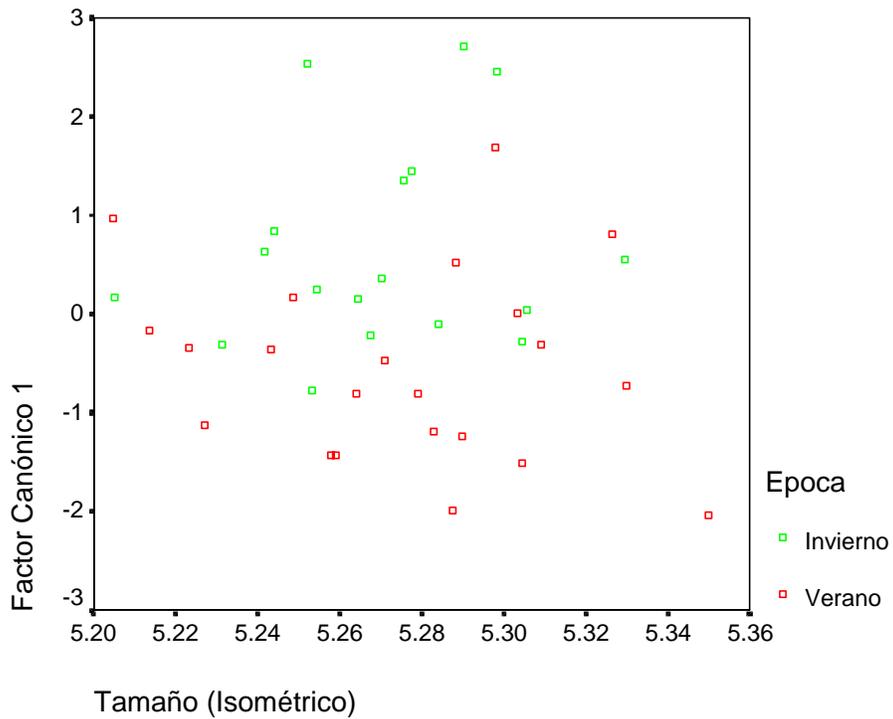
7.5. HEMBRAS

7.5.1. MORFOMETRIA DE LAS ALAS

7.5.1.1 ANÁLISIS DE LA CONFORMACIÓN

El Análisis Canónico Discriminante **no** produjo una diferenciación significativa (Wilks lambda = 0.729 , $p = 0.216$), de las poblaciones de verano-invierno de las hembras. El Análisis Canónico Discriminante reclasificó el 72.5% de los casos en su grupo original, (Kappa = 0.442, $p = 0.005$).

Gráfica 8.

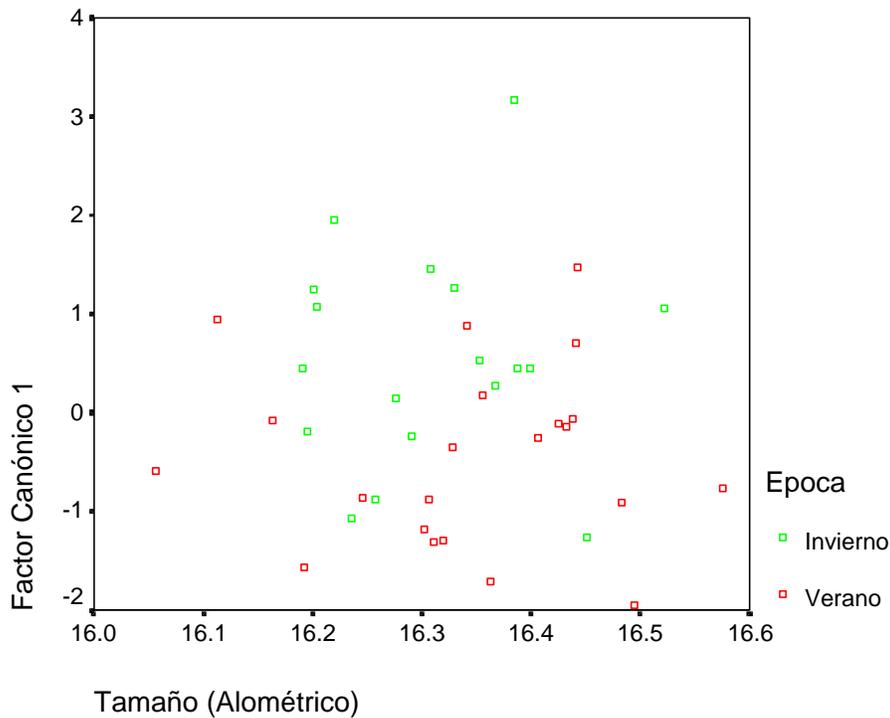


Gráfica 8. hembras de verano no constituyen un grupo diferenciado de las hembras de invierno, sobre la base del análisis de la conformación de las alas. El tamaño isométrico es el promedio de todas las mediciones para cada individuo, mientras que el Factor Canónico 1 proviene del ACD sobre las variables de conformación.

7.5.2 ANÁLISIS DE LA FORMA

El análisis de la forma tampoco provee una diferenciación de las hembras de verano de las de invierno (Wilks Lambda = 0.794, $p = 0.564$). El Análisis Canónico Discriminante reclasifica 75.0% de los individuos en su grupo original. Esta reclasificación es moderada (Kappa = 0.495, $p = 0.002$).

Gráfica 9



Gráfica 9. Las hembras de verano no constituyen un grupo diferenciado de las hembras de invierno, en base al análisis morfométrico de la forma sobre las alas. El tamaño alométrico representa al Primer Componente Principal Común, derivado de una Análisis de Componentes Principales Comunes realizado sobre 10 distancias (H12, H15, H19, H25, H28, H34, H56, H59, H68, H89) medidas sobre las alas que cumplían con el modelo de los Componentes Principales Comunes ($X^2 = 51.31306$, $p = 0.24003$).

7. B. RESULTADOS DE RAPDS-PCR

En las tablas 1 y 2 se muestra el número de individuos *Triatoma dimidiata* amplificados con los distintos primers, señalando cuáles fueron seleccionados para calcular las frecuencias génicas de las casas aledañas y de la casa en estudio.

Tabla 1

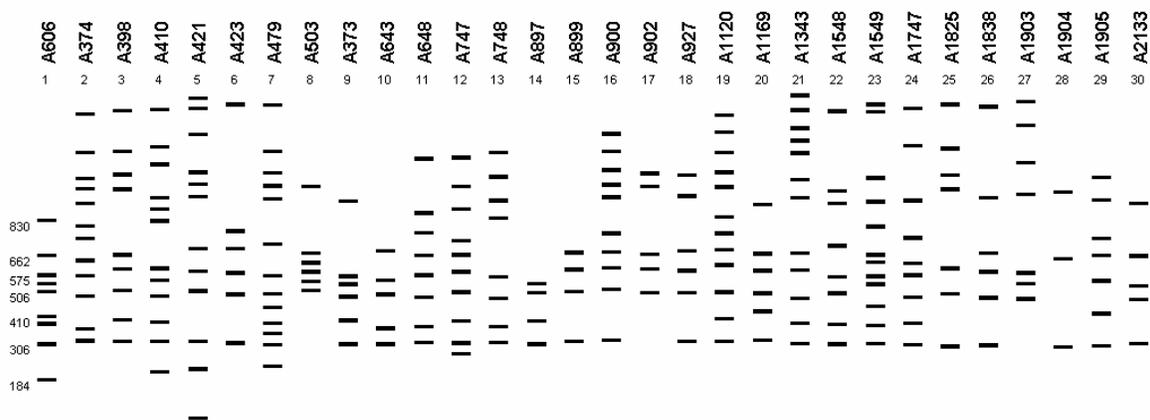
Primer utilizado	L1	L4	H3
Número de individuos para seleccionar los alelos con frecuencias génicas entre 0.1 y 0.6 cuyo ADN fue amplificado exitosamente	30	35	25
Número de individuos colectados en la casa de estudio para estimar el tamaño y número de las familias, cuyo ADN fue amplificado exitosamente.	100	90	51

Tabla 2

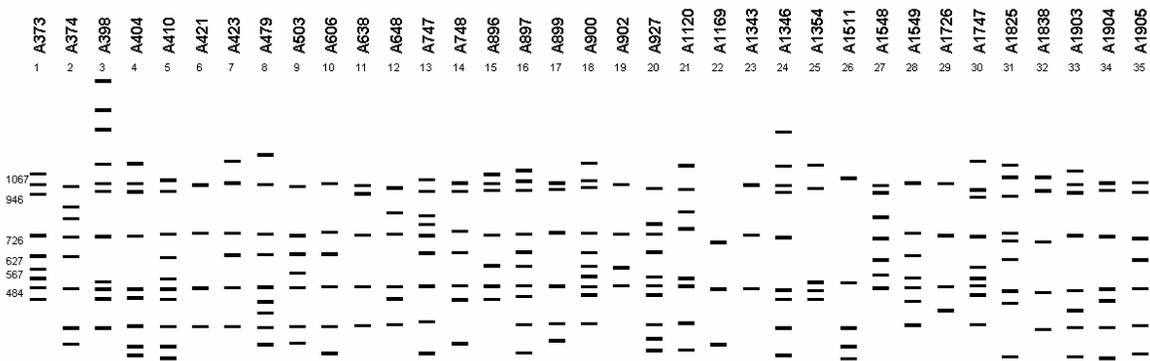
	Individuos colectados en casas aledañas	Individuos colectados en la casa de estudio
Número de individuos en común del cuadro anterior amplificados exitosamente con L1 y L4 y H3	21	41

Patrones de amplificación obtenidos con los primers L1, L4, y H3 entre los individuos colectados en casas aledañas a la casa de estudio para seleccionar los alelos con frecuencias génicas entre 0.1 y 0.6.

Primer L1

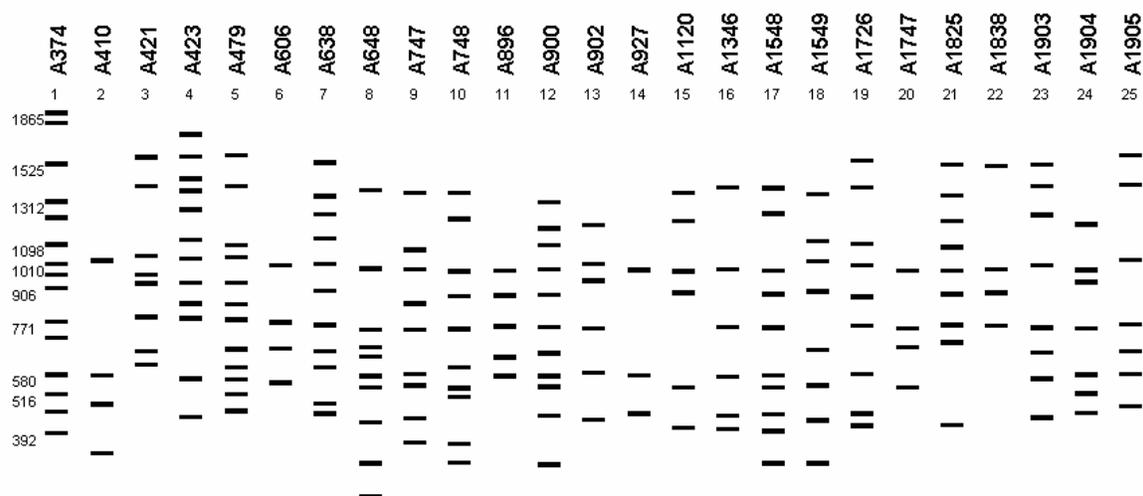


Primer L4



Patrones de amplificación obtenidos con los primers L1, L4, y H3 entre los individuos colectados en casas aledañas a la casa de estudio para seleccionar los alelos con frecuencias génicas entre 0.1 y 0.6. (continuación ...)

Primer H3



La Tabla 3 muestra las frecuencias génicas entre 0.1 y 0.6 de los individuos *T. dimidiata* colectados en las casas aledañas a la casa de estudio.

Tabla 3

	Locí	L1-8	L1-9	L1-12	L1-14	L1-17	L1-24	L4-13	L4-18	L4-26	H3-6	H3-12	H3-14	H3-16	H3-19
"A"	p	0.31	0.10	0.18	0.42	0.10	0.28	0.47	0.51	0.13	0.56	0.28	0.10	0.42	0.15

Locí con la frecuencia "p" del alelo dominante "A" comprendidas entre 0.1 y 0.6 determinadas entre individuos colectados en casas aledañas a la casa de estudio.

La tabla 4 muestra las frecuencias génicas, valores M y 1-M de los individuos colectados en la casa estudiada

Tabla 4

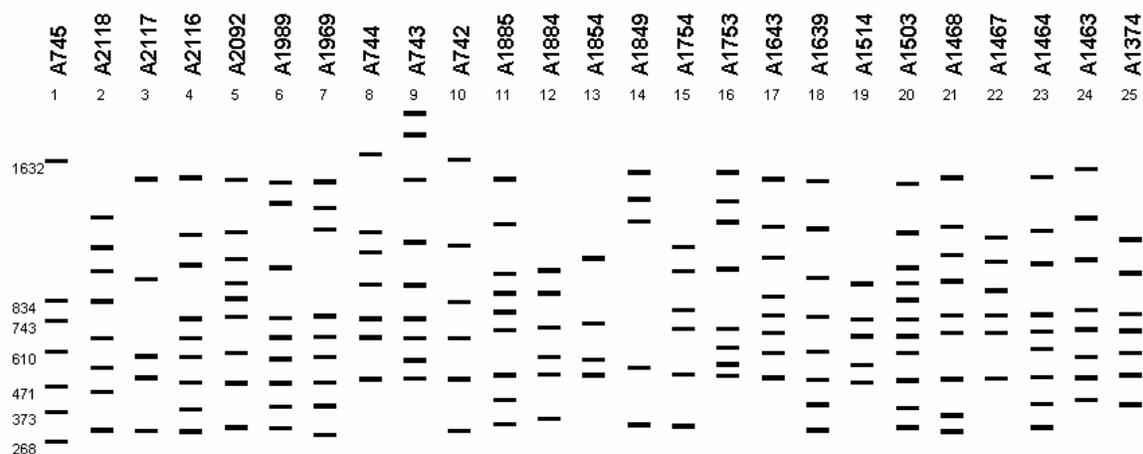
Loci	Frecuencias		M	1-M
	q	p		
L1-8	0.7868	0.2132	0.7501	0.2499
L1-9	0.8997	0.1003	0.8417	0.1583
L1-12	0.4364	0.5636	0.8156	0.1844
L1-14	0.4880	0.5120	0.7874	0.2126
L1-17	0.7237	0.2763	0.7306	0.2694
L1-24	0.5345	0.4655	0.7650	0.2350
L4-13	0.6172	0.3828	0.7363	0.2637
L4-18	0.9759	0.0241	0.9544	0.0456
L4-26	0.8997	0.1003	0.8417	0.1583
H3-6	0.3086	0.6914	0.8911	0.1089
H3-12	0.4880	0.5120	0.7874	0.2126
H3-14	0.9759	0.0241	0.9544	0.0456
H3-16	0.5774	0.4226	0.7480	0.2520
H3-19	0.8729	0.1271	0.8124	0.1876

$$M = p^4 + 4p^3(1-p) + 2p(1-p)^3 + 4.5p^2(1-p)^2 + (1-p)^4$$

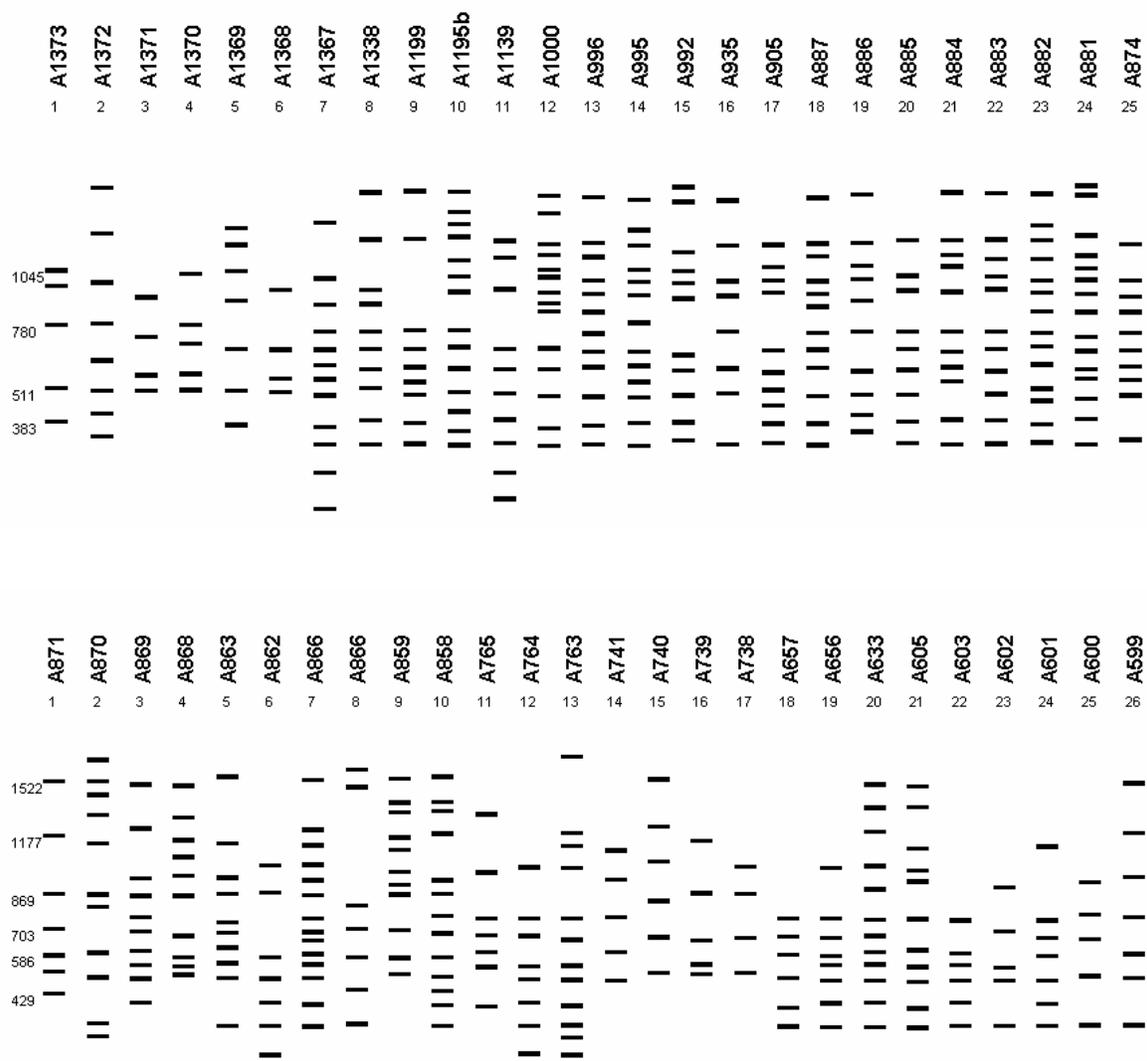
1-M promedio = 0.1849

Frecuencias "q" y "p" de los alelos "a", recesivos y "A" dominantes, respectivamente; valores M y 1-M, determinados con los individuos colectados en la casa de estudio.

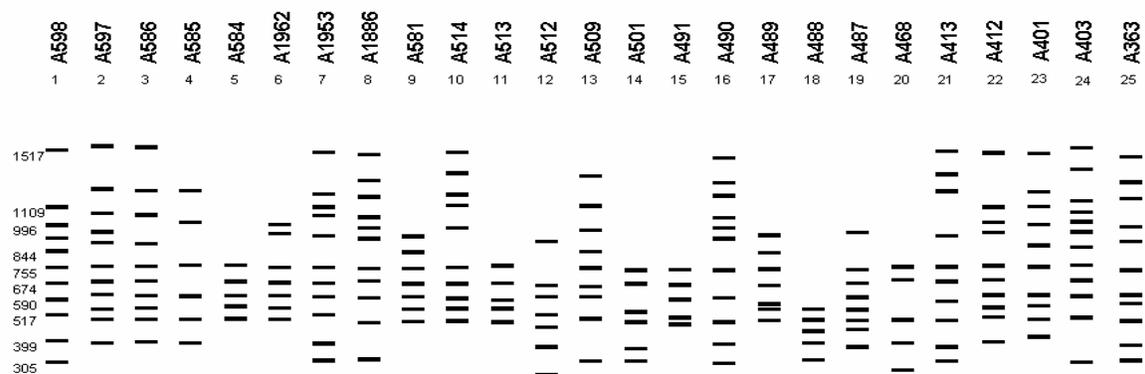
Patrones de amplificación obtenidos con el primer L1 entre los individuos colectados en la casa de estudio.



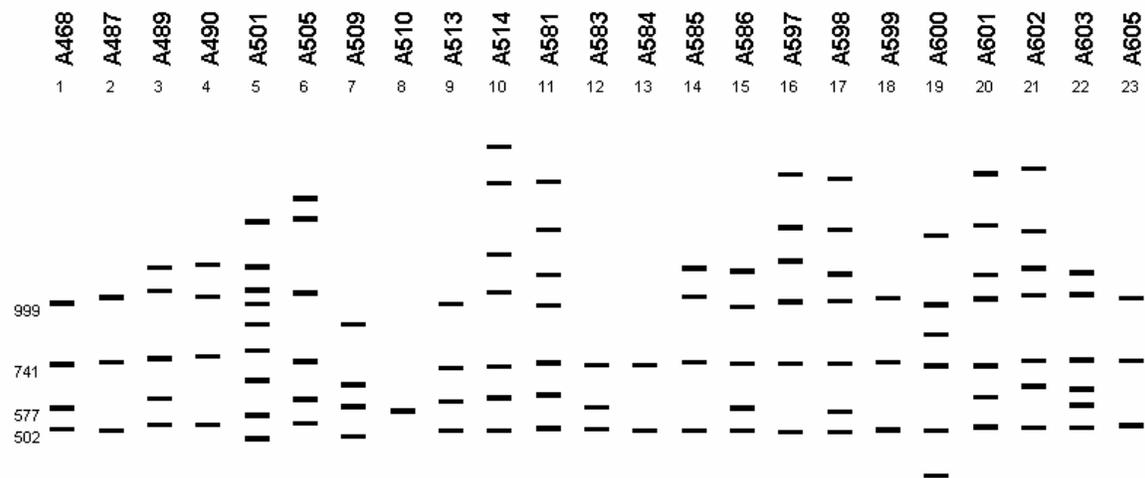
Patrones de amplificación obtenidos con el primer L1 entre los individuos colectados en la casa de estudio (continuación...).



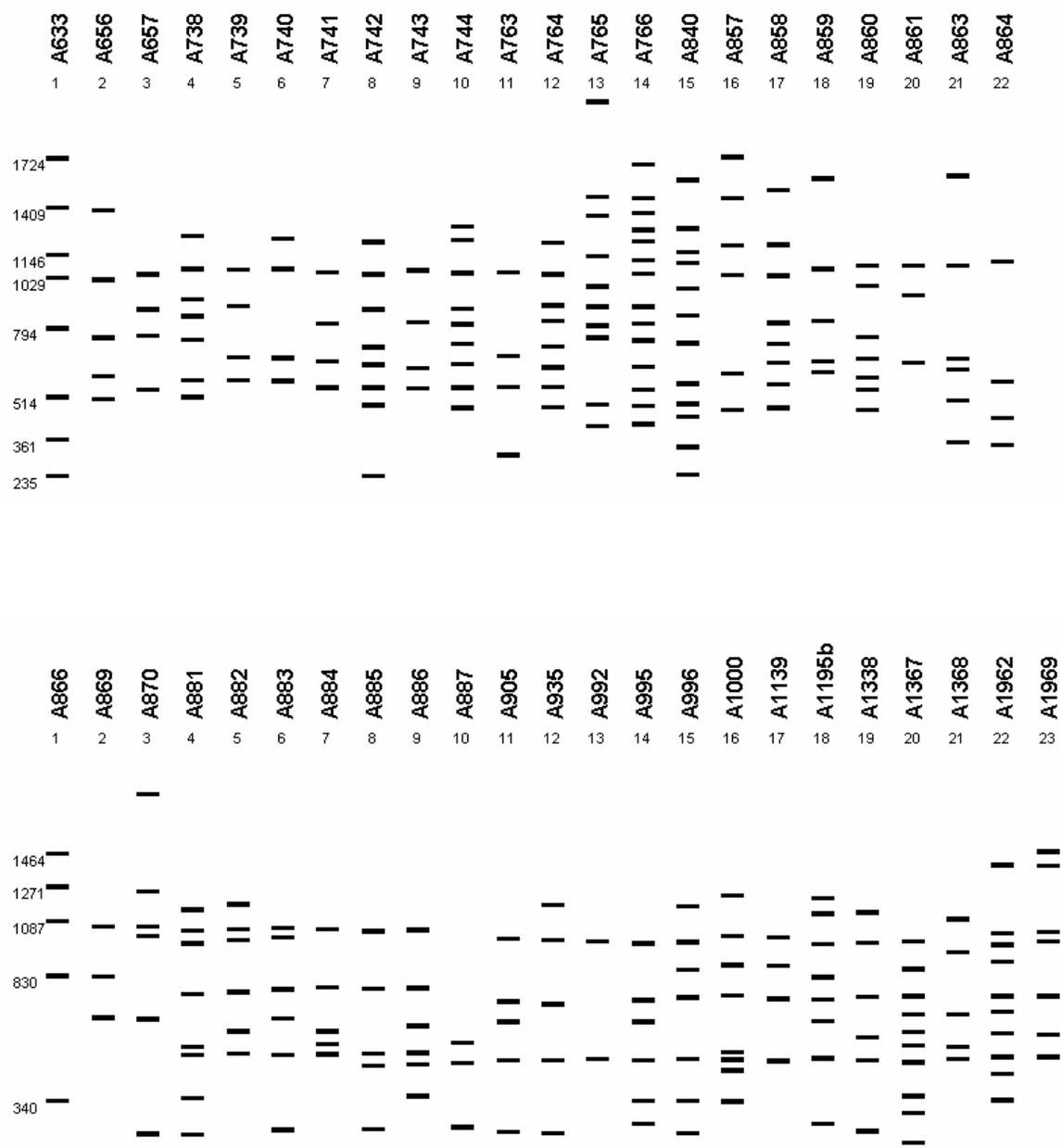
Patrones de amplificación obtenidos con el primer L1 entre los individuos colectados en la casa de estudio (continuación...).



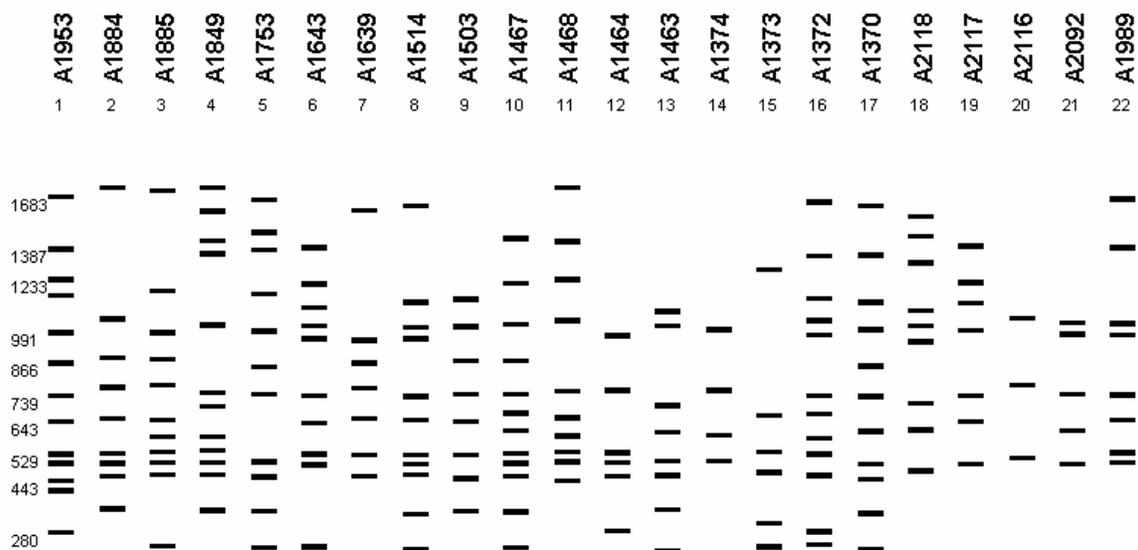
Patrones de amplificación obtenidos con el primer L4 entre los individuos colectados en la casa de estudio.



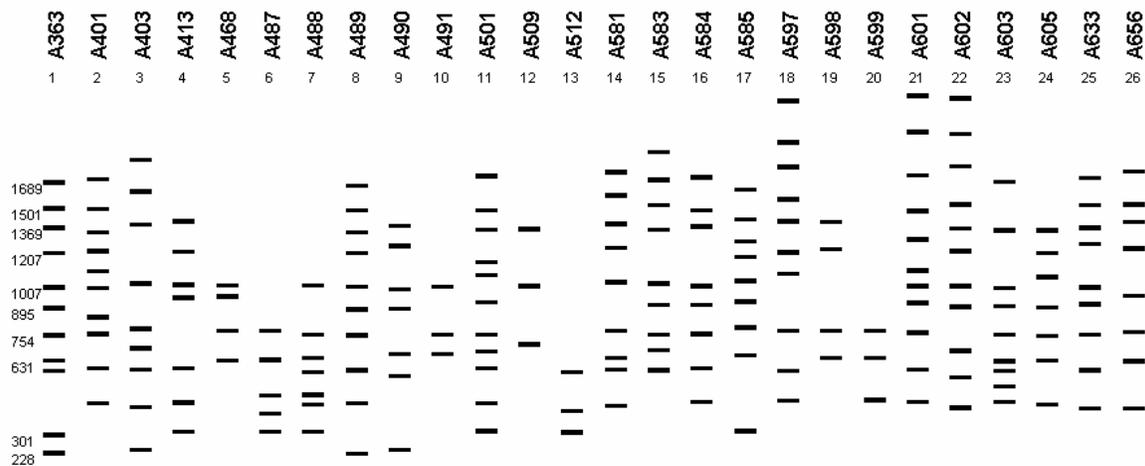
Patrones de amplificación obtenidos con el primer L4 entre los individuos colectados en la casa de estudio (continuación...).



Patrones de amplificación obtenidos con el primer L4 entre los individuos colectados en la casa de estudio (continuación...).



Patrones de amplificación obtenidos con el primer H3 entre los individuos de la casa de estudio.



Patrones de amplificación obtenidos con el primer H3 entre los individuos de la casa de estudio (continuación...).

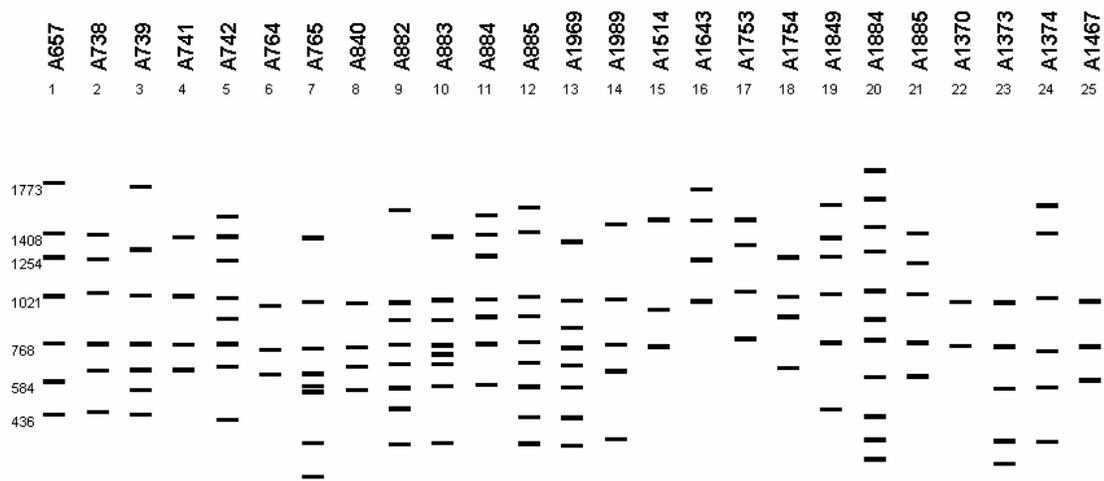
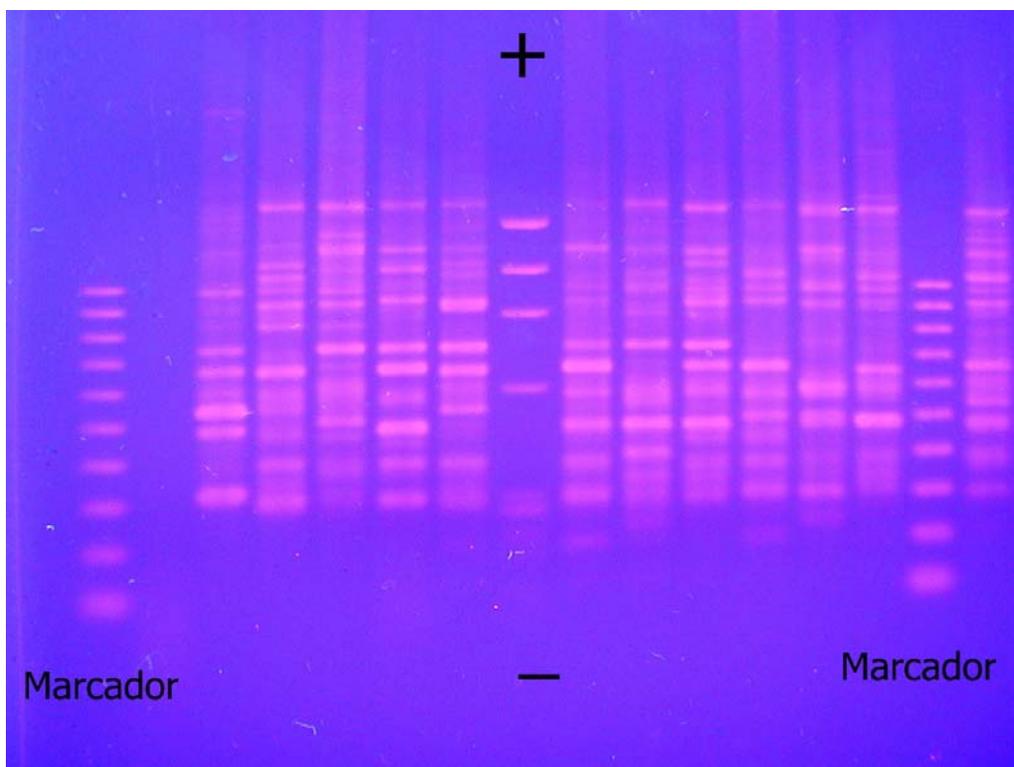
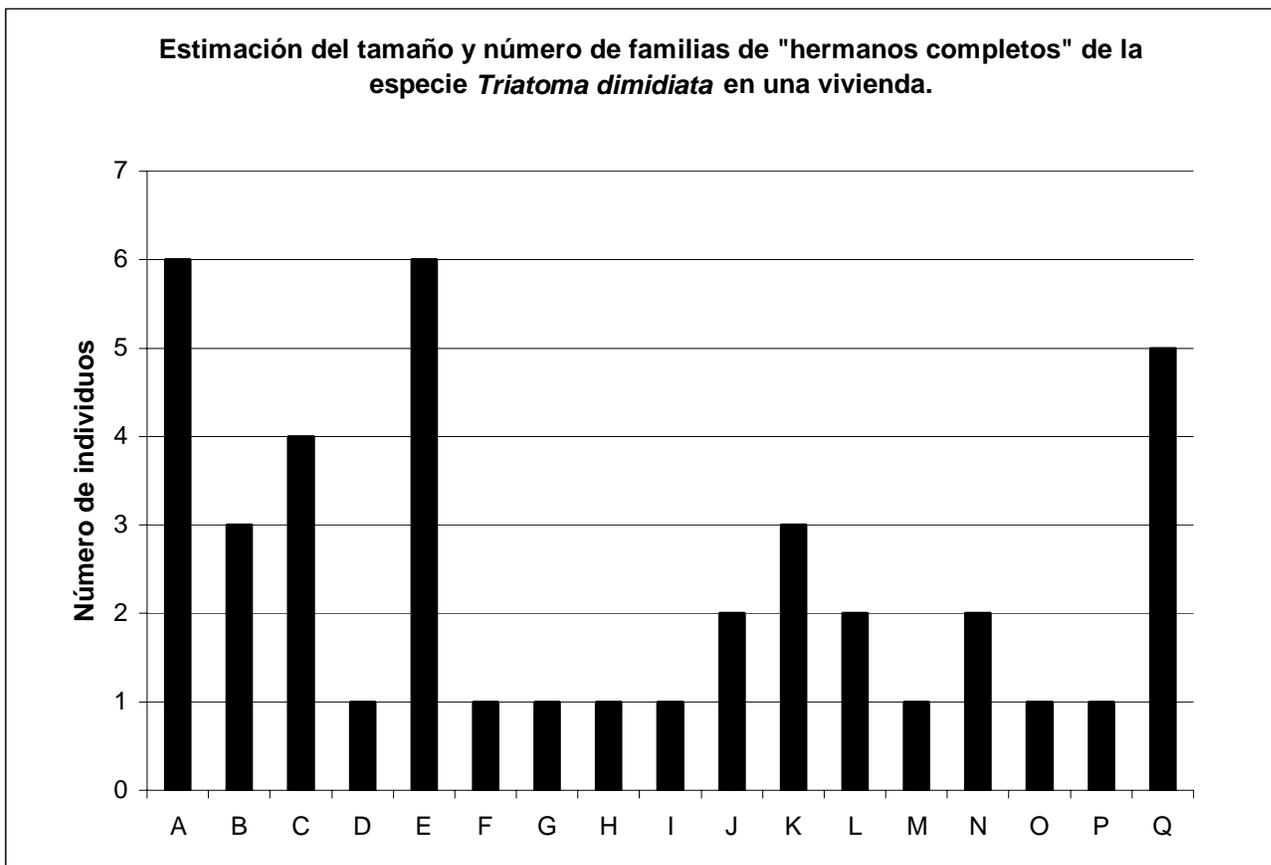


Figura 10
Ejemplo del corrimiento de los amplicones en un gel de agarosa.



Gráfica 1 RESULTADOS DE RADPDs-PCR



Número de familias detectadas con un umbral (1-M) de 0.1846. El tamaño promedio de las familias es 2.41 con una desviación estándar de 1.80.

8. DISCUSION DE RESULTADOS

A. MORFOMETRIA

La diferenciación métrica entre poblaciones de una misma especie, al eliminar la variación en tamaño intenta revelar patrones de variación que estén menos influenciados por factores ambientales, y es particularmente útil para estudios de variación geográfica donde las diferencias ecológicas, climáticas o altitudinales son aparentes (Dujardin *et al* 1998).

Los métodos de morfometría tradicional lograron detectar cambios de forma y conformación en los machos de *T. dimidiata*, colectados en Agua Zarca, Ixwatán, en dos épocas diferentes del año. Sin embargo, no lograron diferenciar los grupos en los otros análisis efectuados. Por otro lado, tampoco se obtuvo diferenciación para los grupos de hembras colectados en Agua Zarca, aunque sí para los machos, pero utilizando las mediciones de morfometría sobre cabeza.

En el caso de *T. dimidiata* colectados en una residencia de El Cuje, Pueblo Nuevo Viñas, todos los insectos fueron colectados en el mismo año 1999, (excepto por algunos colectados en enero del 2000), en un mismo domicilio. Ya que no es posible separar ni a los machos ni a las hembras de verano e invierno, se puede concluir que ambos grupos están formados por individuos estrechamente relacionados.

Un estudio previo utilizando la técnica RAPDs-PCR sobre los insectos de esta misma residencia en El Cuje (Chávez 2000), mostró que existe una tendencia a la endogamia en el comportamiento reproductivo de las chinches domiciliarias, y que podría existir poca movilidad de los individuos intradomiciliarmente. Según Chávez (2000) esta poca movilidad podría estar determinada por la abundancia o la distribución del alimento ó por barreras que impidieran desplazamientos; se concluyó que puede existir un flujo genético restringido entre individuos de una misma vivienda, que se traduce en pocos movimientos poblacionales.

Tabaru (1995) demostró en condiciones de laboratorio que los machos de *T. dimidiata* presentan mayor capacidad de vuelo que las hembras. Los resultados en Agua Zarca muestran que los machos son los agentes más importantes en vuelos dispersivos y como agentes de flujos genéticos que permitan variabilidad en la población. Resultados anteriores (Monroy et al 1999) mostraron que las hembras de *T. dimidiata* pueden copular con varios machos y que este es un procedimiento efectivo para contrarrestar la endogamia, de nuevo vemos a los machos como agentes de flujos genéticos que fomentan la variabilidad.

Los machos de invierno en esta residencia de Agua Zarca, podrían provenir de una población que se desarrolla en un ambiente con diferentes características ecológicas, climáticas y/o altitudinales que los machos de verano.

¿Cómo podría explicarse que ocurra estos movimientos poblacionales de insectos hacia una residencia en un sitio del país pero no en el otro?

Las dinámicas poblacionales en los triatominos han sido explicados por Schofield (1985), quien propone que a medida que aumenta el número de individuos, la irritación de los hospederos aumenta, lo cual provoca una reducción en la ingesta de los insectos. Esta reducción en el estatus nutricional tiene tres consecuencias principales: (1) se incrementa el tiempo de desarrollo entre estadios inmaduros, (2) se reduce la fecundidad y longevidad de las hembras, y (3) aumenta la tendencia por el vuelo dispersivo. A la vez, estos factores conducen a una reducción de la población, que después tiene a incrementarse y reiniciar el ciclo.

También se ha encontrado que en *Triatoma infestans*, la densidad de las poblaciones es mayor durante la temporada calurosa del año (Giojalas et al 1990). La densidad de insectos dentro del domicilio variará dependiendo de factores como (1) interacción entre uso de insecticidas y tipo de techo, (2) la estructura de las paredes, (3) el número de perros compartiendo el área de las personas, y (4) el número de personas y animales dentro de la casa (Gürtler et al 1992).

Esta claro entonces que *son muchos los factores implicados en la dinámica poblacional de los insectos triatominos y que es posible que cada sitio muestre dinámicas particulares* dependiendo de sus condiciones.

La migración o movimientos de los individuos de Triatominae se han estudiado previamente, por lo que sí es posible que fenómenos distintos estén ocurriendo en Agua Zarca y en El Cuje. Por otro lado también debemos pensar en diferencias genéticas en poblaciones geográficamente aisladas, *T. dimidiata* ha demostrado mucha variabilidad morfológica, en tamaño y en coloración en todo el país. Pueblo Nuevo Viñas e Ixwatan son dos municipios que a pesar de pertenecer al mismo Departamento (Santa Rosa) tiene características de bosque y climáticas diferentes.

Lehane et al (1992) estimaron para *T. infestans* que del 5 al 10% de la población de una casa infestada volará en una noche dada durante los meses más cálidos, cuando las temperaturas alcancen los 30°C. Si el estado nutricional de los insectos cae significativamente, se espera que esta proporción aumente al 30%.

Otras observaciones hechas respecto al vuelo dispersivo de los triatominos apuntan que:

- la estimulación del vuelo se da por el decrecimiento de la intensidad de la luz en atardeceres cálidos (Wisnivesky-Colli et al 1993),
- los vuelos dispersivos *se incrementan con la temperatura* y no ocurren a temperaturas menores a los 20°C (Ekkens 1981, citado por Wisnivesky-Colli et al 1993; Lehane et al 1992)

- los vientos fuertes pueden disminuir la actividad del vuelo (Ekkens 1981, citado por Wisnivesky-Colli *et al* 1993; Schofield *et al* 1992)
- los vuelos dispersivos son iniciados por adultos *hambrientos* y posiblemente causados por la ausencia y/o inaccesibilidad a fuentes de sangre (Wisnivesky-Colli *et al* 1993; Lehane *et al* 1992)

Wisnivesky-Colli *et al* (1993) comprobaron la invasión de casas por adultos de *Triatoma guasayana* y *Triatoma sordida* en Argentina en cada época de verano, durante siete años.

En estudios realizados sobre las distancias que pueden volar los insectos triatomínicos (Schofield *et al* 1991; Schofield *et al* 1992), se ha determinado que recorren distancias desde menos de 100 metros hasta más de 550 metros. La distancia alcanzada parece estar correlacionada con la temperatura y la velocidad del viento.

El intercambio de individuos entre el peridomicilio y los domicilios está demostrado ya que se han encontrado triatomínicos domésticos que se han alimentado de animales silvestres, y también triatomínicos en el peridomicilio que se han alimentado de humanos (Christensen *et al* 1988; Zeledón *et al* 1973).

La prevalencia de especies de mamíferos silvestres infectados con *Trypanosoma cruzi* o la presencia de triatomínicos en los biotopos de los mamíferos ha sido demostrada (Wisnivesky-Colli *et al* 1997; Lent & Wigodzinsky 1979; Zeledón *et al* 1973). Para Guatemala, Negreros (2000) reporta que en Olopa (Chiquimula), cuatro de doce tucuzines (*Didelphis marsupialis*) capturados, se encontraban infectados con *T. cruzi*. En esta región de Guatemala no ha sido reportado que *T. dimidiata* se encuentre en forma silvestre, por lo que encontrar mamíferos silvestres infectados es un elemento a favor de la suposición que hay un intercambio constante de chinches desde más allá del área considerada como el peridomicilio y el domicilio humano.

Los resultados obtenidos con morfometría para los machos de Agua Zarca podrían estar indicando que el intercambio de individuos de *Triatoma dimidiata* incluye un área mayor que la de la aldea y que a ella están ingresando individuos morfológicamente diferentes a los existentes en la época de invierno ó lluviosa.

Las hembras de Agua Zarca presentan una diferenciación pobre, lo cual puede indicar un menor movimiento por parte de este sexo. No puede descartarse que las hembras migren, ya que Lehane *et al* (1992) demostraron en otra especie de Triatomino que la iniciación del vuelo dispersivo es independiente del sexo, por lo que la probabilidad de ambos sexos de movilizarse es similar.

Las diferencias entre poblaciones de invierno y verano pueden deberse a que durante la época cálida hay un aumento en el número de individuos (Giojalas *et al* 1990), por lo que el hospedero se irrita más rápidamente disminuyendo la cantidad de alimento ingerido (Schofield 1985), lo que puede provocar el inicio de la dispersión, si a esto le sumamos los cambios de humedad y temperatura estos pueden ser los disparadores de los movimientos poblaciones, produciéndose un movimiento de los insectos hacia dentro de la residencia y la llegada de nuevos desde el peridomicilio.

Debido a que existen tantas pruebas en la literatura consultada de los movimientos de los insectos durante las épocas cálidas, y a que se ha determinado que es posible que los individuos que se encuentran en un domicilio en invierno sean diferentes a los que están en verano, es recomendable efectuar los programas de fumigación en los meses de finales de verano y principios de invierno (Gorla & Schofield 1989), ya que así la fumigación afectaría a los inmigrantes y a los insectos ya establecidos, y la llegada de la época lluviosa disminuiría las probabilidades de recuperación de las poblaciones.

Tabaru *et al* 1995 estimó en condiciones de laboratorio la capacidad de vuelo mucho mayor en los machos que en las hembras de *T. dimidiata*. Este trabajo lo realizó usando chinches de campo del área de Ixwatán, Santa Rosa lugar en donde se ubica Agua Zarca.

Los análisis morfométricos permiten visualizar que las mediciones de la cabeza permitieron la diferenciación de los grupos en el caso de los machos de Agua Zarca, pero fue el análisis combinado de morfometría de alas y cabezas para los machos, el que proveyó una discriminación casi perfecta. La distancia postocular en la

cabeza es la única medición significativamente diferente entre grupos. La importancia de esta medición ya había sido reportada para *Triatoma infestans* por Dujardin *et al* (1997), quienes encontraron que esta distancia fue significativamente diferente entre poblaciones silvestres y domésticas de la chinche.

En el caso de Pueblo Nuevo Viñas no se obtuvo diferenciación de grupos pero no hay que descartar que puedan existir diferencias que podrían descubrirse al utilizar la cabeza como el objeto de las mediciones morfométricas.

La cabeza de los insectos no es una estructura anatómica ideal para la morfometría, ya que es tridimensional lo que introduce un mayor error de medición. Por otro lado, las alas son estructuras planas, ideales para la medición.

El hecho de que las alas no produzcan una buena diferenciación entre grupos mientras que al incluir las cabezas se obtenga una mejor separación, puede deberse a que estas estructuras no están sujetas a la misma presión de selección. La cabeza podría ser un elemento importante en la selección sexual (comunicación personal Dujardin & Gumiel 2000), además de ser indispensable para la alimentación, la percepción de la luz, etc. Las alas tienen al parecer, como única función, el vuelo. Entonces vemos que la cabeza estaría más involucrada en los procesos vitales del insecto.

Finalmente, se puede decir que las técnicas de morfometría tradicional parecen ser muy eficientes en la diferenciación de poblaciones de *Triatoma dimidiata*.

B. DISCUSIÓN DE RESULTADOS DE RAPDS-PCR

El método de RAPDS-PCR es altamente laborioso, sin embargo, los resultados son de mucha utilidad para los estudios genéticos de poblaciones. Uno de los problemas encontrados es la sensibilidad del método, ya que fácilmente se puede adquirir contaminación, dando lugar a bandas inespecíficas; por lo que se requiere un alto control de calidad para que los resultados tengan validez y puedan ser reproducibles.

Los primers L1 y L4 dieron un buen número de bandas en un gran número de especímenes. No así lo que ocurrió con el primer H3, el cual aparentemente tiene otros requerimientos de amplificación, por lo que recomendamos que en futuros trabajos la temperatura de cada uno de los primers sea específica.

El estudio genético se realizó con las chinches colectadas en la casa de Doña Eulogia López de la aldea el Cuje del Municipio de Pueblo Nuevo Viñas, Santa Rosa. Como vimos anteriormente los datos morfométricos no muestran diferenciación entre poblaciones de verano e invierno lo que indicaría que esta población tiene cierto grado de endogamia, los resultados de RAPDS-PCR muestran que en efecto esta población tiene cierto grado de endogamia. El número de familias y el número de individuos en cada familia indica una endogamia moderada.

En nuestro estudio analizamos 14 loci y se determinaron 17 familias de las cuales 8 están constituidas por pocos individuos, 6 por familias con un mayor número de individuos y tres familias con número moderado de individuos. Determinar las frecuencias génicas de casas aledañas a la casa de estudio es fundamental para que los resultados del cálculo de familias de “hermanos completos” no estén ni sobreestimado ni subestimado.

Seis familias que están representadas por más de 3 individuos lo que muestra cierta tendencia endogámica, subrayada por el número de individuos que son “ Hermanos de padre y madres “, lo que indica poca diferenciación genética de los individuos de estas familias. Esto para efectos de control es favorable, ya que estas familias serán las más susceptibles al control. Esta poca movilidad de las familias debe ser objeto de estudio, ya que encontrar las barreras que impiden el desplazamiento permitiría facilitar el control.

Ocho familias están formadas por un solo individuo. Esto significa que estos individuos presentan un patrón genético distinto al resto de las familias, lo que señala que hay diversificación genética de esa especie en una sola vivienda. Este hecho debe ser explicado a través es un proceso por el cual *T. dimidiata* está garantizando la diversificación de su especie. Una de las posibilidades para explicar este fenómeno está relacionado con los

resultados mostrados en morfometría en la región de Ixwatan, Agua Zarca, que muestran que los individuos se mueven de la época de verano a la época de invierno, y con esto hay un intercambio genético en el inicio del invierno. Sin embargo, como vimos en esta vivienda no se logró la diferenciación morfométrica, es prioritario hacer mediciones de la cabeza para detectar si realmente existe o no esta diferenciación.

La fecundación poliándrica es un fenómeno por el cual las especies se garantizan la mayor diversidad genética posible. Este fenómeno se ha encontrado en *Triatoma brasiliensis* del Brasil en donde los machos de la especie tienden a moverse en las épocas de lluvias con el objeto de copular con varias hembras, vale la pena señalar que esta es una de las especies más difíciles para el control de la Enfermedad de Chagas. Recientemente el mismo fenómeno ha sido descrito para *T. dimidiata* (Monroy et al. 1999).

En trabajos anteriores por demolición de viviendas se mostró que el promedio de individuos de *Triatoma dimidiata* en la vivienda es de 400, (Monroy 1999) de los cuales 42 corresponderán a hembras oviponiendo. Si la población estuviera muy diversificada encontraríamos 30 familias diferentes, si la población fuera altamente endogámica encontraríamos menos de 10 familias. Nuestro resultado de 17 familias indicaría que hay un grado de parentesco entre las familias y que a la vez existe la presencia de un intercambio genético intradomiciliariamente. Los 41 individuos que se analizaron en este trabajo corresponderían al 10% de una población intradomiciliar normal, lo que nos indicaría un número adecuado de la muestra en este estudio.

En trabajos anteriores se mostró que las hembras copulan con varios machos. En este trabajo solo se pudieron estimar familias de “hermanos completos”, sin embargo, si se tomaran en cuenta los medio hermanos, la diversificación aumentaría.

El cálculo de 17 familias estimadas en una sola vivienda indica la existencia de algún proceso por el cual *Triatoma dimidiata* contrarresta la endogamia. Estos procesos pueden ser la selección de machos para la copulación, la copulación con varios machos, ó el ingreso de individuos con patrones genéticos distintos a los que poseen los individuos en la vivienda estudiada. Estos resultados son de suma utilidad para efectos de control, ya que una población con alta endogamia será fácilmente controlable, por los métodos tradicionales. No así una población que muestre alta diversificación. En el caso de *T. dimidiata* procedente de Pueblo Nuevo Viñas, la endogamia es moderada, lo que indica una especie en proceso de diversificación, y su control será un proceso más complejo que en el caso de *Rhodnius prolixus*, el cual es altamente endogámico.

9. CONCLUSIONES

A. MORFOMETRIA

La técnica de morfometría tradicional permitió diferenciación de los individuos machos de *T. dimidiata* colectados en verano e invierno de 1998, en una residencia de Agua Zarca, Ixwatan, Santa Rosa.

La técnica de morfometría tradicional no logró separar en grupos de invierno y verano, a las hembras de Agua Zarca, ni a las hembras y machos de El Cuje.

Sobre la base de los resultados obtenidos de la morfometría, podemos inferir que la dinámica poblacional de *T. dimidiata* es diferente en Agua Zarca que en El Cuje. En Agua Zarca probablemente ocurren movimientos poblacionales que provocan diferenciación entre las poblaciones de invierno y verano, mientras que en el caso de la residencia estudiada para El Cuje, la población parece permanecer y reproducirse allí (endogamia) sin un mayor intercambio durante la época cálida.

La cabeza parece ser una mejor estructura para diferenciación métrica intra específica que las alas de los insectos.

Los resultados de este estudio validan que las técnicas de morfometría tradicional son eficientes para la diferenciación de poblaciones de *Triatoma dimidiata*.

Este trabajo permitió esclarecer la época del año en la que con más probabilidad esta especie de chinche tiende a moverse. Esta información servirá para efectos de control de vectores.

Los resultados mostraron que hay diferencias de movilidad entre las poblaciones en diferentes regiones geográficas y esto posiblemente esté relacionado con factores ambientales, climáticos, de vegetación o de condición nutricional.

B. RAPDS-PCR

Los primers L1 y L4 de Operon amplifican con éxito las regiones del ADN de *T. dimidiata*. Se recomienda la temperatura de unión “annealing temperature” de 40 °C para estos primers.

El primer H3 requiere otras condiciones para facilitar la unión del primer al ADN, y obtener así mejores amplificaciones. Se recomienda cambiar la temperatura de unión.

Se determinaron 14 loci entre 0.1 y 0.6.

Se determinaron 17 familias de “hermanos completos” de *Triatoma dimidiata* en una sola vivienda, lo que indica una endogamia moderada con tendencia a la diversificación.

El tamaño promedio de las familias fue 2.41 con una desviación estándar de 1.80, lo que indica una estructura de la población con tendencias a la diversificación genética.

Se encontró una parte de esa población que sí tiene tendencia a la endogamia reflejada en el mayor número de hermanos completos encontrados en una sola vivienda. Esta será la parte de la población que se controlará fácilmente con los procedimientos tradicionales.

Existe una endogamia moderada entre los insectos de una sola vivienda humana, contrarrestada por un flujo de individuos cuyas características genéticas los hacen muy diferentes de los demás, que enriquece el intercambio genético intradomiciliar.

El alto número de familias con pocos miembros nos señala la posibilidad de flujos genéticos del exterior.

Estos resultados permiten presuponer que los métodos convencionales de control podrán tener un efecto positivo en el control de las poblaciones endogámicas pero no podrán contrarrestar eficazmente las poblaciones con mayor diversidad genética.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Audesirk T., Audesirk G., 1996 *Biología, La Vida en la Tierra*. 4ta edición Prentice Hall, México.
2. Becker M. 1981. The wing venation in *Macrosleste sxnotatur* (Fallen, 1806) (Homoptera: Cicadillidae) and the occurrence of a short winged form. Anais da Sociedade Entomologica do Brasil 10 (2)
3. Chávez, JJ. 2000. Estimación del número de familias de chinches de *Triatoma dimidiata* en una vivienda demolida de Pueblo Nuevo Viñas, Santa Rosa, Guatemala utilizando la técnica RAPDS-PCR. En Informe Final de Ejercicio Profesional Supervisado. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
4. Christensen, H. Sousa, O. de Vasquez, AM. 1988. Host Feeding profiles of *Triatoma dimidiata* in Peridomestic Habitats of Western Panama. Am. J. Trop. Med. Hyg. 38(3), pp 477-479 (87-273).
5. Dujardin, JP. 2000. Introducción a la Morfometría (con énfasis en Phlebotominae y Triatominae). Manuscrito Inédito.

6. Dujardin, J P, Cardozo L and Schofiel C. 1996. Genetic analysis of *Triatoma infestans* following insecticidal control interventions in central Bolivia. *Acta Trópica* 61:263-266
7. Dujardin, JP. Le Pont, F. 2000. Morphometrics of a neotropical sandfly subspecies, *Lutzomyia carrerai thula*. *C.R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie. Life Sciences* 323, 273-279.
8. Dujardin, JP. Forgues, G. Torrez, M. Martinez, E. Cordoba, C. Gianella, A. 1998. Morphometrics of domestic *Panstrongylus rufotuberculatus* in Bolivia. *Ann. Trop. Med. Par. Vol.* 92, No. 2, 219-228.
9. Dujardin, JP. Bermudez, H. Casini, C. Schofield, C. Tibayrenc, M. 1997. Metric Differences Between Silvatic and Domestic *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae) in Bolivia. *J. Med. Entomol.* 34(5): 544-551.
10. Elseth G., Baumgardner K., 1995 ***Principles of Modern Genetics***, West Publishing Company, USA.
11. Howell V. Daly. 1985. Insect morphometrics. *Ann. Rev. Entomol* 30:415-438
12. Giojalas, LC. Catala, SS. Asin, SN. Gorla, DE. 1990. Seasonal changes in infectivity of domestic populations of *Triatoma infestans*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 84, 439-442.
13. Gorla, DE. Schofield, CJ. 1989. Population dynamics of *Triatoma infestans* under natural climatic conditions in the Argentine Chaco. *Med. Vet. Ent.* 3, 179-194.
14. Gürtler, R. Cecere, M. Rubel, D. Schweigmann, N. 1992. Determinants of the domiciliary density of *Triatoma infestans*, vector of Chagas disease. *Med. Vet. Ent.* 6, 75-83.
15. Jaramillo, N. 2000. Partición en tamaño y forma de los caracteres metricos y su interpes en los estudio poblacionales aplicados a los Triatominae. Tesis de Doctorado. Universidad de Antioquía. Programa de Posgrado en Ciencias Básicas Biomédicas. Colombia.
16. Lent, H. Wygodzinsky, P. 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* Vol. 163:123-520. New York.
17. Lehance, MJ. McEwen, PK. Whitaker, CJ. Schofield, CJ. 1992. The role of temperature and nutritional status in flight initiation by *Triatoma infestans*. *Acta Tropica*, 52, 27-38.
18. Monroy C, Mejía M, Rodas A, Hashimoto T and Tabaru Y. 1998. Assesing methods for the density of *Triatoma dimidiata* the principal vector of Chagas disease in Guatemala . *Med. Entomol . Zool* 49(4): 301-307
19. Monroy C, Mejía M, Rodas A, Rosales R, Horio M and Tabaru Y. 1998. Comparion of indoor searches with whole house demolition collections of the vectors of Chagas disease in their indoor distribution. *Med. Entomol. Zool* 49(3) : 195-200
20. Negreros, MP. 2000. Identificación de mamíferos como reservorios silvestres de la enfermedad de Chagas (*Trypanosoma cruzi*) en Olopa, Chiquimula, Guatemala. *En Libro de Resúmenes. IV Congreso de la Sociedad Mesoamericana para la Biología y la Conservación.* Jaramillo, C. Ibáñez, R. Solís, F. Luna, I. Editores.
21. Schofield, CJ. 1985. Population dynamics and control of *Triatoma infestans*. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.* 65, Suppl. 1, 149-164.

22. Schofield, C.J. Lehane, M.J. McEwan, P. Catala, S.S. Gorla, D.E. 1992. Dispersive flight by *Triatoma infestans* under natural climatic conditions in Argentina. *Med. Vet. Ent.* 6, 51-56.
23. Schofield, C.J. Lehane, M.J. McEwan, P. Catala, S.S. Gorla, D.E. 1991. Dispersive flight by *Triatoma sordida*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 85, 676-678.
24. Shleif, R., 1993 *Genetics and Molecular Biology* 2nd edition The Johns Hopkins University Press, USA.
25. Shofield, C.J., 1994 *Triatominae, Biología y Control*, Zeneca Public Health Eurocomunica Publications.
26. Siegel, S. Castellan, J. 1988. *Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences*. 2 ed. McGraw Hill Book Company. USA.
27. Solís, S. 2000. Genetic variability and morphometrics of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) geographical populations. London School of Hygiene & Tropical Medicine. Londres. Manuscrito no publicado.
28. Tabaru Y, Monroy C, Rodas A, Mejia M and Rosales R. 1998. Chemical control of *Triatoma dimidiata* and *Rhodnius prolixus* (Reduviidae : Triatominae), the principal vectors of Chagas disease in Guatemala. *Med. Entomo Zool.* 49 (2) : 87-92
29. Wisnivesky-Colli, C. Schweigmann, N. Pietrokovsky, S. Bottazzi, V. Rabinovich, J. 1997. Spatial distribution of *Triatoma guasayana* (Hemiptera: Reduviidae) in hardwood forest biotopes in Santiago del Estero, Argentina. *J. Med. Entomol.* 34(2): 102-109.
30. Wisnivesky-Colli, C. Gürtler, R. Solarz, N. Schweigmann, N. Pietrokovsky, S. Alberti, A. Flo, J. 1993. Dispersive flight and house invasion by *Triatoma guasayana* y *Triatoma sordida* in Argentina. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol. 88(1);27-32, jan/mar.
31. Zeledón, R. Solano, G. Zuñiga, A. Swartzwelder, J.C. 1973. Biology and Ethology of *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811). (III. Habitat and Blood Sources). *J. Med. Ent.* Vol. 10, no. 4: 363-370.