



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS ANIMALES**

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA MEDIANTE MORFOMETRÍA
GEOMÉTRICA DE CABEZAS DE IMAGOS Y ESTADIOS NINFALES IV Y V
DE *TRITOMA INFESTANS* EN CONDICIONES DE LABORATORIO**

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO

MARIELA PATRICIA PUEBLA ROJAS

**PROFESOR GUÍA: ALEJANDRO GARCÍA CARREÑO
TECNÓLOGO MÉDICO, MS. SC.**

**SANTIAGO, CHILE
2009**



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS ANIMALES**

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA MEDIANTE MORFOMETRÍA
GEOMÉTRICA DE CABEZAS DE IMAGOS Y ESTADIOS NINFALES IV Y V
DE *TRITOMA INFESTANS* EN CONDICIONES DE LABORATORIO**

	Nota	Firma
Dr. Alejandro García Carreño	-----	-----
Dr. Pedro Cattán Ayala	-----	-----
Dr. Víctor Toledo González	-----	-----

**MARIELA PATRICIA PUEBLA ROJAS
PROFESOR GUÍA ALEJANDRO GARCÍA CARREÑO
TECNÓLOGO MÉDICO, MS. SC.**

**SANTIAGO, CHILE
2009**

FINANCIAMIENTO

Esta Memoria de Título fue financiada por el Proyecto N° 1070960 del Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT).

A mi madre, la luz de mi vida

Agradecimientos

- A mi profesor guía Alejandro García mis más sinceros agradecimientos por brindarme sus conocimientos, tiempo y amabilidad durante el desarrollo de mi memoria de título, por superar paso a paso las dificultades presentadas en el camino con dedicación, alegría y compañerismo.
- A mi profesor Dr. Pedro Cattán, por su apoyo y cariño, brindándome sus conocimientos enriqueciendo este estudio.
- A mi amiga y compañera de universidad Antonella Bacigalupo por su invaluable ayuda en todo este proceso, corrigiendo y mejorando el contenido de mi memoria de título.
- A la Dra. Carezza Botto, académico de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile por su excelente disposición para responder a las inquietudes presentadas y por facilitarme amablemente material bibliográfico.
- A Don José Meneses, Auxiliar técnico del laboratorio de la Unidad docente de Parasitología de la Universidad de Chile por su ayuda en la recolección de los ejemplares destinados a este estudio y por su buena disposición ante cualquier requerimiento.
- A mi familia por su amor y paciencia durante estos años. A mi madre por su constante apoyo, brindándome su optimismo y fortaleza ante la vida.
- A mis queridos amigos de universidad, los que un día emprendieron este largo camino conmigo dándome su apoyo y comprensión, gracias por su alegría, por regalarme tan gratos momentos, gracias por sus sueños que también son los míos y por sobre todo su inmenso cariño.

RESUMEN

Mediante el uso de morfometría geométrica, el presente estudio generó una base de datos de las características morfométricas de cabezas de *T. infestans* de laboratorio, lo que permitirá realizar comparaciones con vectores capturados en el medio ambiente, estableciendo las posibles variaciones presentes entre poblaciones silvestres y de laboratorio. Se estudió un total de 200 individuos obtenidos del Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina, Campus Occidente de la Universidad de Chile, los que fueron mantenidos bajo condiciones de laboratorio (25 °C, 45% humedad relativa y alimentados con sangre de ave). Estos correspondieron a imagos machos, imagos hembras y ninfas IV y V, utilizándose 50 individuos de cada estadio. Para los análisis se recurrió a los programas computacionales de la serie TPS (Thin-plate spline), TPSdig, TPSreg y TPSrelw; para los análisis multivariados se utilizó el programa estadístico JMP (S.A.S. Institute). No se observaron diferencias en conformación entre individuos y entre grupos mediante los análisis de componentes principales y análisis discriminante, pero si se evidenció diferencia significativa en cuanto al tamaño de los diferentes estadios ($p < 0.0001$). Este aumenta desde el estadio ninfal IV hacia el estadio adulto. Además, se evidenció dimorfismo sexual mediante los análisis de tamaño, siendo la hembra más grande que el macho. Las ninfas de IV estadio presentaron una baja predicción, mientras que las ninfas de V mostraron mayor valor predictivo en relación a las de IV estadio. La ausencia de similitudes en conformación posiblemente se debe a que los grupos pertenecen a una misma población con características genéticas propias y sometidas a un medio ambiente homogéneo. El aumento de tamaño desde los estadios ninfales al adulto está dado por el desarrollo hemimetabólico. Debido al bajo nivel de predicción de las ninfas de IV estadio, se recomienda utilizar las ninfas de V estadio, ya que presentaron un mayor valor predictivo, mostrando cambios más marcados que permiten diferenciarlos de los adultos. Se corroboró la utilidad del ocelo como punto utilizado en estudios de morfometría geométrica y tradicional. Se determinó la utilidad del punto de unión entre cuello y cabeza como punto homólogo, permitiendo comparar los estadios ninfales con los adultos.

SUMMARY

The present study generated a database of morphometric characteristics of heads of *T. infestans* in laboratory conditions by geometric morphometry, allowing comparisons with future vectors captured in the environment, establishing the possible variations present among wild and laboratory. We studied a total of 200 individuals from the Laboratory of Parasitology, Faculty of Medicine, West Campus of the University of Chile, they were kept under laboratory conditions (25 ° C, 45% HR and fed with chicken blood). These were male adults, females adults and nymphs IV and V instar, using 50 individuals of each stage. For the analysis were used programs of the TPS series (Thin-plate spline) TPSdig, TPSreg and TPSrelw, for multivariate analysis was used JMP statistical program (S.A.S Institute). No difference was observed in shape between individuals and between groups using principal component analysis and discriminant analysis, but they showed significant difference in the size of the different stages ($p < 0.0001$). This increases the nymphs of instar IV to the adult. Moreover, sexual dimorphism was evident through the analysis of size; the female is larger than the male. It was established that the nymphs of instar IV showed a lower prediction, while the nymphs of instar V had a higher predictive value. The absence of similarities in shape possibly be to groups belong to a population with own genetic characteristics and subjected to a homogeneous environment. The increase in size from the nymphal stage to the adult is given by hemimetabolic development. Due to the low prediction of the nymphs of stage IV is recommended to use nymphs of instar V, because it had a higher predictive value, showing marked changes which differentiate them from adults. It confirmed the usefulness of ocellus as used in studies of traditional and geometric morphometry. It was determined the utility of the joint of neck and head as a landmark, allowing comparison nymphal stage to adults.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
1. Enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana	1
1.1 Mecanismos de transmisión	2
1.2 Ciclo biológico de la Enfermedad de Chagas	4
2. Triatominos	5
2.1 Características biológicas generales	5
2.2 Características biológicas de <i>T. infestans</i>	6
2.3 Triatominos en América	8
2.4 Triatominos en Chile	12
3. Morfometría Geométrica	13
3.1 Contribución ambiental y genética a la variación métrica	15
3.2 Puntos de referencia	18
3.3 Métodos de análisis	19
3.3.1 Obtención de coordenadas y variables de conformación	19
3.3.2 Análisis multivariados	20
II. OBJETIVOS	24
1. Objetivo general	24
2. Objetivos específicos	24
III. MATERIAL Y MÉTODOS	24
1. Materiales	24
2. Método	26
IV. RESULTADOS	27

V. DISCUSIÓN	31
VI. CONCLUSIONES	43
VII. BIBLIOGRAFÍA	44
VIII. FIGURAS Y TABLAS	48

I. INTRODUCCIÓN

1.- Enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana

La tripanosomiasis americana, conocida como Enfermedad de Chagas fue descrita en Minas Gerais, Brasil, en 1909, por Carlos Ribeiro Justiniano Chagas. Esta zoonosis parasitaria existe en el continente americano desde hace más de 9.000 años, documentándose la infección chagásica en comunidades prehistóricas que habitaban el norte de Chile (Apt *et al.*, 2008). Es producida por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*, el cual se transmite principalmente a través del mecanismo vectorial (Henríquez *et al.*, 2007), lo cual depende de la estrecha asociación de triatominos con el domicilio (Brisola, 2001).

Constituye un serio problema de salud pública en los 21 países de Latinoamérica que son endémicos para esta enfermedad. En el 2002 se estimó que 92.895 millones de personas estaban en riesgo de contraer la infección por *T. cruzi*, mientras que recientes estimaciones de prevalencia varían entre 12 a 17 millones de seres humanos infectados (Feliciangeli *et al.*, 2007).

Actualmente esta enfermedad ocupa el cuarto lugar de importancia en América, después de las enfermedades respiratorias, las diarreas y el SIDA. Dado que no existe una vacuna eficaz para prevenir la enfermedad, las estrategias de control están focalizadas a disminuir la transmisión, principalmente vectorial, por tratarse de la forma de transmisión más importante. La inversión en prevención reduciría los costos socioeconómicos provenientes de la atención de salud y disminuirían las pérdidas en la productividad laboral (Apt *et al.*, 2008).

En Chile, la existencia de un promedio general de infección humana del 12% según xenodiagnóstico y del 19% según serología, con aproximadamente 63.000 viviendas rurales o peri-urbanas sujetas a manejo sanitario contra *Triatoma infestans*, fundamentó la inclusión de nuestro país en el Programa Intergubernamental del Cono Sur para la Eliminación de la Transmisión Vectorial y Transfusional de la Enfermedad de Chagas. Tras la aplicación de esta iniciativa, se certificó a Chile como el segundo país

que ha interrumpido la transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas (Zulantay *et al.*, 2004).

En nuestro país, el área endémica se extiende desde la I a la VI región, existiendo alrededor de 150.000 personas infectadas (Carvajal *et al.*, 2007). En Chile existe vigilancia pasiva de la enfermedad de Chagas y se asume que hay una sub-notificación que iría en ascenso. Los indicadores oficiales de morbilidad han sido estables en los últimos años, y representan la infección adquirida décadas atrás. Desde 1989 no se registran muertes en menores de 15 años debidas a esta enfermedad. En relación a las tasas de letalidad, éstas han sufrido un incremento significativo, alcanzando su mayor ascenso en el año 2003, con 290 decesos por esta causa (Apt *et al.*, 2008).

1.1.- Mecanismos de transmisión

Dentro de los mecanismos de transmisión para la Enfermedad de Chagas se encuentran la vía vectorial, transplacentaria, transfusional, transplante de órganos, accidentes de laboratorio, transmisión oral (por alimentos contaminados con el parásito) y a través de jeringas de uso en drogadictos (Apt *et al.*, 2008).

La transmisión del parásito al hombre se realiza principalmente por medio de los vectores biológicos (Carvajal *et al.*, 2007). Se produce a través de las heces de los triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) que contengan tripomastigotes metacíclicos. Estas formas infectantes al depositarse con las deyecciones del insecto en la piel erosionada o en las mucosas pueden penetrar e iniciar la infección (Naquira *et al.*, 2001). Estos insectos son sustentados en la naturaleza por una gran cantidad de mamíferos reservorios, generando un complejo ciclo silvestre, peri-doméstico y doméstico. En ciertas áreas, la mantención del ciclo doméstico por triatomíneos silvestres hace el control de la transmisión vectorial una difícil tarea (Felicangeli *et al.*, 2007).

Los estadios evolutivos de los triatomíneos son todos susceptibles de ser infectados por el parásito, sin embargo, los adultos y los estadios ninfales IV y V tienen mayor probabilidad de estar infectados dado su mayor tiempo de vida, así como también por el mayor volumen de sangre que ingieren (Cristi, 2001).

La cantidad de tripomastigotes metacíclicos en las deyecciones es fluctuante, a tal punto que, en algunos casos, triatomínos positivos no eliminan el protozoo. Cuando las condiciones ambientales mejoran para el triatomíno, éste alcanza una mayor actividad biológica, aumentando las probabilidades de infección. Estudios realizados en Argentina y Brasil, determinaron que existiría un mayor número de casos en meses estivales, es decir, desde septiembre a marzo. Esta tendencia al aumento podría a su vez estar influenciada por un aumento en el número de los triatomínos (Cristi, 2001).

Otra mecanismo importante es la vía transfusional, siendo actualmente la segunda vía de transmisión de *T. cruzi* después de la transmisión vectorial en diversas regiones de América. La sangre de los donantes es sometida a tamizaje en serie para *T. cruzi*, el cual es obligatorio, en nuestro país, en Bancos de Sangre de la I a la VI Región, y se realiza mediante técnicas de ELISA, siendo confirmados los casos positivos a través de inmunofluorescencia indirecta. El análisis de la sangre que será destinada a transfusiones es la mayor fuente de identificación de infectados, por lo cual se sugiere, dada la migración de la población chagásica chilena y extranjera a lo largo del país, aplicar en forma voluntaria, en los servicios de salud, análisis de tamizaje de *T. cruzi* a la población de donantes de las regiones no endémicas (Apt *et al.*, 2008).

En tercer lugar de importancia se encuentra la vía de transmisión transplacentaria la cual es producto de la transmisión del parásito durante el embarazo ya sea en etapa aguda o crónica de la enfermedad, alcanzando la circulación fetal vía hematológica. En general un 70% - 80% de los recién nacidos infectados no presentan síntomas, lo cual no implica ausencia de infección y desarrollo de la enfermedad a futuro; por el contrario, puede presentar, al igual que en la forma adquirida vectorialmente, meses o años después, manifestaciones de la etapa crónica de la enfermedad. En Chile, la frecuencia de transmisión de *T. cruzi* de madre a hijo se estima que es inferior al 10%, pero aún faltan estudios para corroborar estas cifras (Apt *et al.*, 2008).

1.2.- Ciclo Biológico de la Enfermedad de Chagas

El insecto vector al alimentarse ingiere los tripomastigotes en circulación en la sangre de los mamíferos, los cuales se transforman en el estómago del insecto en epimastigotes; luego pasan al intestino, donde se reproducen por división binaria y, en la

porción final del mismo, se transforman en tripomastigotes metacíclicos (los que se encuentran en las heces del insecto), siendo éstas las formas infectantes para el hombre y los reservorios. El insecto al momento de alimentarse defeca, pues debe eliminar el contenido intestinal para poder acumular la mayor cantidad de sangre posible. El hombre o animal picado, se rasca el sitio de inoculación y provoca excoriaciones en la piel; estas lesiones permiten el ingreso del tripomastigote al tejido celular subcutáneo, donde se introduce en las células y transforma en amastigote en el interior de las mismas, para luego multiplicarse en ellas. Cuando estas células parasitadas contienen un número importante de amastigotes, éstos se transforman en tripomastigotes, los que pasan a la sangre, a través de la cual alcanzan los tejidos de diferentes órganos, siendo los más afectados corazón y plexos nerviosos intramurales del tubo digestivo; allí ocurre nuevamente la transformación del tripomastigote en amastigote en el interior de las células (**Fig. N° 1**). Este intercambio de formas de amastigote intracelular y de tripomastigote sanguíneo, caracteriza la evolución del parásito en el interior del organismo del hombre y reservorios (Naquira *et al.*, 2001).

2.- Triatominos

2.1.- Características biológicas generales

Los triatominos son los vectores biológicos de la enfermedad de Chagas y se distribuyen desde el sur de Estados Unidos hasta América del Sur (Brisola, 2001).

Se desarrollan por metamorfosis gradual o incompleta, pasando por cinco estadios ninfales. Su ciclo de desarrollo en general es lento, requiriendo varios meses para completarse, el cual depende de la especie, la temperatura y humedad ambiental, sumado a la provisión de alimento. Las condiciones naturales óptimas para el desarrollo se encuentran en zonas cálidas secas, con temperaturas que oscilan entre los 15 y los 33° C (Reyes, 1994).

Los triatominos son insectos ovíparos, depositando casi siempre sus huevos en la tierra o en lugares de refugio. Los huevos se caracterizan por ser blancos, operculados, elípticos de 1,5 - 2 mm. Después de cuatro semanas eclosiona una ninfa de primer estadio que después de endurecer su cutícula procura alimentarse (**Fig. N° 2**). Las ninfas

se van alimentando y sufriendo mudas y el ciclo completo puede durar de 2 meses, en *Rhodnius spp.*, a 24 meses en *P. geniculatus* (Brisola, 2001).

Los cinco estadios ninfales tienen características biológicas semejantes a los adultos (hemimetábolos), pero no tienen alas ni aparato reproductor desarrollado. Las ninfas de primer estadio son de color café con conexivo de un solo color; las de segundo estadio son semejantes y un poco más grandes, y ambas tienen el margen posterior del mesotórax recto o redondeado. El mesotórax y el metatórax de las de tercer estadio presentan pequeñas dilataciones postero-laterales que corresponden a primordios alares. En el cuarto estadio estas dilataciones son mayores y las extremidades mesotorácicas casi alcanzan las extremidades metatorácicas. Por último, en las ninfas de quinto estadio los primordios alares mesotorácicos pasan los metatorácicos (**Fig. N° 2**). Son hematófagos obligados y capaces de succionar una cantidad de sangre proporcionalmente muy grande respecto a su propio peso y usualmente una o dos succiones completas son suficientes para una muda. Luego vuelven a sus refugios para la digestión de la sangre, para mudar o poner huevos. Suelen tener una vida larga y en general pueden resistir algunos meses en ayuno, en especial las ninfas de quinto estadio (Brisola, 2001).

Los integrantes de la subfamilia Triatominae varían en tamaño corporal de 0,5 a 4,5 cm. siendo la mayoría de ellos de 2 - 3 cm. Los adultos poseen una cabeza alargada de rostro recto con una probóscide articulada que durante el reposo se encuentra doblada por debajo de la cabeza. Posee un par de ojos complejos y otro par de ojos simples llamados ocelos. El abdomen es relativamente ancho y aplanado dorsoventralmente, con o sin manchas en su margen lateral, bien característico llamado conexivo. Las características del abdomen permiten distinguir ambos sexos (**Fig. N° 3**), ya que al observar el borde posterior de éste, se presenta continuo en el macho e interrumpido en la hembra, dejando ver el ovipositor (Brisola, 2001).

El tórax es firme, duro y bien quitinizado; en él se distinguen un segmento anterior o pronoto, de forma trapezoidal, y uno posterior o escutelo, de aspecto triangular. Del tórax nacen dos pares de alas bien desarrolladas, de los cuales el primer par está constituido por hemiélitros que cierran extendidos uno sobre otro, cubriendo todo el abdomen y sirviendo de protección para el segundo par de alas membranosas. Hay

especies ápteras, como *Triatoma porteri* y otras especies como *Mepraia spinolai*, en que las hembras no poseen alas. Las patas pueden presentar manchas, cerdas y otras estructuras útiles para la identificación. Los adultos tienen tres tarsómeros en casi todas las especies y las ninfas siempre tienen dos (Reyes, 1994).

2.2.- Características biológicas de *T. infestans*

El género *Triatoma* es el más numeroso y abarca una treintena de especies. De éstas *T. infestans* es la más importante, debido a su cercanía al ámbito humano y por ser la más adaptada al domicilio de las especies de vinchucas. Sin embargo, esta especie también puede ser encontrada en ecotopos peridomiciliarios o más extrañamente en ecotopos silvestres. Se refugia en la profundidad de las grietas de las paredes en especial aquellas hechas de adobe, techos y lugares oscuros o en sitios similares asociados al domicilio como gallineros y corrales de animales. En el ámbito domiciliario, *T. infestans* se comporta como un insecto nocturno, que sólo abandona su refugio en la noche o cuando hay oscuridad suficiente para atacar a las personas y animales mientras duermen; durante el día se refugia en las grietas, muebles o prendas de ropa. En los focos extradomiciliarios, o colonias de más reciente localización en las viviendas, se muestra más agresivo, atacando en horas crepusculares o aún diurnas (Reyes, 1994).

Su ciclo de desarrollo demora de ocho a nueve meses cuando las condiciones son favorables. Los adultos viven alrededor de dieciocho meses y tienen considerable resistencia al ayuno, en promedio siete meses (Reyes, 1994).

Las hembras poseen un largo corporal de 26 a 29 mm y de 8.5 a 10 mm de ancho a nivel del abdomen. Los machos son más pequeños, midiendo de 21 a 26 mm. de largo con un ancho a nivel abdominal similar a las hembras (Rey, 2001). El pronoto es brillante, uniformemente negro y con pequeños tubérculos (Lent y Wygodzinsky, 1979). El pronoto de los machos mide de 5.5 a 6.5 mm y en las hembras mide de 6 a 6.5 mm. (Rey. 2001). La cobertura corporal es principalmente negra y levemente rugosa, en algunos casos es café oscuro, con manchas amarillas en extremidades y conexivo (Lent y Wygodzinsky, 1979).

La cabeza es negra y delicadamente rugosa. Su longitud es del doble de la distancia entre ambos ojos compuestos y la región ante-ocular es tres veces más larga que la post-ocular. Los tubérculos anteníferos están situados en la mitad de la región ante-ocular. El rostro es oscuro y en algunas regiones más claro en relación al resto de la cabeza.

El escutelo es enteramente negro, fuertemente rugoso con una depresión central distintiva. El proceso posterior del escutelo es elongado, cónico, amplio en la base y más fino en la punta. Los hemiélitros son de color café oscuro, con el corio (porción basal) casi negro. La porción membranosa de los hemiélitros es café, pero más clara que el corio. Las nervaduras de la porción membranosa son oscuras y marcadas. Las extremidades o patas son negras, con la base del fémur levemente amarilla y en algunos especímenes existe un anillo amarillo en la tibia. El abdomen es café oscuro a negro estriado transversalmente; en su porción ventral es convexo, muy delgado y ligeramente aplanado en forma longitudinal a lo largo de la porción media. El conexivo es negro y cada segmento tiene largos puntos amarillos (Lent y Wygodzinsky, 1979).

2.3.- Triatomino en América

En diferentes regiones de América Latina, los programas de control lograron disminuir la densidad de las poblaciones de los vectores primarios a valores inferiores al nivel crítico de transmisión vectorial, gracias a estrategias tales como la Iniciativa del Cono Sur. Sin embargo, los triatomino tienen un comportamiento oportunista y son capaces de dispersarse y colonizar hábitats más estables, tales como el nicho vacante que se origina cuando los vectores domésticos son eliminados. Asimismo, algunos vectores silvestres pueden invadir el domicilio y el peri-domicilio como resultado de una reducción de sus fuentes naturales de alimentación causada por la acción antrópica (Bar *et al.*, 2005).

Se distribuyen en un área que se extiende desde el paralelo 43° de latitud norte (sur de California), hasta el paralelo 49° latitud sur (región central de Argentina). En esta extensa región, prevalecen las condiciones ecológicas favorables para la transmisión y la mantención de esta enfermedad (Atías y Apt, 1994).

Los Triatominos pertenecen al orden Hemiptera, el cual se divide en dos subórdenes: Homoptera y Heteroptera. Dentro de éste último se encuentra la familia Reduviidae, la que incluye a la sub-familia Triatominae. Podemos diferenciar los tres géneros más importantes de esta sub-familia que son: *Panstrongylus*, *Rhodnius* y *Triatoma*, a través de la posición de los tubérculos anteníferos, que se encuentran en la base de las antenas, en la región anteocular (**Fig. N° 4**). En el caso de *Panstrongylus* éstos se ubican próximos a los ojos y poseen una cabeza corta; en *Triatoma* están ubicados en la porción media de la región anteocular y en *Rhodnius* los tubérculos están próximos a la extremidad anterior de la cabeza, que es larga y estrecha (Brisola, 2001).

La subfamilia Triatominae está actualmente compuesta por 137 especies, donde los géneros *Panstrongylus*, *Triatoma* y *Rhodnius*, son los más numerosos (Magalhaes dos Santos *et al.*, 2003). De estas especies, 105 se conocen sólo en América (Cristi, 2001).

En general, las especies de triatominos tienen la tendencia a ocupar una zona geográfica discreta, y generalmente las discontinuidades en su distribución se pueden atribuir a la dispersión pasiva en asociación con un hospedero vertebrado migratorio. La dispersión activa de los triatominos ocurre por desplazamiento terrestre en todos los estados ninfales e imagos y también por el vuelo, en el caso de los adultos (Bacigalupo *et al.*, 2006).

La mayoría de las especies de triatominos ocupan hábitats principalmente silvestres, en asociación estrecha con sus hospederos vertebrados. Dichos hábitats incluyen diferentes tipos de nidos, madrigueras, pilas de rocas, árboles huecos, cuevas, troncos y hojas de árboles, especialmente palmeras. Algunas especies también invaden y colonizan los hábitats peridomésticos (gallineros y corrales) y otras como *Triatoma infestans*, han realizado la transición para colonizar las viviendas humanas, especialmente habitaciones rurales típicas de las zonas más pobres de Latinoamérica (Bacigalupo *et al.*, 2006).

Todas las especies de triatominos se consideran potencialmente vectoras de la enfermedad de Chagas, sin embargo, diversos factores pueden determinar su capacidad vectorial. Los hábitats del peridomicilio de los triatominos son una fuente potencial de infestación o reinfestación del domicilio y que de acuerdo al tipo de hábitat y fauna

relacionada con ellos, puede construirse una cadena ecológica de importancia para la sobrevivencia y reproducción del vector y la transmisión del parásito (Soto *et al.*, 2007).

T. infestans es el principal vector de *T. cruzi* en el cono sur de América, el cual está presente casi exclusivamente en hábitat domésticos o peridomésticos, presentando en forma excepcional poblaciones silvestres (Dujardin *et al.*, 1999a). La transmisión de *T. cruzi* a humanos ocurre principalmente en estos ambientes como resultado de la interacción entre triatomíneos domésticos y mamíferos domésticos. Los sitios peridomésticos son la fuente más importante de *T. infestans* que reinvasen los domicilios después de la pulverización de insecticidas (Schachter- Broide *et al.*, 2004). Este vector, cuyo hábitat corresponde principalmente a viviendas rurales precarias, ha invadido los alrededores de las zonas urbanas, debido a la migración poblacional desde estas zonas (Atías y Apt, 1994).

T. infestans tiene una amplia distribución geográfica, que abarca los siguientes países: Argentina, Bolivia, Brasil, Perú, Ecuador, Paraguay, Uruguay y Chile (Henríquez *et al.*, 2007). Existen otras especies de triatomíneos vectores de la Enfermedad de Chagas en América las que presentan una variada distribución geográfica en el continente (Cristi, 2001). *Triatoma dimidiata* es una de las tres especies vectoras más importantes para la enfermedad de Chagas. Se presenta en México, América Central, Colombia, Venezuela, Ecuador y Perú. A lo largo de su rango de distribución, esta especie muestra una alta variabilidad en su comportamiento intradomiciliario (Bustamante *et al.*, 2004). La variedad de hábitats ocupados por *T. dimidiata* junto con el potencial de reinfestación desde lugares selváticos después de la aplicación de medidas de intervención del vector, hacen su control difícil en América Central (Calderón *et al.*, 2005). *Rhodnius prolixus* es de gran importancia en la transmisión de *T. cruzi* al hombre en el norte de América del sur y en algunos países de América Central, colonizando domicilios en grandes cantidades y también palmeras. Ha sido encontrado en varios ambientes silvestres de Brasil, sin descartar la posibilidad de adaptación al domicilio (Brisola, 2001).

Otras especies de importancia son las del género *Panstrongylus*, que está compuesto por 13 especies ampliamente distribuidas en hábitats selváticos, peridomésticos y domésticos de las regiones neotropicales. Estas especies son vectoras de la enfermedad de Chagas y consecuentemente se encuentran asociadas con muchos

hospederos, como aves y mamíferos. El interés en las especies de este género ha aumentado en los últimos años; reportes de muchos autores indican que estos triatominos invaden y colonizan casas, incrementando su importancia epidemiológica (Magalhaes dos Santos *et al.*, 2003). Dentro de estas especies se encuentra *Panstrongylus megistus*, en Brasil y sus países vecinos, predominando en las regiones más húmedas del noreste. Ha sido encontrado en domicilios y peri-domicilios y en ambientes silvestres. Es un buen hospedero de *T. cruzi* y ha sido desplazado de las casas por *T. infestans*; sin embargo, cuando éste es eliminado, reinvade los domicilios (Brisola, 2001).

En los países del Cono Sur la transmisión vectorial de *T. cruzi* por *T. infestans* ha sido interrumpida en Uruguay, en 1997, y en Chile, en 1999. Asimismo, el área de distribución de *T. infestans* ha disminuido significativamente en Argentina y Brasil, y existen progresos en el control vectorial en Bolivia y Paraguay. Si bien *T. infestans* es el principal vector de *T. cruzi* en los países del Cono Sur, y se espera su eliminación debido a sus características casi exclusivamente domiciliarias, el control de otras especies selváticas que invaden la vivienda, tales como *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma sordida*, o *P. megistus*, indica que las acciones de aplicación de insecticidas para el control de esas especies de triatominos serán todavía una necesidad, aunque se elimine *T. infestans*. Lo mismo ocurriría en el norte de Sudamérica, en Colombia y Venezuela, donde el principal vector es *Rhodnius prolixus*, especie que, en esa área geográfica, es considerada selvática y que invade la vivienda. En Centroamérica, aún cuando se elimine *R. prolixus*, especie considerada intradomiciliaria en esta subregión, la existencia de *T. dimidiata*, especie selvática que invade la vivienda y que se encuentra aún en la periferia de ciudades capitales, como Tegucigalpa y Managua, sugiere que las acciones de control deberán tener una duración indefinida (Schmunis y Pinto, 2000).

2.4.- Triatominos en Chile

En Chile, se describen tres vectores de la enfermedad de Chagas: el doméstico, *T. infestans*, y dos silvestres, *Mepraia spinolai* y *Mepraia gajardoi* (Canals *et al.*, 2000; Carvajal *et al.*, 2007).

El área endémica de estos vectores en nuestro país, se extiende desde el paralelo 18° (Región de Arica-Parinacota) en la zona norte hasta el paralelo 34° (Región del Libertador Bernardo O'higgins) (Atías y Apt, 1994).

T. infestans está asociado a viviendas rurales, particularmente aquellas con paredes de barro y paja, pero se ha encontrado eventualmente en condiciones silvestres, en intersticios de paredes de piedras, entre o bajo rocas, asociada a árboles, bajo la corteza; en guaridas, madrigueras o nidos de varios animales, como marsupiales, roedores o aves (Bacigalupo *et al.*, 2006).

Por su parte, *M. spinolai*, que es una especie caracterizada como silvestre, ha sido encontrada entre piedras, grietas de rocas, sitios de descanso de diferentes mamíferos como zorros, conejos, liebres, vizcachas, otros roedores, marsupiales y en corrales de animales domésticos. Existen algunos antecedentes que sindicaron a esta especie como colonizadora de viviendas rurales (Bacigalupo *et al.*, 2006). En nuestro país esta especie se distribuye entre los 22° S y los 33° S (Campos *et al.*, 2007).

Aunque en el perfil alimentario de *M. spinolai*, no es significativa la participación de sangre humana y se le considere por tanto un vector poco importante en la transmisión de *T. cruzi* (dada esta condición menos cercana al hombre) los insectos pueden alcanzar grandes densidades poblacionales en las cercanías de las viviendas, lo cual sugiere un incremento del riesgo de transmisión de la enfermedad de Chagas (Botto-Mahan *et al.*, 2005).

En nuestro país tanto *M. spinolai* como *T. infestans* pueden estar naturalmente infectadas con *T. cruzi*. Índices trypano-triatomino de 41 % han sido reportados para *T. infestans* y de 43 % para *M. spinolai*, los que han sido estimados en base a resultados de ensayos de PCR (Polymerase chain reaction), los que indican positividad a *T. cruzi* de los triatominos (Bacigalupo *et al.*, 2006).

M. spinolai es un insecto de hábitos diurnos, mientras que *T. infestans* es nocturno. Ambas especies muestran preferencias similares por micro-ambientes templados (24° C) y son capaces de sobrevivir en el entorno de las viviendas humanas. Ambas especies se pueden alimentar de sangre de seres humanos. A pesar de estas similitudes, la significancia epidemiológica de estas dos especies es muy diferente.

Estimaciones epidemiológicas sugieren que *M. spinolai* es responsable por sólo 0,64 a 5,8 % de todos los casos de enfermedad de Chagas en las regiones endémicas de Chile (Canals *et al.*, 1999).

Mepraia gajardoi ha sido recientemente descrita como una especie distinta a *M. spinolai* (Botto-Mahan *et al.*, 2008). Habita playas y desiertos costeros de la primera y segunda región de Chile (Carvajal *et al.*, 2007) alimentándose de aves marinas, mamíferos marinos y reptiles (Frías, 2004; Botto-Mahan *et al.*, 2008). Existe evidencia, basada en análisis moleculares, que indican que *M. gajardoi* está naturalmente infectada con *T. cruzi*. El porcentaje de individuos infectados, con un índice Trypano/triatomino de un 19,2%, es similar a lo observado en *Mepraia spinolai* en otras investigaciones (Carvajal *et al.*, 2007).

3.- Morfometría Geométrica

La morfometría es el estudio de la variación de la forma y su covariación con otras variables. Tradicionalmente se han utilizado técnicas morfométricas clásicas en los estudios de relaciones filogeográficas de diferentes especies, las que se basan principalmente en la medición de valores lineales, como la longitud y ancho, entre estructuras constantes, las cuales no logran conservar a través de sus metodologías de análisis las formas geométricas de los componentes anatómicos. Es por esto que se ha desarrollado la técnica de morfometría geométrica, la cual permite, mediante una serie de procedimientos, capturar estas estructuras o puntos de referencia en coordenadas sobre un plano cartesiano, haciendo posible su análisis y comparación entre estadios y diferentes grupos poblacionales, aportando información relevante del origen geográfico de éstas; también puede servir de marcador de la adaptación al medio ambiente entre otras ventajas (Jaramillo *et al.*, 2002; Adams *et al.*, 2004). Esta técnica toma en cuenta toda la información con respecto a las relaciones espaciales entre los puntos de referencia o landmarks, lo cual entrega un gran poder estadístico al método (Gumiel *et al.*, 2003).

La morfometría se subdivide en Morfometría Tradicional (uso de distancias entre puntos de referencia) y Morfometría Geométrica (uso de coordenadas de los puntos de referencia). Ambas tienen un concepto en común, la alometría, que es el cambio de conformación que deriva del cambio de tamaño. La morfometría geométrica se interesa

principalmente en los caracteres continuos, es decir, de aquellos que resultan de mediciones (distancia entre dos puntos) o de colecta de coordenadas (situación de un punto en un sistema de ejes). Los caracteres continuos son variables que toman todos los valores entre dos extremos de manera que son posibles una infinidad de fenotipos, como por ejemplo el tamaño o peso (Dujardin, 2000).

Uno de los problemas que presenta la morfometría tradicional yace en que muchas veces las mediciones se realizan sobre puntos que no presentan una gran homología entre ellos, siendo difícil su comparación. Además estas mediciones pueden ser obtenidas desde estructuras de diferente forma que, sin embargo, presentan valores similares de largo y ancho, pero como la morfometría tradicional no es capaz de conservar la geometría de la estructura, se pierde información con respecto a la forma (Adams *et al.*, 2004).

Una de las ventajas de la morfometría geométrica sobre la morfometría tradicional, es que es posible observar los cambios de conformación. Se pueden visualizar a través de las rejillas de deformación o "placas delgadas" ("thin-plate splines"), en relación a todos los parámetros imaginables: grupos taxonómicos, sexos, estadios de desarrollo, localidades geográficas, asociaciones ecológicas, altitudes, temperaturas, etc. Un ejemplo muy interesante es la posibilidad de visualizar los cambios de conformación en función a los cambios de tamaño; es decir, se pueden visualizar los cambios alométricos que surgen durante el crecimiento. Así, la morfometría geométrica permite visualizar uno de los conceptos más importantes en morfometría: el efecto del crecimiento sobre la conformación de una estructura anatómica (Dujardin, 2000).

Como todo nuevo método, la morfometría geométrica también tiene sus desventajas. Una de ellas es que los programas de análisis, por el momento, no permiten eliminar el efecto de los cambios alométricos entre individuos. Otra desventaja común, pero remediable, es que la morfometría geométrica no permite incluir en el mismo análisis dos estructuras articuladas por ejemplo fémur y tibia, por tanto los puntos de referencia deben limitarse a los márgenes de una estructura rígida, no compuesta o articulada. La morfometría tradicional, que no necesita conocer la posición relativa de los puntos homólogos, permite incluir fácilmente en un solo análisis mediciones de diferentes órganos siendo una de las razones, por la cual la morfometría tradicional sigue siendo

indispensable. Otra desventaja es que la morfometría geométrica requiere para realizar el análisis un mayor número de individuos que la morfometría tradicional (Dujardin, 2000).

3.1.- Contribución ambiental y genética a la variación métrica

El ambiente actúa sobre la variación morfológica produciendo modificaciones heredables del fenotipo. Las primeras modificaciones que resultan de la separación geográfica son cambios en los caracteres cuantitativos donde la morfometría tiene un lugar privilegiado dentro de las técnicas que permiten explorar la microevolución. En la mayoría de los casos, se desconoce la determinación que los genes tienen sobre los caracteres fenotípicos para las poblaciones estudiadas y muchas veces se desconoce además su heredabilidad, por lo cual es difícil saber si las diferencias métricas entre dos poblaciones geográficamente separadas se han producido por factores más allá de los ambientales (Dujardin, 2000).

Existen por lo menos dos métodos para dilucidar esta problemática; el primero intenta eliminar las variaciones ambientales con la premisa de que si persisten las diferencias o si aparecen nuevas diferencias en un mismo ambiente, dichas variaciones probablemente reflejan variaciones genéticas, mientras que el segundo método se basa en que la silueta de un individuo, el perfil de una estructura anatómica, el aspecto de una configuración de puntos homólogos, son caracteres menos influenciados por el ambiente que su tamaño, y como consecuencia más idóneos para estudiar procesos evolutivos. En esta hipótesis, para un carácter independiente del tamaño como puede ser forma o conformación, la variación genética sería más importante que la variación ambiental para explicar la variación fenotípica, mientras que el tamaño sería una variable fácilmente modificada por factores externos. La morfometría puede examinar, estudiando separadamente la variación métrica dependiente del tamaño y la variación independiente del tamaño (Dujardin, 2000).

El tamaño de un individuo puede cambiar como respuesta fisiológica a cambios ambientales como la alimentación, así como en respuesta a cambios genéticos inducidos por selección o mutación. La variable tamaño puede tener dos significaciones biológicas. Una se refiere al cambio de tamaño atribuible a diferencias de crecimiento siendo un cambio fisiológico inducido por el ambiente, en este caso los individuos en los primeros

estadios ninfales serían de igual tamaño, pero producirían adultos diferentes. La otra significación atribuible a la variación del tamaño es genética y se debe al cambio evolutivo. Son diferencias entre especies, pero también entre poblaciones geográficas u otras que están en vías de especiación, donde los individuos son de mayor o menor tamaño dado que éste está determinado genéticamente de esa forma. Estos dos efectos producen variaciones de tamaño que no son necesariamente similares, porque tienen repercusiones sobre órganos diferentes o en un mismo órgano sobre rasgos diferentes. Así, la morfometría se basa en ciertos modelos matemáticos para reconocer las causas del cambio de tamaño (Dujardin, 2000).

Lo que se busca en morfometría, ya sea tradicional o geométrica, no es solamente definir la conformación de un individuo o de una estructura anatómica, sino también obtener una representación que sea estable, libre de las variaciones fisiológicas del tamaño, siendo la variación individual la más importante, ya que esta tiene una fuerte influencia del medio ambiente en que se desarrolla el individuo, por lo cual se debe diferenciar este cambio de tamaño del que resulta de causas genéticas o evolutivas. (Dujardin, 2000).

Existen dos modelos matemáticos del cambio de tamaño, llamados cambio de tamaño alométrico y cambio de tamaño isométrico. El cambio isométrico resulta de la multiplicación por un mismo coeficiente de todas las dimensiones, donde la geometría de la estructura no cambia, pero su tamaño aumenta. En el cambio isométrico las proporciones no son alteradas. El cambio alométrico, resulta de la multiplicación de cada dimensión por un coeficiente diferente, provocando que exista un aumento de tamaño, sin embargo, las proporciones no son las mismas, tomando la estructura una conformación o silueta diferente. Las variables de conformación corresponden aquellas variables libres del cambio isométrico mientras que las variables de forma a las variables libres de cambios alométricos (Dujardin, 2000).

En el crecimiento de los organismos vivos, los cambios exclusivamente isométricos son excepcionales, siendo el cambio alométrico el más común. La eliminación del cambio isométrico de por sí no tiene mucho sentido biológico, pero puede servir para producir una reducción secundaria, a veces importante, de los cambios alométricos. Así, las variables de conformación pueden ser muy próximas a las verdaderas variables de

forma, las que se consiguen cuando se elimina la alometría. Los métodos que eliminan la influencia del tamaño isométrico se pueden subdividir según el enfoque en métodos univariados o multivariados. En ambos, se trata de crear nuevas variables, llamadas variables de conformación a partir de las variables iniciales (Dujardin, 2000; Jaramillo *et al.*, 2002).

Cuando se elimina el tamaño alométrico, se crean nuevas variables de forma. La forma, a diferencia de la conformación, no está influenciada por el modo de crecer de los individuos. Esto no significa que las diferencias de forma, cuando existen, no contengan también diferencias de tamaño, pero en este caso son componentes isométricos del cambio de tamaño (Dujardin, 2000).

3.2.- Puntos de Referencia

Como se mencionó anteriormente, los puntos homólogos, representan partes fácilmente identificables del cuerpo y que son constantes de un individuo a otro de una misma especie o de diferentes especies (Dujardin, 2000).

Estos puntos deben tener un elevado grado de homología. Se han realizado clasificaciones de los puntos homólogos en tres tipos, en función de sus cualidades decrecientes. Los puntos Tipo I corresponden a puntos que matemáticamente presentan una gran homología de un caso a otro y que están avalados por fuertes evidencias, tales como la histología, por ejemplo en el caso de patrones locales de yuxtaposición entre dos tejidos diferentes. Los de Tipo II son puntos que sólo presentan homología en un sentido geométrico o matemático como por ejemplo el punto máximo de una de línea curva, sin un respaldo histológico. Por último los de Tipo III son puntos que tienen a lo menos una coordenada deficiente, por ejemplo el fin de un diámetro o bien el fin de una concavidad. Estos puntos caracterizan más la región de una forma determinada que un punto exacto. Los procedimientos multivariados de la morfometría geométrica les permiten ser tratados como puntos homólogos en algunos análisis, pero la deficiencia que ellos presentan debe ser considerada en el curso de la interpretación de los resultados obtenidos en las investigaciones morfométricas (Bookstein, 1990a).

Es muy importante elegir puntos claramente definidos, de tipo I si es posible, para tener una mayor probabilidad de captar, a través de las mediciones, la verdadera organización genética del organismo (Dujardin, 2000).

3.3.- Métodos de análisis

3.3.1.- Obtención de coordenadas y variables de conformación

Para la obtención de estos puntos se requiere del uso de una cámara translúcida, la cual permite proyectar una imagen en dimensiones mayores a las dimensiones reales. Si los puntos de referencia son correctamente reproducidos, este método reduce el efecto de pequeños errores de medición, y la ampliación adicional mejora la exactitud. Otro medio es tomar una fotografía permitiendo una mejoría de la calidad, obteniendo las mediciones o coordenadas directamente desde ellas. Cada punto corresponde a una coordenada, las que permiten en su conjunto reproducir el contorno o configuración del objeto estudiado. A partir de esta configuración, los programas computacionales de morfometría geométrica permiten remover el tamaño isométrico y crear las variables (y luego componentes) de conformación correspondientes. Los componentes de conformación cuantifican las deformaciones o **warps**, que quedan después de remover el tamaño isométrico entre la configuración de un individuo y una configuración consenso o referencia (Dujardin, 2000, Mojica *et al.*, 2005).

El tamaño isométrico, en morfometría geométrica, se denomina **tamaño centroide (ctr)**, el cual corresponde a la raíz cuadrada de la suma de las distancias elevadas al cuadrado entre el centro de gravedad de la estructura, llamado centroide, y los puntos homólogos que la definen. El análisis de los componentes principales derivados de las coordenadas residuales no informa de manera visual sobre los desplazamientos de los puntos homólogos entre individuos o grupos. Para observar los puntos homólogos, después de la normalización por el tamaño centroide, se deben proyectar sobre un plano cuadrado (placa delgada) para ver las deformaciones. Esta placa delgada se deforma luego para hacer coincidir los puntos homólogos del objeto de referencia con los del objeto comparado (Dujardin, 2000; Jaramillo *et al.*, 2002).

Para realizar el análisis de componentes principales es necesario obtener una tabla a partir de la matriz de coordenadas, la cual contiene los componentes de conformación o **weight matrix**, los cuales se presentan como variables uniformes y no uniformes. El cambio uniforme se define siempre con dos variables, U1 y U2, mientras el cambio no uniforme se expresa por un número de variables, X1, Y1, X2, Y2, etc., que depende del número de puntos homólogos. Los componentes de cambio uniforme y no uniforme se expresan en las rejillas de deformación o **partial warps** (Bookstein, 1990b; Dujardin, 2000, Adams *et al.*, 2004; Soto *et al.*, 2007).

El componente uniforme se refiere a los cambios globales que afectan todos los puntos de referencia de una manera rígida, modificando la estructura sin alteración de sus paralelismos. Por el contrario los cambios no uniformes resultan de deformaciones locales de la estructura biológica produciendo distorsiones respecto de la estructura de referencia afectando el paralelismo de la rejilla. Se deben entender como una descomposición matemática de la conformación (Bookstein, 1990b; Dujardin, 2000, Mojica *et al.*, 2005).

3.3.2.- Análisis Multivariados

Una vez obtenidos el tamaño centroide y los componentes de conformación, se realiza a partir de ellos un análisis multivariado, en el cual las variables iniciales se reúnen en nuevas variables, combinando la información de la totalidad de las medidas de los caracteres en pocos factores. Las nuevas variables se denominan componentes principales para el **Análisis de Componentes Principales** (ACP) y funciones discriminantes o variables canónicas para el **Análisis Discriminante** (AD). Estas nuevas variables tienen dos ventajas decisivas, ya que por su construcción matemática no están correlacionadas entre sí, y frecuentemente se utilizan sólo los dos primeros factores, que son los que entregan mayor información (Dujardin, 2000).

Análisis de Componentes Principales

Se define como una rotación rígida de los ejes que representan las variables que definen a los individuos. En este análisis, los primeros factores son los componentes principales uno y dos (CP1 y CP2), generalmente correspondiendo el primero (CP1) a la variable tamaño y el segundo (CP2) a la variable forma. El ACP no compara grupos sino

individuos. Este análisis produce factores que dan cuenta del rango máximo de la variación generada por la totalidad de los individuos, sin tomar en cuenta su pertenencia a tal o cual grupo. Como estos componentes principales son independientes, se los puede utilizar como coordenadas cartesianas para proyectar a los individuos en un espacio de dos dimensiones. En esta representación, generalmente ilustrada con los dos primeros componentes principales (CP1 y CP2), los individuos son puntos más o menos agregados que forman nubes. Los puntos se pueden identificar después del análisis, y los grupos cuestionados pueden ser representados como polígonos, determinados por las líneas que conectan a los individuos más externos dentro de cada grupo (Dujardin, 2000; Calderón *et al.*; 2005).

El ACP genera un modelo del crecimiento de los individuos a través de su primer componente principal, el que representa la dirección del crecimiento entre individuos y que es un buen estimador del tamaño global. Se le llama global porque no se hace aquí la distinción entre diferencias de tamaño debidas a diferencias de crecimiento o a diferencias evolutivas. Este componente se puede comparar de un grupo al otro, pudiendo realizarse estudios comparativos de alometría. Por otra parte, si el CP1, como vector principal de crecimiento, logra definir completamente este crecimiento, su remoción permite estudiar el resto de la variación métrica, es decir la forma (Dujardin, 2000; Bustamante *et al.*, 2004).

Para una variable, se habla de isometría cuando su crecimiento tiene la misma velocidad que la del crecimiento global. En el caso teórico de un cambio global isométrico, todos los coeficientes tendrían el mismo valor para cada variable. Hay que distinguir la alometría de crecimiento (ontogénica) de la alometría estática y alometría evolutiva. La alometría ontogénica es la tasa relativa de crecimiento de los órganos en el proceso de maduración del organismo, del estadio juvenil al estadio adulto. Mientras crece el organismo cambia también su conformación. Para los insectos, esta alometría se calcula incluyendo varios estados de desarrollo en el análisis. La alometría estática se refiere a la comparación entre individuos de un mismo estadio de desarrollo. Entre ellos, se puede observar el crecimiento de los órganos en relación a la diferencia de tamaño. Es generalmente un buen estimador de la alometría ontogénica, o de crecimiento. La alometría evolutiva también compara individuos del mismo estadio de desarrollo, pero ellos pertenecen a especies diferentes (Dujardin, 2000).

Análisis discriminante

El **Análisis Discriminante** genera factores independientes, no correlacionados entre sí, sobre los cuales los individuos se pueden proyectar en un gráfico de dos (o tres) dimensiones o “mapa factorial”. Estos factores son los llamados “factores o funciones discriminantes (FD)” o “variables canónicas (CV)”. Su objetivo es separar los grupos definidos previamente por el observador guardando, sin embargo, una ausencia total de correlación entre los factores. La diferencia fundamental con el análisis de componentes principales, es que el análisis discriminante, compara grupos, no individuos. Su objetivo no es, como lo puede hacer específicamente el ACP, de cuestionar los grupos definidos previamente por el observador, sino separarlos. Para este fin, el análisis busca el valor máximo de la varianza intra-grupo sobre la varianza inter-grupo (Dujardin, 2000).

Debido a que el análisis discriminante basa sus cálculos sobre los grupos definidos por el observador, es decir sobre las matrices de dispersión individuales, el análisis discriminante es más exigente en cuanto al número de individuos por grupo. Prudentemente se debe admitir un número de variables que no sea superior a la mitad del número de los individuos en el grupo más pequeño. El número de factores discriminantes producidos corresponde generalmente al número de grupos menos uno. Además si consideramos un nuevo individuo, de grupo desconocido, se pueden utilizar las funciones discriminantes para clasificarlo en el grupo más probable. En otras palabras, el AD puede proponer una clasificación para todos los individuos, tanto los utilizados en el análisis como de otros. Su clasificación puede ser comparada con la clasificación observada, y el grado de concordancia estima el valor discriminante del análisis (Dujardin, 2000).

La presente memoria de título establece un referente de las características morfométricas de las cabezas de individuos de *T. infestans* de diferentes estadios de desarrollo mantenidos en condiciones de laboratorio mediante la técnica de Morfometría Geométrica, con el cual, a futuro, se compararán datos obtenidos de especímenes capturados tanto en el ámbito domiciliario como silvestre, buscando establecer diferencias o similitudes entre estas poblaciones.

II.- OBJETIVOS

1.- Objetivo general

Caracterizar mediante morfometría geométrica, cabezas de imagos y estadios ninfales IV y V de *T. infestans* mantenidos en condiciones de laboratorio.

2.- Objetivos específicos

- Establecer las características morfológicas más relevantes de cabezas de imagos y ninfas de estadios IV y V.
- Comparar morfométricamente las cabezas de los distintos estadios de desarrollo de *T. infestans*.
- Generar un referente de características morfológicas estándar de cabezas de imagos y ninfas que permita realizar comparaciones posteriores con especímenes obtenidos desde distintos ambientes.

III.- MATERIAL Y MÉTODO

1.- Materiales

Para la realización de esta memoria se utilizaron triatominos de la especie *T. infestans* del Laboratorio de la Unidad Docente de Parasitología de la Facultad de Medicina Campus Occidente de la Universidad de Chile, los que fueron mantenidos bajo condiciones de laboratorio (25 °C, 45% humedad relativa y alimentados con sangre de gallina). Estos provienen de especímenes capturados en domicilios de la IV región en el año 1960, por lo cual corresponden aproximadamente a la generación número cuarenta y ocho, considerando en promedio un año por generación.

El tamaño muestral estuvo dado por las exigencias del análisis. En el caso de morfometría geométrica, cada punto de referencia posee dos variables correspondientes a las coordenadas sobre la ordenada y la abscisa (x, y), por esto se deben utilizar cuatro

veces más individuos que puntos de referencia (Dujardin, 2000; Mojica *et al.*, 2005). Por lo tanto, dado que se utilizaron cinco puntos, se requirió de un mínimo muestral de 20 ejemplares por estadio.

Se estudiaron un total de 200 muestras, correspondiendo a 50 ninfas de estadio IV, 50 ninfas de estadio V, 50 imagos hembra y 50 imagos macho. Para la diferenciación de estadios ninfales se recurrió a la clave de caracterización de Brewer *et al.* (1981), de estadios ninfales de *T. infestans*. Esta clave se basa en la presencia y características de las **pterotecas mesotonales**, que son estructuras ubicadas en el tórax (**Fig. N° 5**). Cabe señalar que sólo en el estadio adulto es posible diferenciar ambos sexos mediante la observación del borde posterior de la región abdominal (Lent y Wygodzinsky, 1979), por lo cual los estadios ninfales se estudiaron sin diferenciación por sexo.

Cada individuo fue seleccionado al azar, correspondiendo cada uno a una muestra (cabeza). Una vez seleccionados y separados por estadio, las muestras fueron fijadas mediante alfileres a nivel torácico a un trozo de plumavit y enumeradas en forma correlativa según el estadio correspondiente. Las claves de identificación fueron las siguientes:

IV_n: cuarto estadio; n: número correlativo de muestra (1 a 50).

V_n: quinto estadio; n: número correlativo de muestra (1 a 50).

H_n: hembra adulto; n: número correlativo de muestra (1 a 50).

M_n: macho adulto; n: número correlativo de muestra (1 a 50).

2.- Método

Cada una de las muestras se observó a través de lupa estereoscópica con cámara fotográfica incorporada. La lupa estaba conectada a su vez a un computador, permitiendo capturar la imagen de cada muestra.

El grupo de “**landmarks**” o **puntos homólogos** utilizados, fueron diferentes para adultos y ninfas, pero en ambos casos correspondieron a la mitad derecha de la cabeza. Para los adultos se utilizaron el nacimiento del ocelo en su borde posterior (**landmark 1**), el nacimiento del borde posterior del ojo compuesto (**landmark 2**), el nacimiento del borde

anterior del ojo compuesto (**landmark 3**), el punto de inserción interno de la antena en el rostro (**landmark 4**) y el punto de inserción de la probóscide en el rostro (**landmark 5**). Para los estadios ninfales IV y V se utilizaron los mismos landmarks a excepción del primero, ya que estas estructuras no se encuentran desarrolladas, por lo cual fueron reemplazadas por el punto de unión entre el cuello y la cabeza (**Fig. N° 6**). Para poder realizar una comparación entre adultos y ninfas se realizó un segundo muestreo, en el cual el primer landmark del grupo de los imagos se reemplazó por el primer landmark del grupo de las ninfas. Este punto permitió establecer una imagen de la zona post-ocular, completando el borde posterior de la cabeza y haciéndolo comparable con las ninfas.

Los landmarks se determinaron en base a referentes bibliográficos basados en estudios de los géneros *Triatoma* y *Panstrongylus* mediante morfometría geométrica de cabezas, los cuales han utilizado los puntos anteriormente nombrados para este estudio (Jaramillo *et al.*, 2002; Bustamante *et al.*, 2004; Calderón *et al.*, 2005).

Luego se procedió a importar las fotografías anteriormente tomadas a través del programa **TPSdig** (Thin-plate spline Digitalizador versión 2.12, 2008), el cual permitió ingresar la información al sistema computacional, obteniendo los puntos homólogos y transformándolos en coordenadas (Rholff, 2008).

Posteriormente se analizaron los datos (landmarks) a través del programa **TPSreg** (Thin-plate spline Regresión versión 1.35, 2008). Este programa se utilizó para la determinación del tamaño centroide y además para explorar la relación entre forma y una o más variables independientes, que en este caso correspondieron al mismo tamaño centroide. El programa **TPSregr** (Rholff, 2008) generó las rejillas de deformación que mostraron en este caso, la variación de la forma con respecto al tamaño centroide.

A continuación se realizó un nuevo análisis con el programa **TPS Rel.** (Thin-plate spline Relative Warps Análisis versión 1.46, 2008). Con este programa se obtuvieron las configuraciones de consenso o conformación promedio. Además, éste determinó los factores que producen variaciones dentro de las rejillas de deformación (weight matrix) generando los “**partial warps**” (Rholff, 2008).

Para finalizar se realizó el estudio estadístico con el **programa JMP** (JMP versión 4.0 S.A.S. Institute), el que efectuó un análisis multivariado a partir de los datos y resultados anteriores, el cual incluyó análisis de componentes principales, análisis discriminantes, análisis de predicción y análisis de tamaño.

IV.- RESULTADOS

1) Análisis de cabezas de ninfas de IV y V estadio e imagos machos y hembras de *T. infestans*, utilizando el punto de unión entre cuello y cabeza como primer punto homólogo.

En el análisis de componentes principales se observó que tanto los adultos como las ninfas forman polígonos que se agrupan al centro del mapa factorial sobreponiéndose entre ellos, sin una separación marcada entre los grupos (**Fig. N° 7**). Los dos primeros componentes principales corresponden al 33,12 % y 23,73 % respectivamente, dando cuenta del 56, 85 % de la variación total generada.

Por su parte, el análisis discriminante no mostró diferencias significativas ($p > 0.05$), generando una conformación única para ambos grupos.

En el análisis de predicción se apreció que de un total de 50 adultos hembras, 14 (28 %) concordaron con su predicción, mientras que de un total de 50 adultos machos, 13 (26 %) fueron clasificados correctamente. En cuanto a las ninfas, se puede observar que 21/50 (42 %) de V estadio concordaron con su predicción, mientras que 1/50 (2%) de IV estadio fue clasificada correctamente (**Tabla N° 1**).

En el análisis de tamaño se apreció una diferencia significativa ($p < 0,0001$), con la formación de 4 grupos. El primero, compuesto por los ejemplares adultos hembras, el segundo por los machos, el tercero por las ninfas de V estadio y el cuarto por las ninfas de IV estadio, ordenados de mayor a menor tamaño (**Fig. N° 8**).

En el análisis de variación “uniforme” en relación al tamaño se apreció que todos los puntos homólogos se desplazan en sentido opuesto entre el estadio ninfal y el adulto, donde el punto N° 1 presenta la variación más importante. Los esquemas corresponden a

la conformación de consenso, las flechas al desplazamiento de los puntos homólogos y las imágenes a la ninfa más pequeña y al adulto más grande (**Fig. N° 9**).

En el análisis de variación “no uniforme” en relación al tamaño se observó que todos los puntos homólogos se desplazan en sentido opuesto entre el estadio ninfal y el adulto, excepto el punto N° 2, el cual no varía en relación a la conformación de consenso (**Fig. N° 10**).

2) Análisis de cabezas de imagos machos y hembras de *T. infestans*, utilizando el nacimiento del ocelo en su borde posterior como primer punto homólogo.

Al realizar el análisis de componentes principales, se observaron dos polígonos sobrepuestos, formando un grupo único (**Fig. N° 11**). Los dos primeros componentes principales corresponden al 45,72 % y 22,67 % respectivamente, dando cuenta del 68,39 % de la variación total generada.

En el **análisis discriminante** no mostró diferencias significativas ($p > 0.05$) en cuanto a la conformación de machos y hembras.

En el análisis de predicción se apreció que de un total de 50 hembras, 23 (46 %) fueron clasificadas correctamente, mientras que de 50 machos, 22 (44 %) fueron clasificados como tales. Las predicciones por sexo no concordantes, fluctuaron entre un 54 % y 56 % respectivamente (**Tabla N° 2**).

En el análisis de tamaño se observó una diferencia significativa entre ambos grupos ($p < 0,0001$), siendo las hembras de mayor tamaño que los machos (**Fig. N° 12**).

En el análisis de variación “uniforme” en relación al tamaño se apreció que todos los puntos homólogos se desplazan en sentido opuesto entre el estadio ninfal y el adulto. Los puntos 1 y 2 en ambos sexos, presentan una variación levemente más marcada que los otros. Sin embargo, el primer punto en las hembras es el de mayor importancia (**Fig. N° 13**).

En el análisis de variación “no uniforme” en relación al tamaño se observó que los puntos homólogos 2 y 3 se desplazan en sentido opuesto entre el macho y la hembra. El punto 4 en el macho, se desplaza en forma antero-medial y en la hembra lateralmente. El

punto 5 en el macho, se desplaza hacia medial y en la hembra en forma antero lateral. El punto 1 en el macho se desplaza en forma postero-medial y en la hembra postero-lateral. En ambos grupos, el punto 2 presenta una variación levemente más marcada que los otros y el tercer punto es el de mayor importancia (**Fig. N° 14**).

3) Análisis de cabezas de imagos machos y ninfas de V estadio de *T. infestans*, utilizando el punto de unión entre cuello y cabeza como primer punto homólogo.

En el análisis de componentes principales se observó que tanto machos como ninfas se agrupan en una misma zona del mapa factorial, sobreponiéndose sus polígonos (**Fig. N° 15**). Los dos primeros componentes principales corresponden al 36,18 % y 24,61 % respectivamente, dando cuenta del 60,79 % de la variación total generada.

El **análisis discriminante** no mostró diferencias significativas ($p > 0.05$), generando una conformación única para ambos grupos.

En el análisis de predicción se observó que de 50 imagos machos, 26 (52%) fueron clasificados correctamente como tales, mientras que de 50 ninfas de V estadio, 27 (54%) concordaron con su predicción. Las predicciones por categoría no concordantes, fluctuaron entre un 48% y 46% respectivamente (**Tabla N° 3**).

En el análisis de tamaño se visualizó la presencia de dos grupos significativamente diferentes ($p < 0,0001$), donde los adultos son de mayor tamaño que las ninfas V (**Fig. N° 16**).

En el análisis de variación “uniforme” en relación al tamaño se apreció que todos los puntos homólogos se desplazan en sentido opuesto entre el estadio ninfal y el adulto, donde el punto N° 1 presenta la variación más importante (**Fig. N° 17**).

En el análisis de variación “no uniforme” en relación al tamaño se observó que todos los puntos homólogos se desplazan en sentido opuesto entre el estadio ninfal y el adulto, excepto el punto N° 1, el cual no varía en relación a la conformación de consenso (**Fig. N° 18**).

4) Análisis de cabezas de imagos hembras y ninfas de V estadio de *T. infestans*, utilizando el punto de unión entre cuello y cabeza como primer punto homólogo.

En el análisis de componentes principales se observó que tanto hembras como ninfas se agrupan en una misma zona del mapa factorial, sobreponiéndose sus polígonos (**Fig. N° 19**). Los dos primeros componentes principales corresponden al 31,29 % y 24,41 % respectivamente, dando cuenta del 55,70 % de la variación total generada.

El **análisis discriminante** no mostró diferencias significativas ($p > 0.05$) en cuanto a la conformación de machos y hembras.

En el análisis de predicción se observó que ambas categorías mostraron un 50% (25/50) de concordancia con su predicción (**Tabla N° 4**).

En el análisis de tamaño se visualizó una diferencia significativa ($p < 0,0001$) entre los grupos, mostrándose separados en el mapa factorial, siendo los adultos de mayor tamaño que las ninfas V (**Fig. N° 20**).

En el análisis de variación “uniforme” en relación al tamaño se observó que todos los puntos homólogos se desplazan en sentido opuesto entre el estadio ninfal y el adulto. En ambos grupos, el punto N° 1 presenta la variación más importante, seguido del punto 2 y el punto 5 solamente en las hembras (**Fig. N° 21**).

En el análisis de variación “no uniforme” en relación al tamaño se apreció que todos los puntos homólogos se desplazan en sentido opuesto entre el estadio ninfal y el adulto, siendo los puntos 2 y 3 los de mayor importancia (**Fig. N° 22**).

V.- DISCUSIÓN

Gracias al programa de vigilancia epidemiológica y control del *T. infestans* en Chile, se comunicó por primera vez, el hallazgo de esta especie fuera de los ambientes domiciliarios y peridomiciliarios, lo que hizo necesario un replanteamiento de las medidas de control (Bacigalupo *et al.*, 2006). En los sectores domiciliarios cercanos, se encontraron sólo imagos, lo cual sugirió la eventual existencia de focos externos en los

domicilios, dada la ausencia completa de estadios ninfales. Al explorar los sectores silvestres aledaños, se encontraron individuos que correspondían mayoritariamente a estadios ninfales. Se planteó el problema de establecer la relación entre estos estadios ninfales y los adultos encontrados en los domicilios. Los estadios ninfales aún no han desarrollado sus alas, por lo cual no es posible utilizar estas estructuras como base para el análisis de morfometría geométrica necesario para establecer comparaciones entre ambos grupos y sus respectivas procedencias. Además la cabeza de los especímenes constituye una estructura que se usualmente se preserva muy bien por lo cual es ampliamente utilizada para este tipo de estudios (Calderón *et al.*, 2005).

Se utilizaron los caracteres métricos de la cabeza para realizar las comparaciones morfométricas, debido a que las proporciones de esta son altamente variables dentro de una misma especie así como entre las especies de Triatomíneos, donde las características de esta estructura se encuentran dentro de los caracteres taxonómicos más importantes (Bustamante *et al.*, 2004).

Actualmente no existen trabajos publicados que describan mediante morfometría geométrica las cabezas de *T. infestans*. Por ello, en este estudio se generó una base de datos de referencia sobre las características morfométricas de esta estructura, en individuos desarrollados en condiciones ambientales óptimas. Así, estos datos permitirán realizar comparaciones con los vectores capturados del medio ambiente, estableciendo las posibles variaciones intra e interpoblacionales en el estudio de los focos silvestres y también aquellas presentes en poblaciones domiciliarias.

Varios estudios de estructura poblacional en triatomíneos han demostrado la importancia de marcadores como el tamaño y la conformación. El conocimiento de la variación intraespecífica es de interés epidemiológico, pues ella da cuenta de la existencia de poblaciones aisladas u homogéneas distribuidas en los hábitats del domicilio, peridomicilio o silvestres, cuyos riesgos de infestación son diferentes y por consiguiente las medidas de control de estas poblaciones serían también distintas (Soto *et al.*, 2007).

Los resultados fueron interpretados tomando en consideración todos los análisis conformacionales realizados. El **análisis de componentes principales** muestra el tamaño alométrico y la forma, produciendo factores que dan cuenta del rango máximo de

la variación generada por la totalidad de los individuos. Gráficamente los componentes principales se representan como polígonos, los cuales a través de sus líneas unen los puntos o individuos más externos de cada grupo (Cristi, 2001; Dujardin, 2000). El **análisis discriminante** representa la diferenciación morfométrica que se puede realizar entre los grupos, tomando en cuenta la agrupación de ellas y no su dispersión (Cristi, 2001). Entrega información de la conformación de cada grupo comparándolos entre sí, estableciendo diferencias o similitudes (Soto *et al*, 2007; Ancca *et al*, 2008). Este análisis sufre variaciones al aumentar el número de grupos debido a la mayor posibilidad de poder clasificar una determinada muestra. En consecuencia grupos que discriminan eficientemente al ser analizados, serán menos eficientes al aumentar los grupos de estudio (Cristi, 2001).

El análisis de tamaño de las cabezas de *T. infestans* permite observar las diferencias que se presentan en el tamaño centroide (ctr), el cual es un estimador isométrico del tamaño (Jaramillo *et al.*, 2002). **El análisis de variaciones conformacionales en relación al tamaño** muestra la variación generada entre el individuo más pequeño y el más grande del grupo analizado, sobre una conformación de consenso representada por una reja de deformación, mostrando a través de flechas la magnitud y dirección del desplazamiento de los puntos homólogos sobre este consenso. Las rejillas de deformación muestran el cambio de conformación en relación al cambio de tamaño lo cual representa un cambio alométrico. Este cambio está conformado por componentes de cambio uniforme y no uniforme, que representan sub-espacios complementarios del vector total de variación de la conformación. En el cambio uniforme las líneas se desplazan paralelamente en un mismo plano sin deformar la reja. A diferencia del cambio no- uniforme donde las rejillas no se mueven en forma paralela, sino que se presentan curvas deformando la reja (Bookstein, 1990b; Dujardin, 2000).

En los análisis realizados entre ninfas de IV y V estadio y los adultos separados por sexo, se apreció que los polígonos en el mapa factorial (**Fig. Nº 7**) se ubicaron en una zona similar lo que indicó que no habían diferencias en cuanto a tamaño alométrico y forma. Esto se puede atribuir a que los grupos pertenecen a una misma población con características genéticas propias y que han sido sometidos a un medio ambiente estable tanto en temperatura, humedad y alimentación. Esto se corroboró en los valores obtenidos en el análisis de predicción (**Tabla Nº 1**) en el cual la clasificación de los individuos en su correspondiente categoría fue baja, mostrando que hubo una gran

similitud entre los grupos. Se observó además, que la predicción más alta la presentaron las ninfas de V estadio, siendo éstas, dentro de los estadios ninfales comparados, mejores para poder clasificar a nuevos individuos, ya que las ninfas de IV estadio presentaron una predicción muy baja (2%); por lo tanto si se incluye un nuevo espécimen perteneciente a ese estadio, hay una baja probabilidad de identificarlo como tal. Tanto los imagos hembras como machos presentaron una mayor predicción que las ninfas de IV estadio, siendo capaces de clasificar correctamente en su categoría.

El análisis de tamaño (**Fig. N° 8**) mostró que existió una clara diferencia entre los estadios ninfales y adultos, presentándose en orden ascendente de tamaño las ninfas de IV estadio, de V estadio, imagos machos e imagos hembras. Esto está dado por el crecimiento durante el desarrollo de esta especie (alometría ontogénica), desde los estadios ninfales más pequeños hasta los adultos de mayor tamaño, ya que son hemimetábolos. El análisis discriminante no evidenció diferencias en cuanto a conformación entre los grupos, lo cual junto con el análisis de tamaño indicaron que la conformación se mantiene a medida que los individuos aumentan de tamaño debido al ciclo de desarrollo de *T. infestans*.

Es importante tener en consideración que todas las especies de Triatominos que crecen bajo condiciones controladas de laboratorio o colonizando viviendas humanas tienden a mostrar una reducción en el tamaño relativo general en relación a sus poblaciones silvestres originales después de varias generaciones. Esto al parecer se debería a que la selección natural favorece a fenotipos de mayor tamaño en hábitats silvestres, posiblemente debido a la capacidad de resistir privaciones temporales de alimento, mientras que los individuos más pequeños aparentemente sobreviven mejor en laboratorio o en condiciones sinantrópicas donde existen menos restricciones en la disponibilidad de alimento (Dujardin, 1999b; Jaramillo *et al.*, 2002).

Se ha sugerido que los cambios morfológicos observados entre poblaciones silvestres y de laboratorio pueden ser similares a los existentes entre las poblaciones silvestres y las sinantrópicas. Los procesos sinantrópicos de la sub- familia Triatominae parecen involucrar un proceso de especialización con una simplificación tanto fenotípica como genética, donde la reducción del tamaño y del dimorfismo sexual son dos de las manifestaciones más notificadas (Jaramillo *et al.*, 2002). Se ha observado una variación

gradual en el tamaño medio de los individuos relacionada inversamente con la temperatura promedio de los lugares de origen de los grupos. Tal relación se conoce como regla de Bergmann y generalmente se supone que tiene causas fisiológicas. Sin embargo, en trabajos realizados con colonias de laboratorio mostraron que este clino se conserva por muchas generaciones en condiciones de temperaturas homogéneas, que sugieren una base adaptativa (Jaramillo *et al.*, 2008).

En el análisis de variación uniforme (**Fig. N° 9**) se observó el movimiento de los puntos los cuales se desplazaron en forma inversa entre ninfas y adultos siendo el desplazamiento de mayor magnitud el que presenta el punto 1, ensanchando el cuello en las ninfas. Al analizar el resto de los puntos se observó que se presentó una contracción de la zona ocular y antecular a medida que disminuyó el tamaño de los individuos (ninfas) determinado por el desplazamiento de los puntos 2, 3 y 4, mientras que el desplazamiento del punto 5 produjo un ensanchamiento y acortamiento de la zona de la probóscide acompañado de la reducción de tamaño.

En el análisis de variación no uniforme (**Fig. N° 10**) se observó que los puntos nuevamente se desplazaron en forma inversa a excepción del punto 2 que no sufre alteración. En este caso la variación es menor que en el cambio uniforme, donde el punto uno sufre el mayor cambio y desplazamiento.

Posteriormente se realizó una comparación de los imagos machos y hembras utilizando el ocelo como primer punto homólogo. En el análisis de componentes principales (**Fig. N° 11**) no se observó diferencia entre machos y hembras. El análisis de predicción (**Tabla N° 2**) reafirmó lo planteado en el análisis anterior ya que el porcentaje de concordancia es casi de un 50 % por tanto no fue capaz de discriminar en un alto porcentaje entre los grupos por su similitud. Esto nuevamente fue corroborado por el análisis discriminante el cual no mostró diferencias en cuanto a conformación. Sin embargo existió una diferencia significativa en cuanto al tamaño (**Fig. N° 12**), siendo las hembras más grandes que los machos.

Es bien sabido que en triatominos el tamaño de la hembra es mayor al tamaño del macho y se ha demostrado que este dimorfismo sexual disminuye en los ejemplares adaptados al domicilio o al laboratorio, produciéndose una reducción general en el tamaño corporal (Dujardin, 1999b; Soto *et al.*, 2007; Ancca *et al.*, 2008). Por lo tanto se puede

observar una zona de intersección entre machos y hembras, dada por la disminución de este dimorfismo.

En estudios realizados en Triatominos se ha observado una reducción en el tamaño de la cabeza de los individuos, asociado a la alimentación y mantención de ellos en condiciones de laboratorio. Hembras de *Rhodnius domesticus* capturadas en el medio ambiente son significativamente diferentes a los machos en casi la mayoría de las mediciones realizadas en cabezas mediante morfometría tradicional, sin embargo, estas diferencias no se encontraron entre machos y hembras mantenidas en condiciones de laboratorio. Al realizar comparaciones entre machos obtenidos de poblaciones silvestres y de laboratorio no se observaron diferencias métricas significativas no así en hembras las que mostraron una drástica reducción en el tamaño en la gradiente del medio silvestre hacia el doméstico o laboratorio. En *Rhodnius proxilus* se presenta una situación similar ya que el dimorfismo sexual en poblaciones domésticas es poco marcado a diferencia de lo que se presenta en los individuos obtenidos desde el medio silvestre, donde el dimorfismo sexual es pronunciado. En *T. infestans* este dimorfismo se detectó solamente en las poblaciones silvestres, no así en los especímenes domésticos; y la reducción en el tamaño de la cabeza entre las los especímenes silvestres y domésticos fue nuevamente más marcado en las hembras. Estos cambios en el dimorfismo sexual fueron verificados en análisis multivariados y en todos los casos este dimorfismo se redujo en poblaciones domésticas o de laboratorio en comparación con las poblaciones silvestres, y estos cambios parecen estar dados principalmente debido a la reducción del tamaño de las hembras (Dujardin *et al.*, 1999b; Mojica *et al.*, 2005).

Se ha sugerido que este dimorfismo sexual más marcado en el ámbito silvestre se debe a que en condiciones naturales los insectos tienden a aumentar el lapso intergeneracional como resultado de varias succiones de sangre incompletas llevando al retraso de las sucesivas mudas. Se ha planteado además que la reducción del tamaño se debería al incremento de la sobrevivencia de los individuos más pequeños en el laboratorio; otras observaciones indican que el mismo fenómeno ocurre en individuos que habitan los domicilios debido a la misma razón. Algunos estudios indican que esta reducción del tamaño está dada principalmente por las hembras, lo que a su vez disminuye el dimorfismo sexual, acercando su talla a la de los machos. Posiblemente estas reducciones como se dijo anteriormente no sólo se deban a una mayor

sobrevivencia de los individuos más pequeños, sino también, al efecto de la densidad poblacional, donde cada individuo mantenido en laboratorio o que habita un domicilio tiene mejores condiciones para su desarrollo y por tanto mayor probabilidad de vivir, generando un aumento en el número de insectos, lo que llevará a una fuerte competencia por el alimento, obteniendo cada uno, una menor cantidad de sangre y desarrollando un menor tamaño; esto se vería agravado en las hembras ya que tienen un mayor requerimiento de alimento (Dujardin *et al.*, 1999b; Mojica *et al.*, 2005).

Estas observaciones son de mucha utilidad, ya que basándose en el dimorfismo sexual y la reducción del tamaño de los individuos, se podría establecer que poblaciones se encuentran en un período de transición y adaptación desde hábitats silvestres hacia los domésticos (Dujardin *et al.*, 1999b; Jaramillo *et al.*, 2002 Mojica *et al.*, 2005).

En el análisis de variación uniforme entre imagos (**Fig. Nº 13**) se evidenció que los puntos homólogos se desplazaron en forma inversa entre machos y hembras. Los puntos 1 y 2 mostraron el mayor desplazamiento, donde los machos tendieron a disminuir la distancia entre ojo y cuello mientras que en las hembras esta distancia se incrementó. Al analizar el resto de los puntos se observó que existe una contracción de la zona ocular y antecular a medida que aumenta el tamaño de los individuos (hembras) determinado por el desplazamiento de los puntos 2, 3 y 4, mientras que el desplazamiento del punto 5 produjo un ensanchamiento y acortamiento de la zona de la probóscide acompañado del aumento de tamaño de los individuos.

En el análisis de variación no uniforme (**Fig. Nº 14**) los puntos nuevamente se desplazaron en forma inversa a excepción del punto 5. En este caso la variación fue mayor que en el cambio uniforme, donde los puntos 2 y 3 sufren el mayor cambio y desplazamiento.

El análisis comparativo de las ninfas V estadio y los imagos machos, no arrojó diferencias en el análisis de componentes principales (**Fig. Nº 15**) ni en el análisis discriminante. El análisis de predicción por categoría (**Tabla Nº 3**) mostró que existe un mayor porcentaje de concordancia con respecto a cada categoría clasificándolos en forma correcta sobre un 50 %. Esto indica que si bien hay similitudes en las conformaciones es capaz de clasificar en su respectivo grupo, generándose una zona intermedia donde las

ninfas de quinto estadio se encuentran en proceso de transformación hacia los estadios adultos. Esto es más evidente en el análisis de tamaño (**Fig. N° 16**) donde existieron diferencias importantes de los imagos machos con respecto a las ninfas, siendo estas últimas más pequeñas. Sin embargo aquí también se puede observar una leve intersección entre los grupos dados por valores similares de ctr.

En el análisis de variación uniforme entre imagos machos y ninfas de V estadio (**Fig. N° 17**) los puntos homólogos se desplazaron en forma inversa entre los grupos. Los puntos 1 y 2 mostraron el mayor desplazamiento, en el cual los machos tendieron a disminuir la distancia entre ojo y cuello mientras que las ninfas aumentaron esta distancia. En el desplazamiento del resto de los puntos se observó que hubo una contracción de la zona ocular y antecular a medida que aumentaba el tamaño de los individuos (machos) determinado por el desplazamiento de los puntos 2, 3 y 4, mientras que el desplazamiento del punto 5 produjo un ensanchamiento y acortamiento de la zona de la probóscide acompañado de la disminución del tamaño de los ejemplares.

En el análisis de variación no uniforme (**Fig. N° 18**) se observa que los puntos nuevamente se desplazaron en forma inversa a excepción del punto 1 que no sufrió modificación. La variación fue similar al cambio uniforme, pero en este caso los puntos que sufrieron el mayor cambio y desplazamiento, correspondieron al 2 y 3.

En el análisis comparativo de ninfas V estadio e imagos hembras se evidenció una situación similar a la anterior donde el análisis de componentes principales (**Fig. N° 19**) y el análisis discriminante no mostraron diferencias importantes. Lo anterior fue corroborado por el análisis de predicción donde los estadios ninfales y las hembras concordaron respectivamente en un 50 % con su predicción. En cuanto al análisis de tamaño (**Fig. N° 20**) se evidenció una clara diferencia entre los grupos siendo las hembras de mayor tamaño sin existir, como lo observado en la comparación realizada con los machos, una zona de intersección entre ellos.

En el análisis de variación uniforme (**Fig. N° 21**) los puntos homólogos se desplazaron en forma inversa entre imagos hembras y ninfas. Los puntos 1 y 2 mostraron el mayor desplazamiento en ambos grupos, mientras que en las hembras se sumó el punto 5. Las hembras tendieron a disminuir la distancia entre ojo y cuello mientras que en

las ninfas esta distancia se incrementó. Al analizar el resto de los puntos se observó que existió una contracción de la zona ocular y anteoocular a medida que disminuyó el tamaño de los individuos (ninfas) determinado por el desplazamiento de los puntos 2, 3 y 4, mientras que el desplazamiento del punto 5 produjo un ensanchamiento y acortamiento de la zona de la probóscide acompañado de la disminución del tamaño de los individuos.

El análisis de variación no uniforme (**Fig. N° 22**) mostró que los puntos nuevamente se desplazan en forma inversa. En este caso la variación es similar al cambio uniforme, siendo en este caso los puntos 2 y 3 los que presentan la mayor variación.

En especies como *Rhodnius proxilus* y *Triatoma maculata* se han encontrado diferencias significativas entre machos y hembras de grupos domésticos, presentándose dimorfismo sexual basado en análisis comparativos de tamaño y conformación de alas y cabeza mediante morfometría geométrica. Lo mismo ocurre con *Triatoma dimidiata*, donde se presentó dimorfismo marcado basado en estudios de tamaño y conformación de alas, sin embargo, el análisis de cabezas no mostró diferencias significativas entre machos y hembras con relación al tamaño, pero si en relación a la conformación. Esto nos indica que dependiendo de la especie y de la estructura que se tome para realizar los análisis, los resultados pueden variar mostrando diferencias significativas de tamaño y/o conformación que permitan separar o agrupar a los individuos (Mojica *et al.*, 2005).

En estudios realizados en *Panstrongylus geniculatus* en condiciones de laboratorio se observó que el tamaño isométrico de la cabeza disminuyó tanto en hembras como machos obtenidos en el medio silvestre, cuando estos fueron adaptados a condiciones de laboratorio (domiciliar), este descenso se estabilizó luego de la segunda generación. Lo mismo ocurrió con el tamaño de las alas, pero en este caso continuó su descenso más allá de la quinta generación. Esto puede explicarse por las limitaciones para cambiar de una estructura como la cabeza, la cual posee órganos vitales, mientras que las alas no son de vital importancia para los Triatominos en laboratorio (Jaramillo *et al.*, 2002).

En este mismo estudio el dimorfismo sexual fue significativo en todas las generaciones estudiadas, mediante la comparación del tamaño isométrico tanto de cabezas como alas, sin embargo en el análisis de componentes principales de alas y cabezas no se presentaron diferencias significativas en las generaciones desarrolladas en

laboratorio. Se evidenció una mayor diferencia entre las generaciones de adultos tanto machos como hembras mediante la comparación de alas, siendo estas diferencias aún mayores cuando se compararon con individuos capturados en la naturaleza. En cambio cuando se realizaron estas comparaciones utilizando cabezas la capacidad de discriminar fue menor, encontrándose mayores similitudes, sin embargo al igual que las alas existió una diferencia importante cuando estas fueron comparadas con cabezas de individuos capturados en el medio silvestre. En nuestro estudio sólo se utilizaron especímenes mantenidos en condiciones de laboratorio, por lo tanto las variaciones generadas, al igual que el estudio anterior, son mínimas, dado que es una población genéticamente estable, donde no se ha producido el ingreso de otros individuos que aporten a generar diferencias en esta población. Además, estos triatominos han sido sometidos a temperatura y humedad constantes y sin privaciones de tipo alimenticias, lo que contribuye a que los caracteres influenciados por el ambiente no sean evidenciados por los análisis realizados (Jaramillo *et al.*, 2002).

Finalmente, mediante este estudio, se pudo establecer las características morfológicas más relevantes de los diferentes estadios de *T. infestans* en condiciones de laboratorio, generando un referente con el cual realizar comparaciones futuras con especímenes silvestres.

Mediante los análisis realizados se pudo establecer que las ninfas de IV estadio presentaron una baja predicción, por lo cual no se recomienda utilizarlas o incluirlas en los estudios mediante esta técnica, ya que al no clasificar correctamente en su categoría, podrían influenciar fuertemente en las características de los grupos generados, por ejemplo en la variable tamaño. A diferencia de lo anterior, las ninfas de V estadio entregaron una mayor información, ya que fueron clasificadas en un mayor porcentaje dentro de su categoría, mostrando cambios más marcados que permiten diferenciarlos de los adultos, generando así, una imagen de transición entre el estadio ninfal y el futuro adulto. Además, fue posible corroborar la utilidad del ocelo como punto utilizado en otros estudios, tanto de morfometría geométrica, como morfometría tradicional, siendo de gran utilidad en la determinación en las características de los individuos. También fue posible determinar la utilidad del punto de unión entre cuello y cabeza como punto homólogo, el cual permite comparar los estadios ninfales con los adultos. En conclusión el análisis mediante morfometría geométrica de cabezas de *T. Infestans* es una herramienta útil para

la caracterización y clasificación de los individuos y sus diferentes estadios, siendo un aporte más en el estudio del origen y la dinámica de las poblaciones.

VI.- CONCLUSIONES

- No hay diferencia en cuanto a conformación entre los individuos mediante el análisis de componentes principales.
- No hay diferencia significativa en cuanto a la conformación entre los grupos mediante el análisis discriminante.
- Se observó diferencia significativa en cuanto al tamaño de los diferentes estadios de desarrollo. Este aumenta del estadio ninfal IV hacia el estadio adulto. Los puntos homólogos que presentaron mayor variación fueron los del cuello y ojo.
- Se evidenció dimorfismo sexual mediante los análisis de tamaño, siendo la hembra más grande que el macho. La variación principal estuvo dada por los puntos homólogos 2 y 3 (ojo).
- El estadio ninfal IV, no presentó un grado importante de discriminación en este estudio, por lo cual, se recomienda utilizar el estadio V.
- Se estableció la utilidad de la intersección del cuello y la cabeza como punto homólogo en la comparación morfométrica de estadios ninfales e imagos.
- Se corroboró la utilidad del ocelo como punto utilizado en estudios de morfometría geométrica y tradicional.

VII.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- ADAMS, D.; RHOLF, J.; SLICE, D. 2004. Geometric Morphometrics: Ten Years of Progress Following the Revolution. *Ital. J. Zool.*, **71**:5-16.
- 2.- ANCCA, J.; PINTO, J.; VEGA, S.; CACERES, A.; NAQUIRA, C. 2008. Características morfométricas, genéticas, alimenticias y vectoriales de *Panstrongylus herreri* procedentes de Jaén (Cajamarca) y Cajaruro (Amazonas), Peru. *Peru Med. Exp. Salud Pública* 25 (1): 17-25.
- 3.- APT, W.; HEITMAN, I.; JERCIC, M.; JOFRÉ, L.; MUÑOZ, P.; NOEMÍ, I.; SAN MARTIN, A.; SAPUNAR, J.; TORRES, M.; ZULANTAY, I. 2008. Guías Clínicas de la Enfermedad de Chagas. Comité de Parasitología, Departamento de Enfermedades Emergentes y Re-emergentes, MINSAL. *Rev. Chil. Infect.* 25 (3): 190-193.
- 4.- ATIAS, A. Y APT, W. 1994. Enfermedad de Chagas. **In:** Atías A. *Parasitología Clínica*. 3ª edición. Editorial Mediterráneo. Santiago de Chile. pp. 255-268.
- 5.- BACIGALUPO, A.; SEGURA, J.; GARCÍA, A.; HIDALGO, J.; GALUPPO, S.; CATTAN, PE. 2006. Primer hallazgo de vectores de la enfermedad de Chagas asociados a matorrales silvestres en la Región Metropolitana, Chile. *Rev. Méd. Chile* 134: 1230-1236.
- 6.- BAR, M.; DAMBORSKY, M.; OSCHEROV, E.; WISNIVESKY-COLLI, C. 2005. Epidemiología de la enfermedad de Chagas en San Roque, Corrientes. Infestación por triatomos y seroprevalencia humana. *MEDICINA (Buenos Aires)* 65: 97-102.
- 7.- BREWER, M.; GARAY, M.; GORLA, D.; MURUA, F.; FAVOT, R. 1981. Caracterización de los estadios ninfales del género *Triatoma laporte* 1833. I. *Triatoma infestans* Klug, 1834 (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Soc. Ent. Arg.* 40 : 91-102.
- 8.- BRISOLA, C. 2001. Hemípteros (Triatomíneos e Cimicídeos). **In:** *Entomología Médica e Veterinária*. Editorial Atheneu. São Paulo, Brasil. pp. 239-256.
- 9.- BOOKSTEIN, F. 1990a. Introduction to methods for landmark data. **In:** *Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshops*. F. J. Rohlf and F.L. Bookstein. The University of Michigan Museum of Zoology. Special publication N°2.
- 10.- BOOKSTEIN, F. 1990b. Higher- order features of shape change for landmark data. **In:** *Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshops*. F. J. Rohlf and F.L. Bookstein. The University of Michigan Museum of Zoology. Special publication N°2.
- 11.- BOTTO-MAHAN, C.; ORTIZ, S.; ROZAS, M.; CATTAN, P.; SOLARI, A. 2005. DNA evidence of *Trypanosoma cruzi* in the Chilean wild vector *Mepraia spinolai* (Hemiptera: Reduviidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Vol. 100 (5): 237-239.
- 12.- BOTTO - MAHAN, C.; SEPULVEDA, M.; VIDAL, M.; ACUÑA-RETAMAR, M.; ORTIZ, S.; SOLARI, A. 2008. *Trypanosoma cruzi* infection in the sylvatic kissing bug *Mepraia gajardoi* from the Chilean Southern Pacific Ocean coast. *Act. Trop.* 105: 166- 169.

- 13.- BUSTAMANTE, D.M.; MONROY, C.; MENES, M.; RODAS, A.; SALAZAR-SCHETTINO, M.P.; ROJAS, G.; PINTO, N.; GUHL, F.; DUJARDIN, J.P. 2004. Metric variation among geographic populations of the Chagas vector *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) and related species. J. Med. Entomol. 41 (3): 296-301.
- 14.- CALDERON, G.; JUAREZ, M.P.; MONROY, M.C.; MENES, M.; BUSTAMANTE, D.M.; MIJAILOVSKY, S. 2005. Intraspecific variability in *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) populations from Guatemala based on chemical and morphometric analyses. J. Med. Entomol. 42 (1): 29-35.
- 15.- CAMPOS, R.; BOTTO – MAHAN, C.; ORTIZ, S.; ACUÑA, M.; CATTAN, P.; SOLARI, A. 2007. Short report: *Trypanosoma cruzi* detection in blood by xenodiagnosis and polymerase chain reaction in the wild rodent *Octodon degus*. Am. J. Trop. Med. Hyg. 76(2): 324-326.
- 16.- CANALS, M.; SOLIS, R.; TAPIA, C.; EHRENFELD, M.; CATTAN, P. 1999. Comparison of some behavioral and physiological feeding parameters of *Triatoma infestans* Klug, 1834 and *Mepraia spinolai* Porter, 1934, vectors of Chagas Disease in Chile. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Río de Janeiro 94 (5): 687-692.
- 17.- CANALS, M.; EHRENFELD, H.; CATTAN, P. 2000. Situación de *Mepraia spinolai*, vector silvestre de la enfermedad de Chagas en Chile, en relación con otros vectores desde la perspectiva de sus fuentes de alimentación. Rev. Med. Chile 128 (10).
- 18.- CARVAJAL, A.; ORELLANA, J.; WIGANT, W.; BORQUEZ, C.; LOBATO, I. 2007. Prevalencia de triatominos infectados con *Trypanosoma cruzi* en el litoral de la ciudad de Arica. Parasitol. Latinoam. 62: 118-121.
- 19.- CRISTI, D. 2001. Caracterización Fenotípica por medio de morfometría geométrica de las alas de *Triatoma infestans* en el área endémica de la enfermedad de Chagas en Chile. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. de Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 115 p.
- 20.- DUJARDIN, J.P.; PANZERA, P.; SCHOFIELD, C.J. 1999a. Triatominae as a model of morphological plasticity under ecological pressure. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 94: 223-228.
- 21.- DUJARDIN, J.P.; STEINDEL, M.; CHAVEZ, T.; MACHANE, M.; SCHOFIELD, C.J. 1999b. Changes in the sexual dimorphism of Triatominae in the transition from natural to artificial habitats. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Río de Janeiro 94 (4): 565-569.
- 22.- DUJARDIN, J.P. 2000. Short spanish introduction to Morphometrics I.M.O. [en línea]. **In:** Morphometrics in Medical Entomology, Institut de recherche pour le développement. < <http://www.mpl.ird.fr/morphometrics/> >. [consulta: 23-04-2008].

- 23.- FELICIANGELI, M.; SANCHEZ- MARTIN, M.; MARRERO, R.; DAVIES, C.; DUJARDIN, J.P. 2007. Morphometric evidence for a possible role of *Rhodnius prolixus* from palm trees in house re-infestation in the State of Barinas (Venezuela). *Act. Trop.* 101: 169- 177.
- 24.- FRIAS, D. 2004. Formación de nuevas especies en los géneros *Mepraia* (Hemiptera: Reduviidae) y *Rhagoletis* (Diptera: Tephritidae) y su relación con modificaciones de los patrones heterocromáticos y mutaciones sistémicas. Informes de investigación N° 5. [en línea] <http://www.umce.cl/investigacion/i_mas_i_d_frias.html > [consulta: 12-10-2008].
- 25.- GUMIEL, M.; CATALÁ, S.; NOIREAU, F.; ROJAS DE ARIAS, A.; GARCÍA, A.; DUJARDIN, J.P. 2003. Wing Geometry in *Triatoma infestans* (Klug) and *T. melanosoma* Martínez, Olmedo & Carcavallo (Hemiptera: Reduviidae). *Systematic Entomol.* 28:173-179.
- 26.- HENRÍQUEZ, C.; SEGURA, J.; ALVAREZ C.; NUÑEZ, E.; LORCA, M. 2007. Evaluación del impacto del programa de control de *Triatoma infestans* en la prevalencia serológica de *Trypanosoma cruzi* en caprinos de Til Til y Colina, R. M. Chile (Impact assessment control program *Triatoma infestans* in the prevalence of serological *Trypanosoma cruzi* in goats Til Til y Colina, R. M. Chile). *RECVET: 2007* Vol. II, N° 10. [en línea] <<http://www.veterinaria.org/revistas/recvet/n101007/100702.pdf> > [consulta: 21-01-2008].
- 27.- JARAMILLO, O.; CASTILLO, D.; WOLF, M. 2002. Geometric Morphometric differences between *Panstrongylus geniculatus* from field and laboratory. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Río de Janeiro* 97 (5): 667-673.
- 28.- JARAMILLO, N.; CALLE, D.; CARO-RIAÑO, H.; CALLE, J. 2008. Diferencias morfométricas asociadas a la distribución geográfica de *Rhodnius pallescens* provenientes de siete localidades de Colombia y Panamá. [en línea] <<http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/CD/dch-ca-inf-R-pallescens-4-6.pdf> > [consulta: 04-12-2008].
- 29.- LENT, H.; WYGODZINSKY, P. 1979. Revision of the triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease. *Bull. Am. Mus. Nat. His.* 163: 3.
- 30.- MAGALHAES DOS SANTOS, C.; JURBERG, J.; GALVAO, C.; DA SILVA, D.; RODRIGUEZ, J. 2003. Morphometric study of the genus *Panstrongylus* Berg, 1879 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 98 (7): 939-944.
- 31.- MOJICA, M.T.; AGUILERA, G.; PINTO, N.; GUHL, F. 2005. Morfometría geométrica aplicada a *Rhodnius prolixus*, *Triatoma dimidiata* y *Triatoma maculata*. **In:** VI reunión de la Iniciativa Andina para el control de la Enfermedad de Chagas. Bogotá, Colombia. 2-6 mayo.2005. < <http://cdiaec.uniandes.edu.co/capitulo%203.pdf>>. [consulta: 19-03-2009].
- 32.- NAQUIRA, C.; HUAPAYA, P.; ESPINOZA, Y.; VEGA, S. 2001. Enfermedad de Chagas. Ministerio de Salud del Perú, OGE, INS. Módulos Técnicos. Serie de Documentos Monográficos. 43 p.

- 33.- REY, L. 2001. Parasitología, Parásitos e Doenças Parasitárias do Homem nas Américas e na Africa. 3ª edición. Editorial Guanabara. Río de Janeiro, Brasil.
- 34.- REYES, H. 1994. Triatomínos y Cimicidos In: Atías A. Parasitología Clínica. 3ª edición. Editorial Mediterráneo. Santiago de Chile. Pág. 513-521.
- 35.- RHOLF, J. 2008. Thin-plate splines programs Tps Reg, Tps Rel, Tps Dig. <<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>>. [consulta: 23-04-2008].
- 36.- SCHACHTER – BROIDE, J.; DUJARDIN, J.P.; KITRON, U.; GURTLER, E. 2004. Spatial Structuring of *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae) Populations from Northwestern Argentina Using Wing Geometry Morphometry. J. Med. Entomol. 41: 643-649.
- 37.- SCHMUNIS, G.; PINTO, J.C. 2000. La reforma del sector salud, descentralización, prevención y control de enfermedades transmitidas por vectores. Cad. Saúde Pública, Río de Janeiro 16 (2):117-123.
- 38.- SOTO, V.; RODRIGUEZ, C.; BONFANTE-CABARCA, R.; ALDANA, E. 2007. Morfometría geométrica de *Triatoma maculata* (Erichson, 1848) de ambientes doméstico y peridomésticos, estado Lara, Venezuela. Bol. Mal. y Sal. Amb. 47 (2): 231-235.
- 39.- ZULANTAY, I.; BOZÁN, F.; SALAS, C.; ZILLERUELO, N.; OSUNA, A.; GIL, L.; RODRÍGUEZ, J.; ROJAS, A.; EGEEA, J. 2004. Enfermedad de Chagas crónica. Ausencia de *Triatoma infestans* intradomiciliario y persistencia de *Trypanosoma cruzi* circulante post-terapia. Parasitol. Latinoam. 59: 93 - 98.

VIII.- FIGURAS Y TABLAS

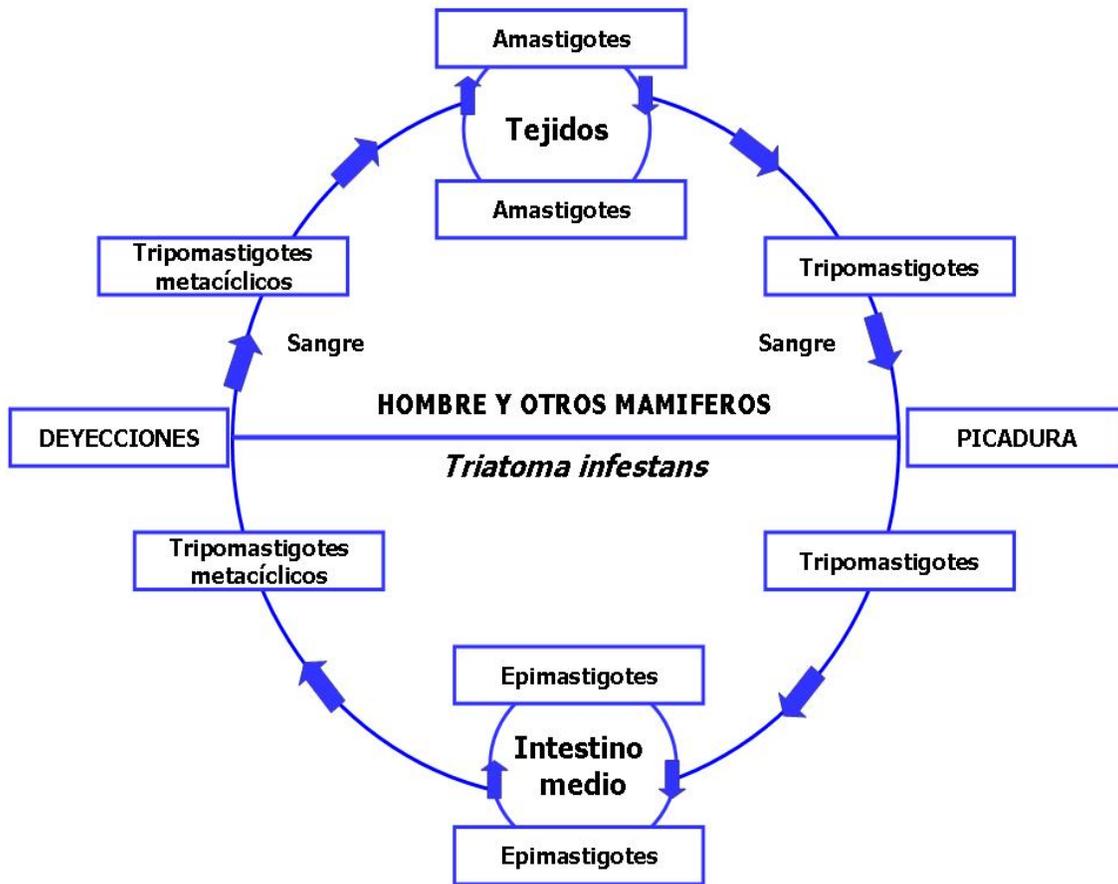


Figura Nº 1. Ciclo biológico de la Enfermedad de Chagas.

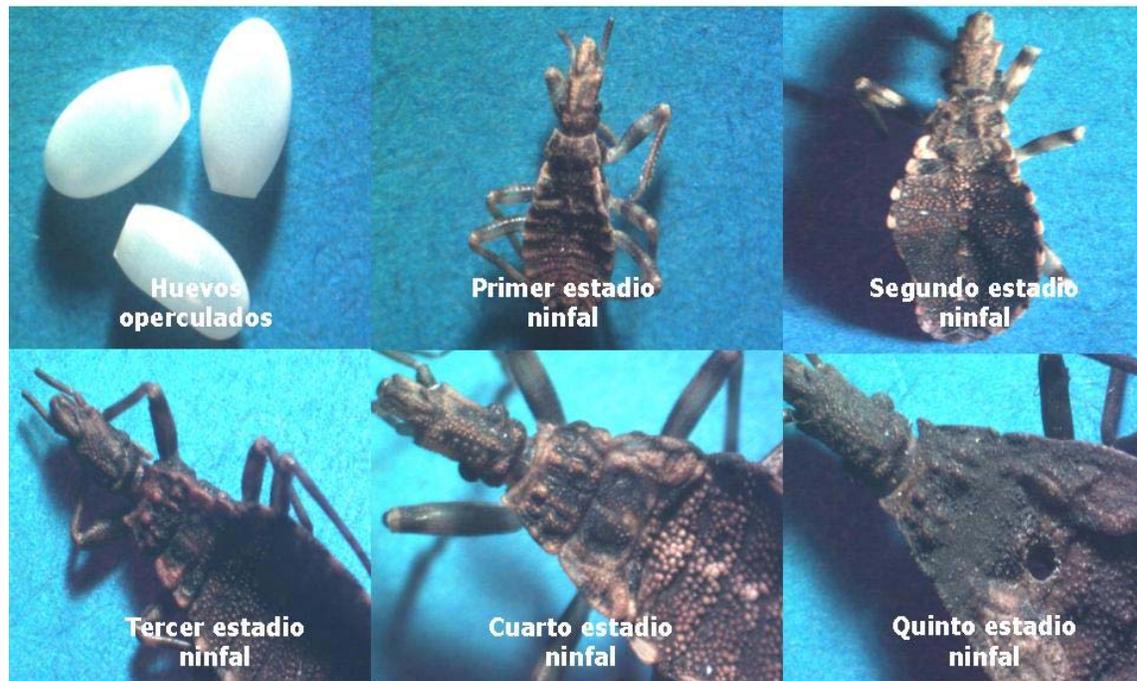


Figura N° 2. Huevos operculados y estadios ninfales de *T. infestans* en condiciones de laboratorio.



Figura Nº 3. Diferenciación por sexo y fotografía de ejemplar adulto de *T. infestans*.

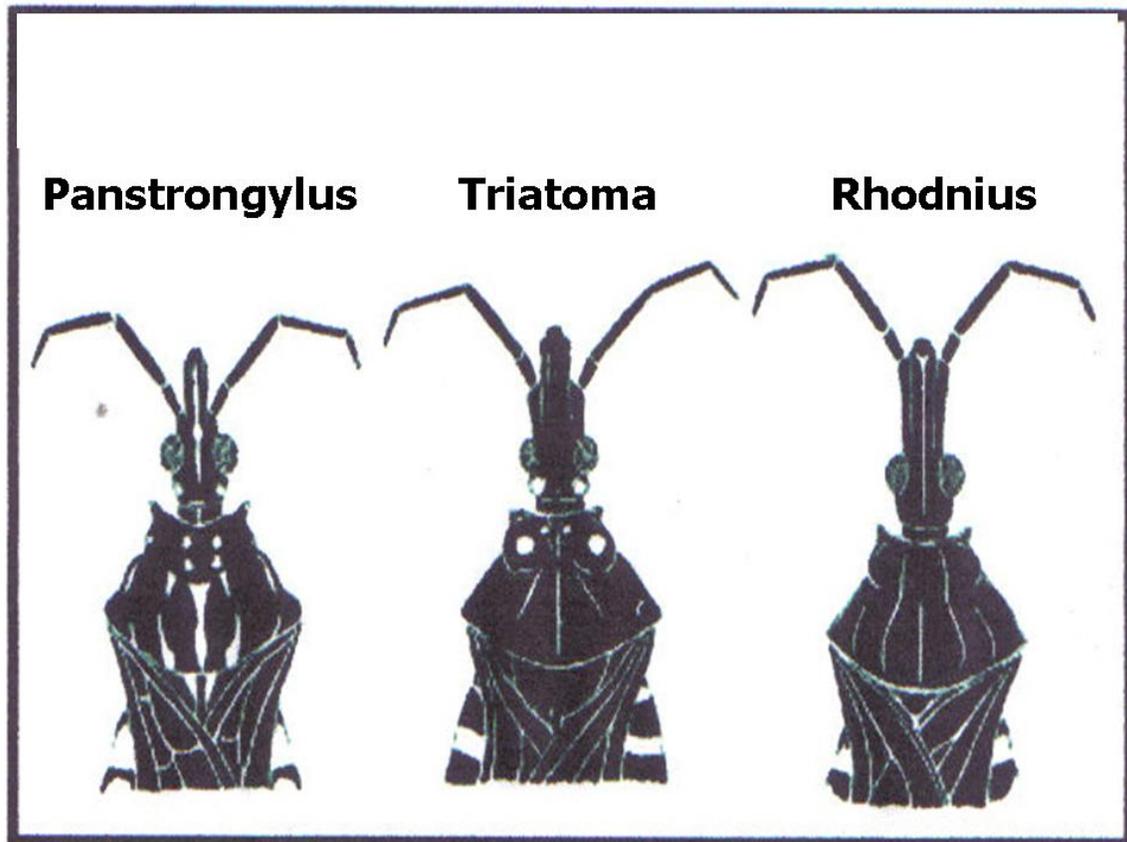


Figura Nº 4. Diferenciación de tres géneros de la sub-familia Triatominae.



Figura N° 5. Clave de diferenciación de estadios ninfales de *T. infestans* mediante pterotecas mesotonales torácicas.

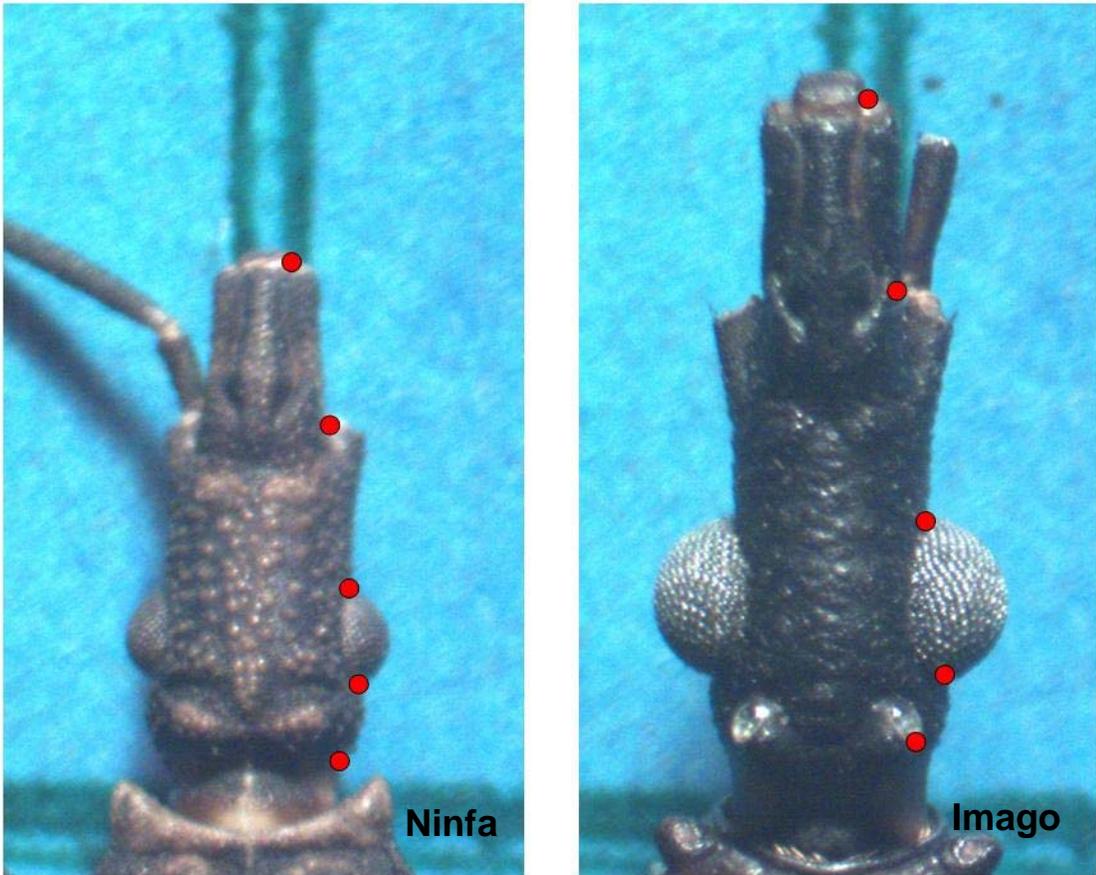
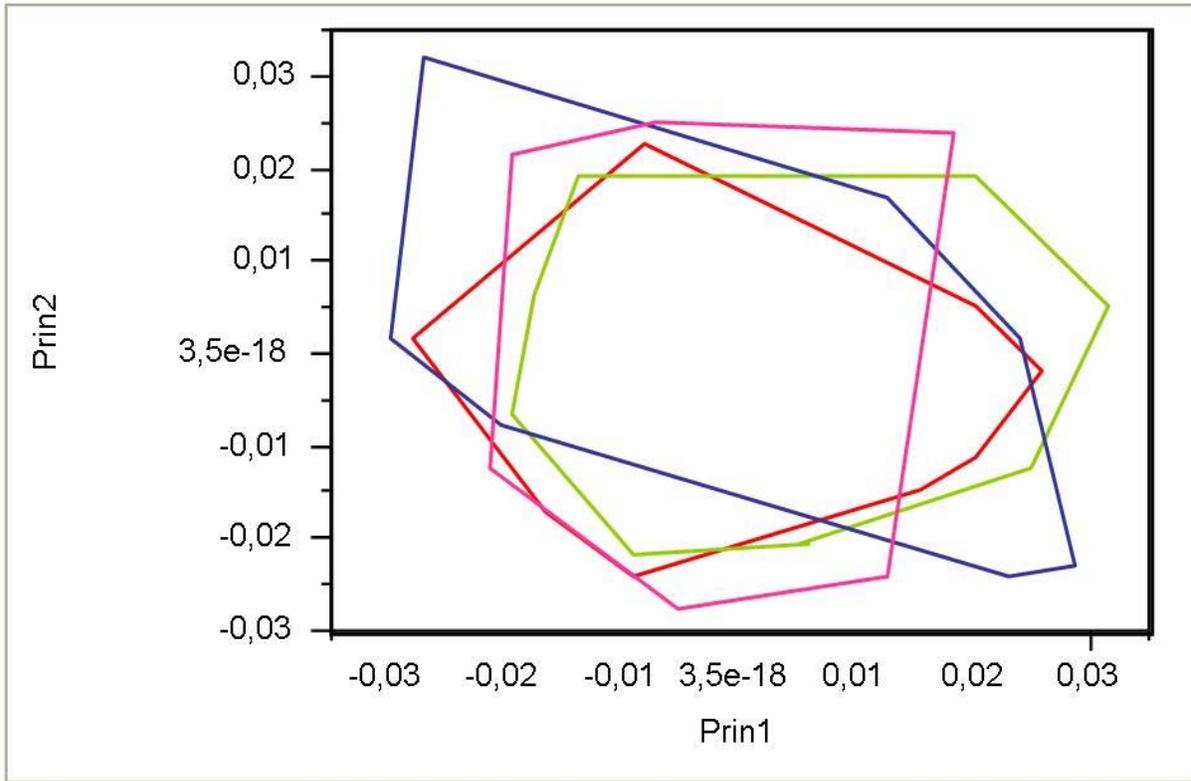


Figura N° 6. Landmarks de cabezas de adultos y ninfas de *T. infestans*. Los puntos homólogos presentados se enumeran del 1 al 5 desde abajo hacia arriba.



Prin1: Componente Principal 1

Imagos machos

Ninfa IV estadio

Prin2: Componente Principal 2

Imagos hembras

Ninfa V estadio

Figura Nº 7. Análisis de componentes principales de cabezas de ninfas de IV y V estadio e imagos machos y hembras de *T. infestans*. Análisis realizado utilizando el cuello como primer punto homólogo

Tabla Nº 1

Análisis de predicción de cabezas de ninfas de IV y V estadio e imagos machos y hembras de *T. infestans*

n %	H	M	N-IV	N-V	Total
H	14 28,00	17 34,00	2 4,00	17 34,00	50
M	10 20,00	13 26,00	4 8,00	23 46,00	50
N-IV	9 18,00	23 46,00	1 2,00	17 34,00	50
N-V	8 16,00	19 38,00	2 4,00	21 42,00	50
Total	41	72	9	78	200

H: Hembras

N-IV: ninfas IV estadio

M: Machos

N-V: ninfas V estadio

Nota: Análisis realizado utilizando el cuello como primer punto homólogo.

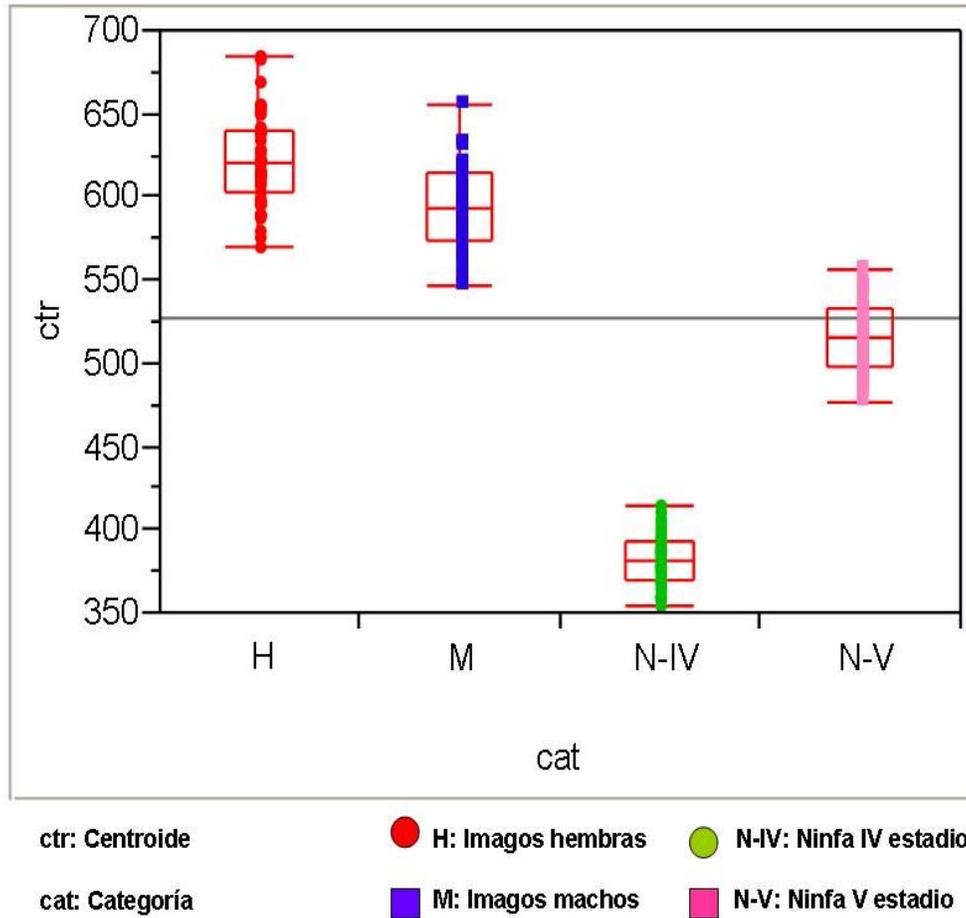


Figura Nº 8. Análisis de tamaño isométrico de cabezas de ninfas de IV y V estadio e imagos machos y hembras de *T. infestans*. Análisis realizado utilizando el cuello como primer punto homólogo ($p < 0.0001$).

Variación Uniforme

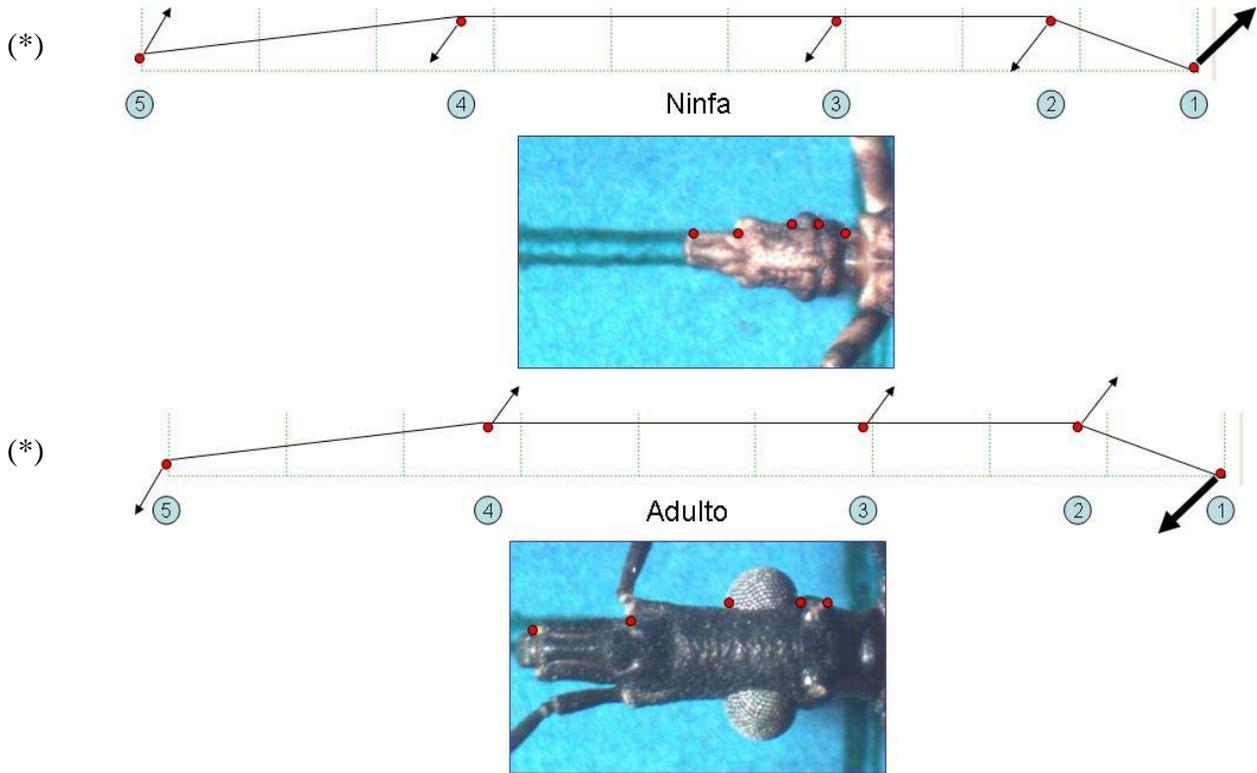
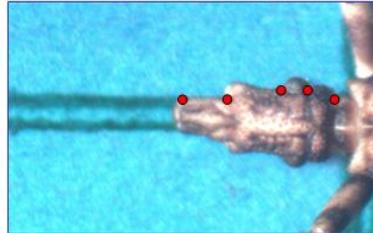
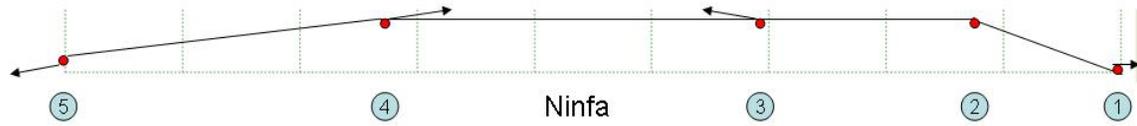


Figura Nº 9. Análisis de variación uniforme en relación al tamaño de cabezas de ninfas de IV y V estadio e imagos machos y hembras de *T. infestans*. Nota: Análisis realizado utilizando el cuello como primer punto homólogo. Las flechas indican el desplazamiento de los puntos homólogos según el estadio. Las flechas más gruesas indican la variación uniforme más importantes.

(*) Esquema de conformación de consenso 1, 2, 3, 4 y 5: Puntos homólogos

Variación No Uniforme

(*)



(*)

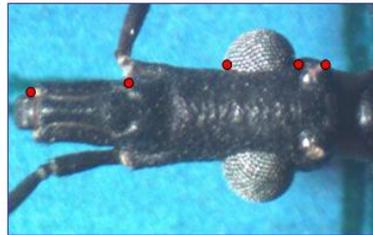
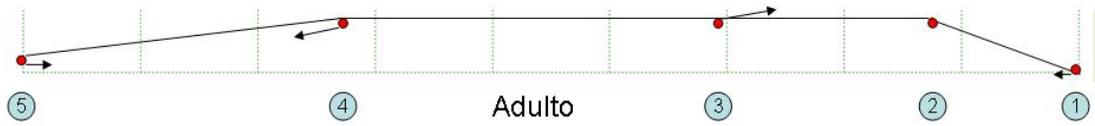
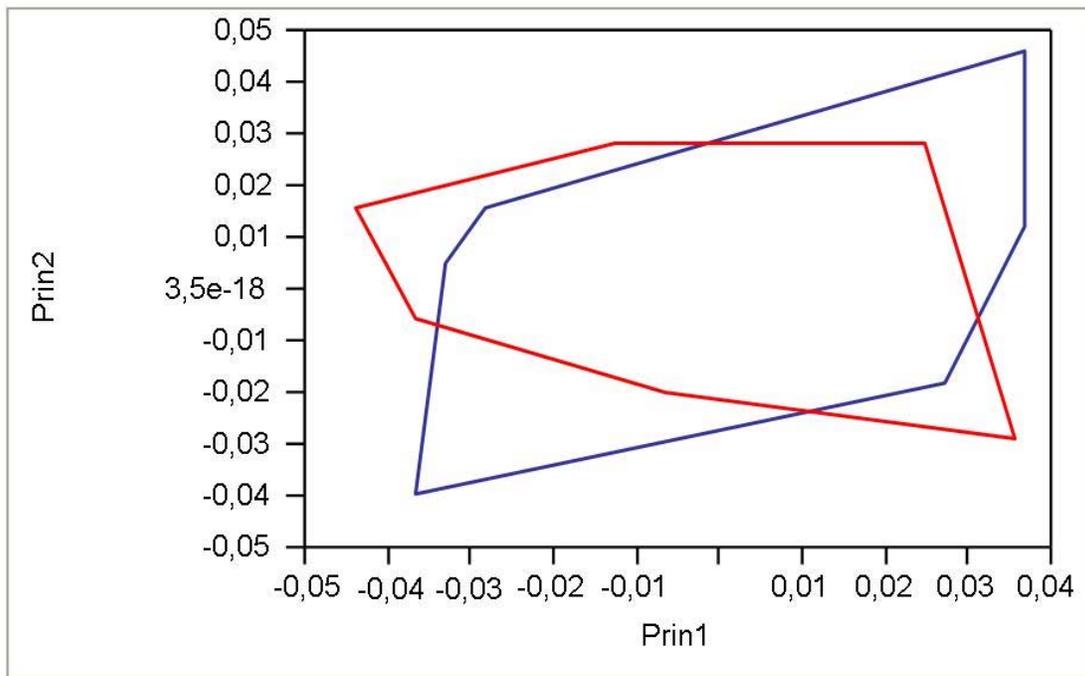


Figura Nº 10. Análisis de variación no uniforme en relación al tamaño de cabezas de ninfas de IV y V estadio e imagos machos y hembras de *T. infestans*. Análisis realizado utilizando el cuello como primer punto homólogo. Las flechas indican el desplazamiento de los puntos homólogos según el estadio.

(*) Esquema de conformación de consenso 1, 2, 3, 4 y 5: Puntos homólogos



Prin1: Componente Principal 1

— Imagos machos

Prin2: Componente Principal 2

— Imagos hembras

Figura N° 11. Análisis de componentes principales de cabezas de imagos machos y hembras de *T. infestans*. Análisis realizado utilizando el ocelo como primer punto homólogo.

Tabla Nº 2

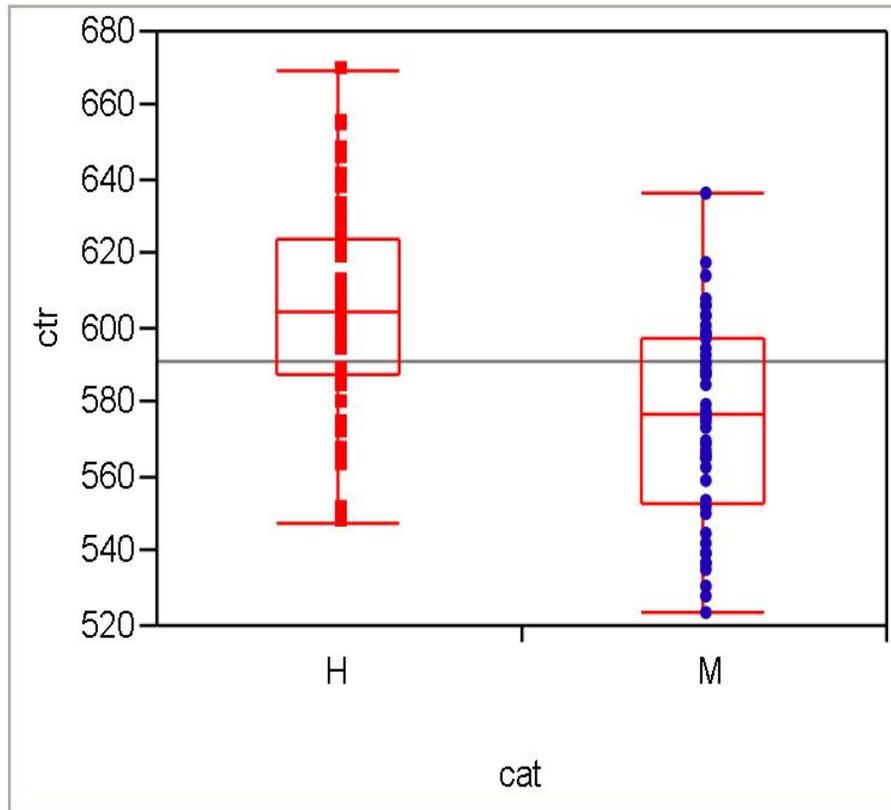
Análisis de predicción de imagos machos y hembras de *T. infestans*

n	H	M	Total
%			
H	23	27	50
	46,00	54,00	
M	28	22	50
	56,00	44,00	
Total	51	49	100

H: Hembras

M: Machos

Nota: Análisis realizado utilizando el ocelo como primer punto homólogo.



ctr: Centroide

cat: Categoría

■ H: Imagos hembras

● M: Imagos machos

Figura N° 12. Análisis de tamaño isométrico de cabezas de imagos machos y hembras de *T. infestans*. Análisis realizado utilizando el ocelo como primer punto homólogo ($p < 0.0001$).

Variación Uniforme

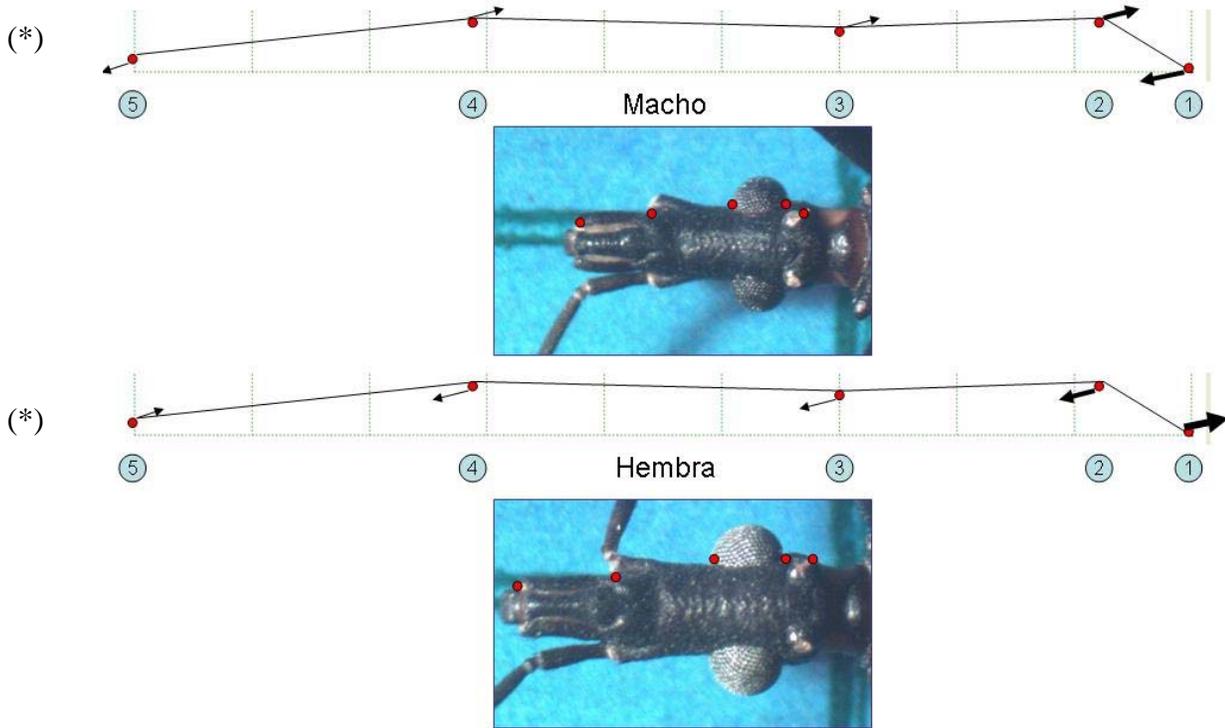


Figura N° 13. Análisis de variación uniforme en relación al tamaño de cabezas de imagos machos y hembras de *T. infestans*. Análisis realizado utilizando el ocelo como primer punto homólogo. Las flechas indican el desplazamiento de los puntos homólogos según el estadio. Las flechas más gruesas indican la variación uniforme más importante.

(*) Esquema de conformación de consenso 1, 2, 3, 4 y 5: Puntos homólogos

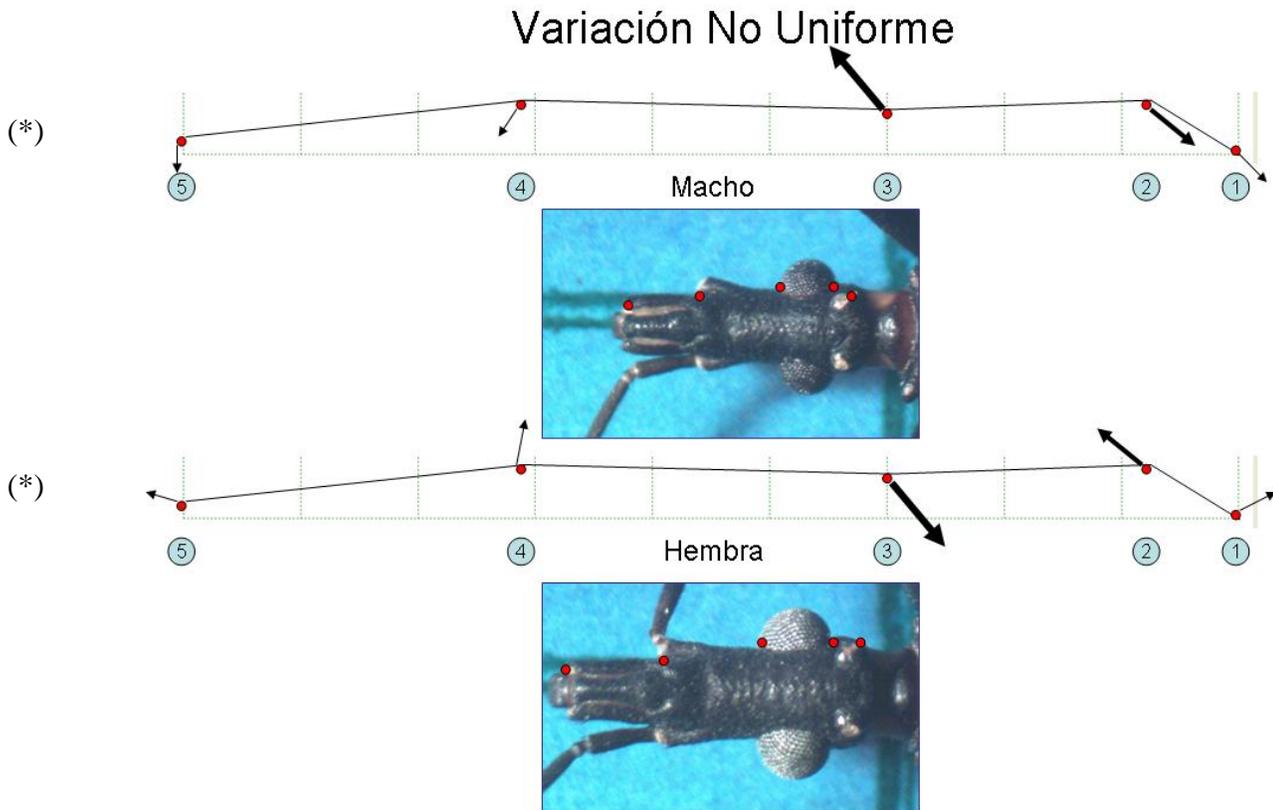
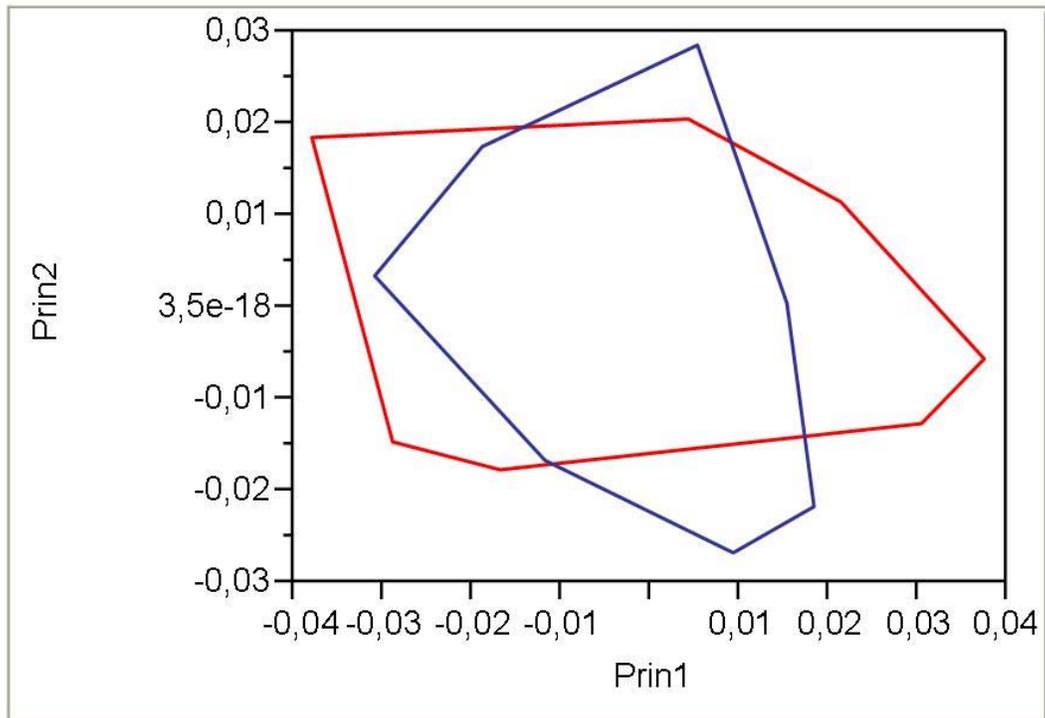


Figura N° 14. Análisis de variación no uniforme en relación al tamaño de cabezas de imagos machos y hembras de *T. infestans*. Análisis realizado utilizando el ocelo como primer punto homólogo. Las flechas indican el desplazamiento de los puntos homólogos según el estadio. Las flechas más gruesas indican la variación no uniforme más importante.

(*) Esquema de conformación de consenso 1, 2, 3, 4 y 5: Puntos homólogos



Prin1: Componente Principal 1

Imagos machos

Prin2: Componente Principal 2

Ninfa V estadio

Figura Nº 15. Análisis de componentes principales de cabezas de imagos machos y ninfas V estadio de *T. infestans*. Análisis realizado utilizando el cuello como primer punto homólogo.

Tabla Nº 3

Análisis de predicción de cabezas de imagos machos y ninfas V estadio de *T. infestans*

n	M	N-V	Total
%			
M	26	24	50
	52,00	48,00	
N-V	23	27	50
	46,00	54,00	
Total	49	51	100

M: Machos

N-V: ninfas V estadio

Nota: Análisis realizado utilizando el cuello como primer punto homólogo.

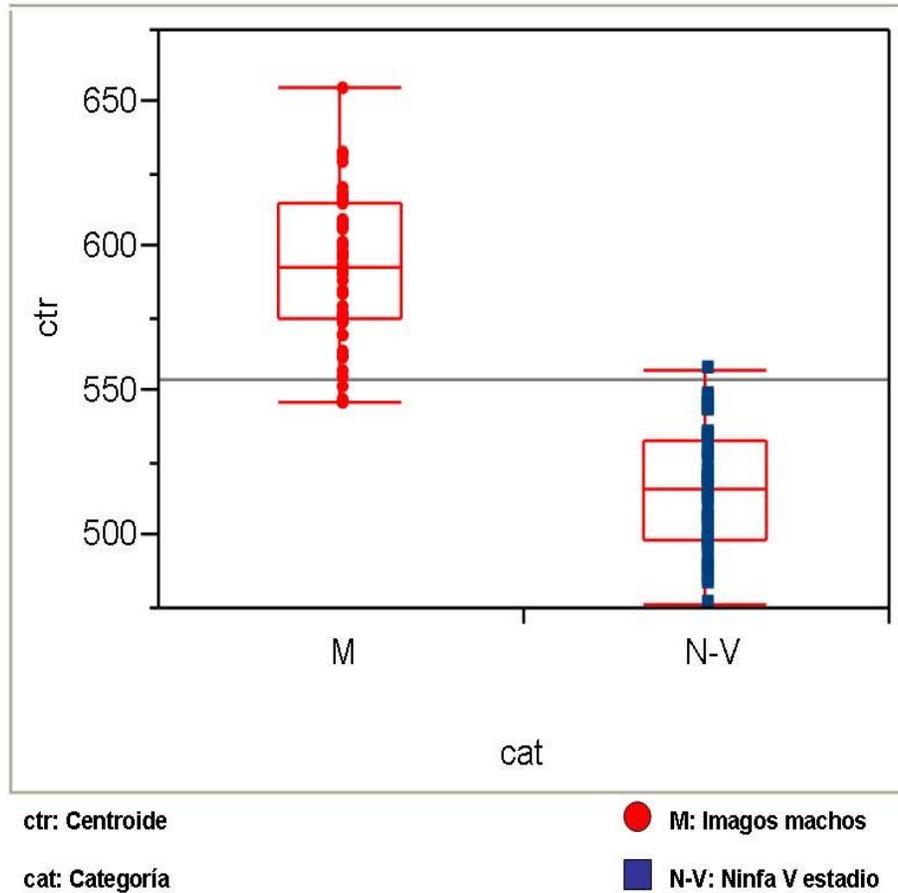


Figura N° 16. Análisis de tamaño isométrico de cabezas de imagos machos y ninfas V estadio de *T. infestans*. Análisis realizado utilizando el cuello como primer punto homólogo ($p < 0.0001$).

Variación Uniforme

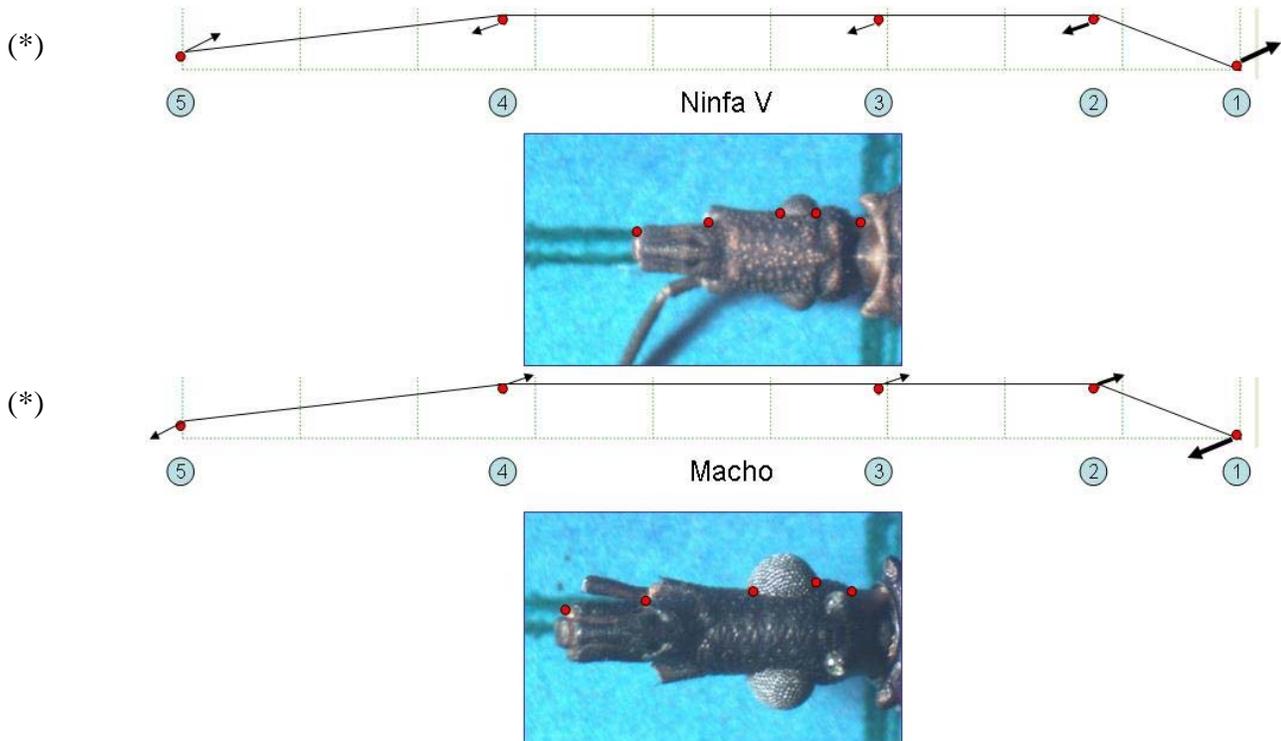
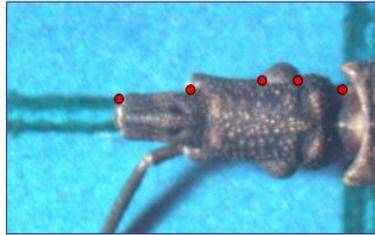


Figura N° 17. Análisis de variación uniforme en relación al tamaño de cabezas de imagos machos y ninfas V estadio de *T. infestans*. Análisis realizado utilizando el cuello como primer punto homólogo. Las flechas indican el desplazamiento de los puntos homólogos según el estadio. Las flechas más gruesas indican la variación uniforme más importante.

(*) Esquema de conformación de consenso 1, 2, 3, 4 y 5: Puntos homólogos

Variación No Uniforme

(*)



(*)

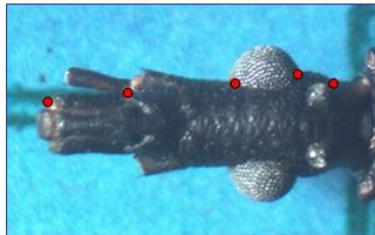
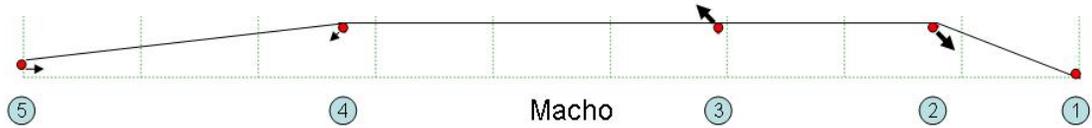
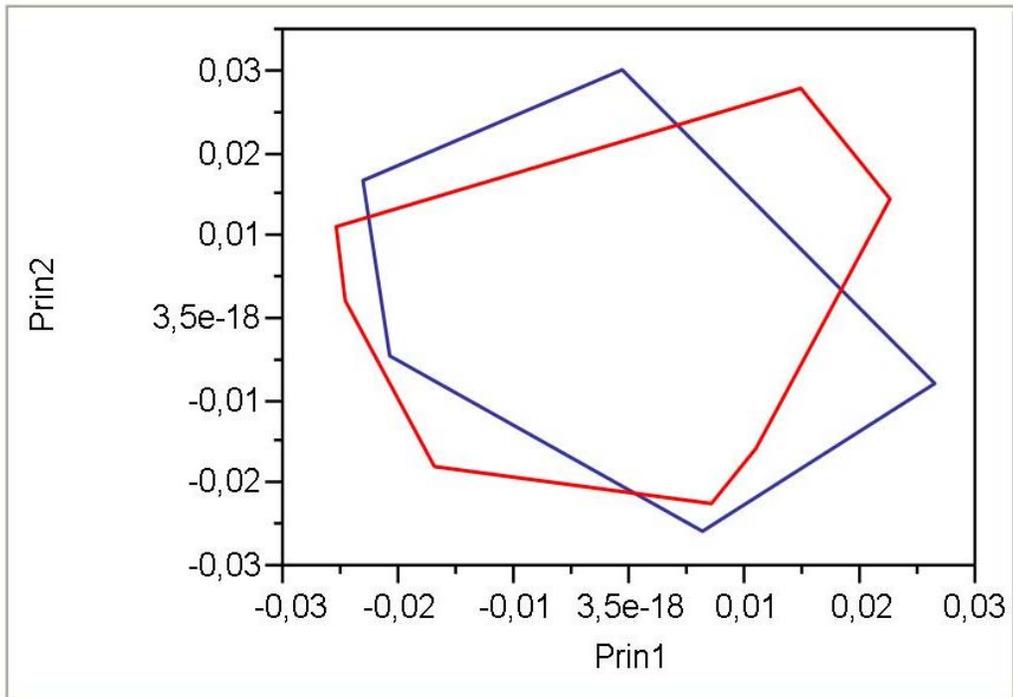


Figura Nº 18. Análisis de variación no uniforme en relación al tamaño de cabezas de imagos machos y ninfas V estadio de *T. infestans*. Análisis realizado utilizando el cuello como primer punto homólogo. Las flechas indican el desplazamiento de los puntos homólogos según el estadio. Las flechas más gruesas indican la variación no uniforme más importante.

(*) Esquema de conformación de consenso 1, 2, 3, 4 y 5: Puntos homólogos



Prin1: Componente Principal 1

— Imagos hembras

Prin2: Componente Principal 2

— Ninfa V estadio

Figura N° 19. Análisis de componentes principales de cabezas de imagos hembras y ninfas V estadio de *T. infestans*. Análisis realizado utilizando el cuello como primer punto homólogo.

Tabla Nº 4

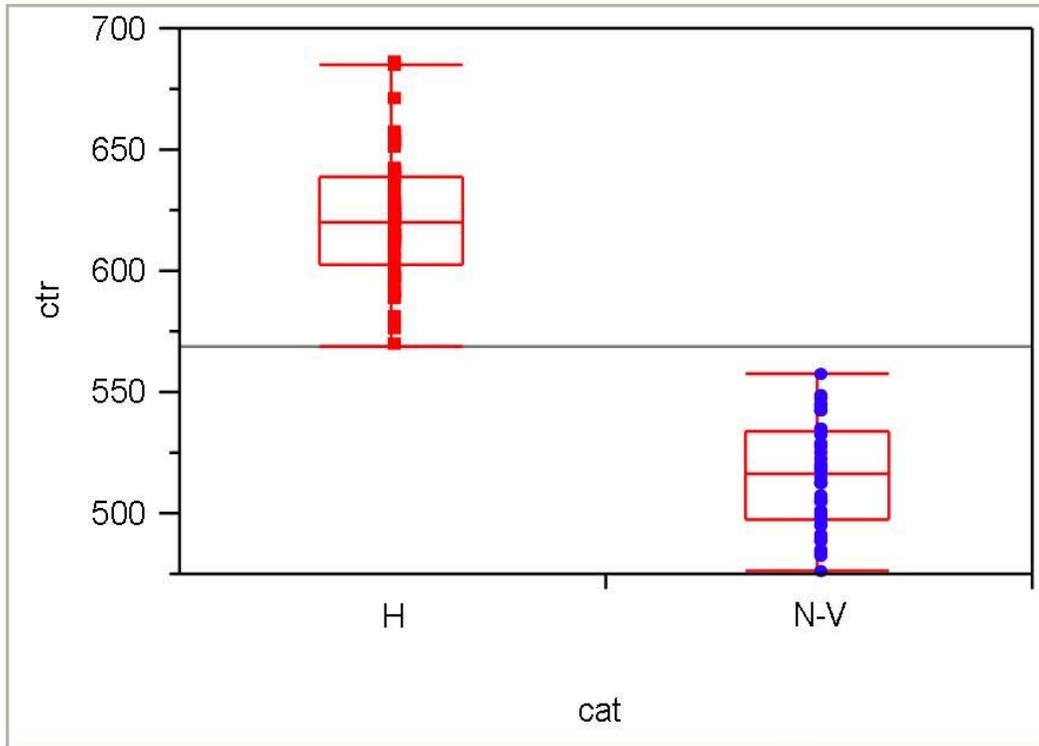
Análisis de predicción de cabezas de imagos hembras y ninfas V estadio de *T. infestans*

n %	H	N-V	Total
H	25 50,00	25 50,00	50
N-V	25 50,00	25 50,00	50
Total	50	50	100

H: Imagos hembras

N-V: ninfas V estadio

Nota: Análisis realizado utilizando el cuello como primer punto homólogo.



ctr: Centroide

cat: Categoría

■ H: Imagos hembras

● N-V: Ninfa V estadio

Figura Nº 20. Análisis de tamaño isométrico de cabezas de imagos hembras y ninfas de V estadio de *T. infestans*. Análisis realizado utilizando el cuello como primer punto homólogo ($p < 0.0001$).

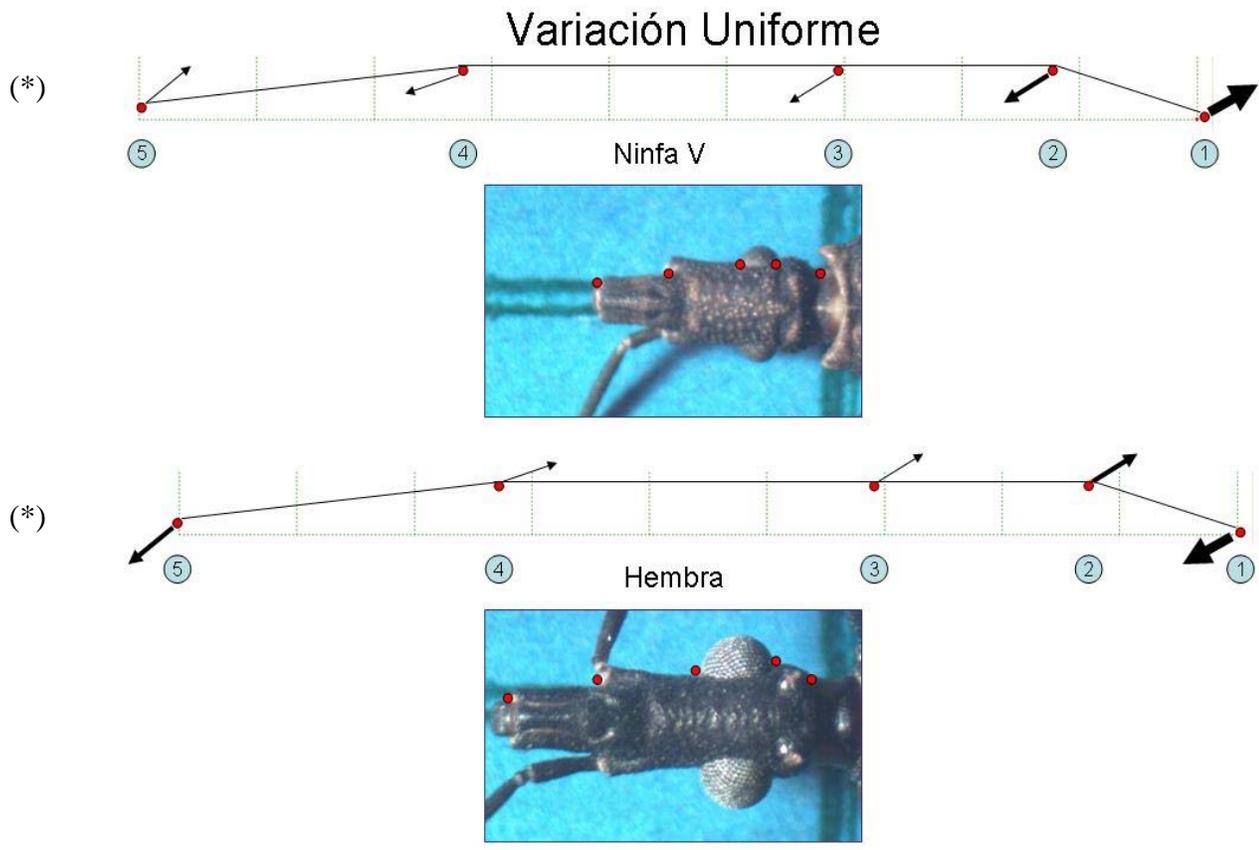


Figura N° 21. Análisis de variación uniforme en relación al tamaño de cabezas de ninfas de V estadio e imagos hembras de *T. infestans*. Análisis realizado utilizando el cuello como primer punto homólogo. Las flechas indican el desplazamiento de los puntos homólogos según el estadio. Las flechas más gruesas indican la variación uniforme más importante.

(*) Esquema de conformación de consenso 1, 2, 3, 4 y 5: Puntos homólogos

Variación No Uniforme

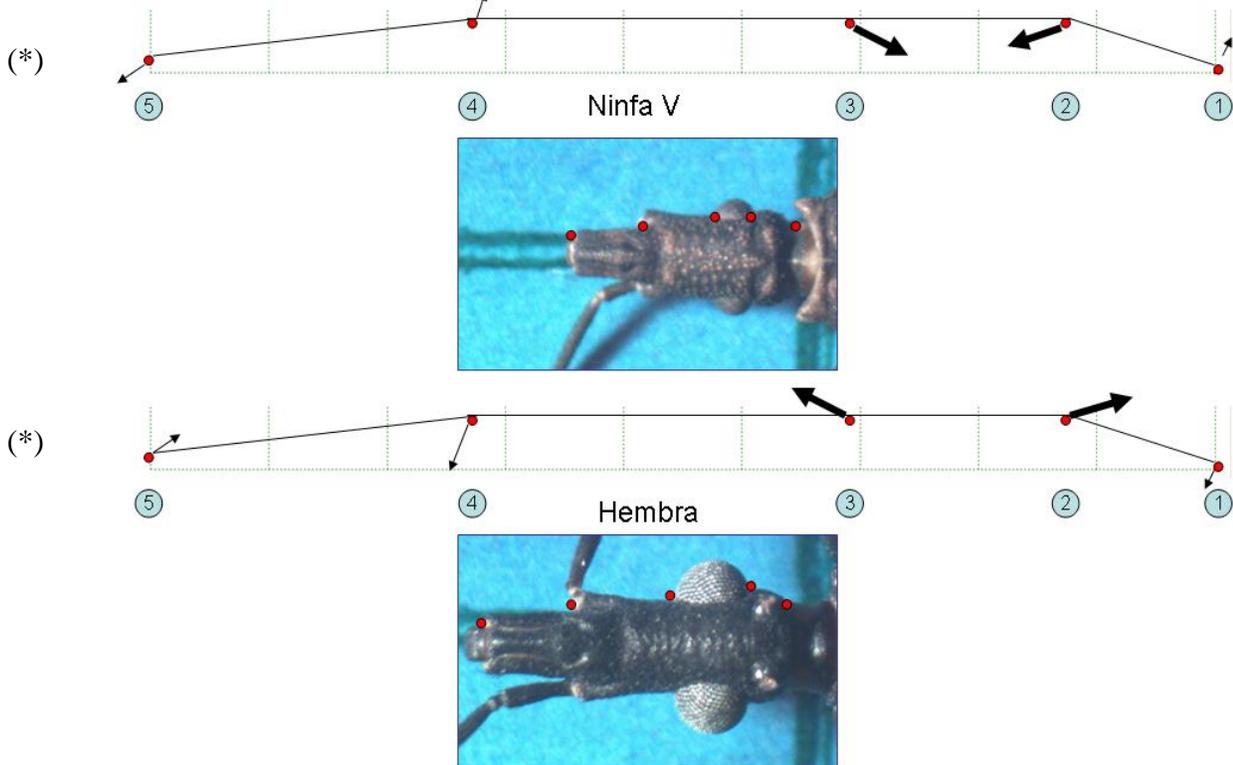


Figura Nº 22. Análisis de variación no uniforme en relación al tamaño de cabezas de ninfas de V estadio e imagos hembras de *T. infestans*. Análisis realizado utilizando el cuello como primer punto homólogo. Las flechas indican el desplazamiento de los puntos homólogos según el estadio. Las flechas más gruesas indican la variación no uniforme más importante.

(*) Esquema de conformación de consenso 1, 2, 3, 4 y 5: Puntos homólogos

