

00322

111

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE CIENCIAS

CARACTERIZACIÓN DE LA
DIVERSIDAD GENÉTICA DE INSECTOS
TRANSMISORES DE LA ENFERMEDAD
DE CHAGAS EN MÉXICO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A:
FERNANDO MARTÍNEZ HERNÁNDEZ



DIRECTOR DE TESIS:
DRA. BERTHA ESPINOZA GUTIÉRREZ



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

TESIS CON
FOJA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARACTERIZACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE INSECTOS TRANSMISORES DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN MÉXICO

TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO
DE BIÓLOGO

PRESENTA:
Fernando Martínez Hernández

TUTOR:
Dra. Bertha Espinoza Gutiérrez

El presente trabajo se realizó en el Departamento de Inmunología del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección de la Doctora Bertha Espinoza Gutiérrez. Y con apoyo del programa PAPIIT de DGAPA de la U.N.A.M. con número de proyecto IN232399.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

DRA. MARÍA DE LOURDES ESTEVA PERALTA
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Facultad de Ciencias, U.N.A.M.
Presente.

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:
"Caracterización de la Diversidad Genética de Insectos Transmisores
de la Enfermedad de Chagas en México"

Realizado por el pasante **Fernando Martínez Hernández**
con número de cuenta **9754584-8**, quien cubrió los créditos de la carrera de:
Biología.

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

A t e n t a m e n t e

Director de Tesis
Propietario

Dra. Bertha Espinoza Gutiérrez

Propietario

M. en C. Yolanda Hortelano Moncada

Propietario

Dra. Laura Vargas Parada

Suplente

Dra. Clara Espitia Pinzón

Suplente

Dra. Ana Maria Cevallos Gaos

Consejo Departamental de Biología.

M. EN C. JUAN MANUEL RODRIGUEZ CHAVEZ

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE INVESTIGACIÓN
DE BIOLÓGICA

C

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Bertha Espinoza Gutiérrez por orientarme y apoyarme durante todo mi trabajo de tesis.

Al Dr. Ricardo Alejandro Aguilar, por su invaluable colaboración al haberme proporcionado el material biológico y bibliográfico que fue de gran utilidad para realizar esta tesis.

A la M. en C. Yolanda Hortelano Moncada por su ayudada en el procesamiento de los datos y su valiosa contribución como parte de mi comité de sinodales.

Al comité de sinodales integrado por: Dra. Clara Espitia Pinzón, Dra. Ana María Cevallos Gaos y la Dra. Laura Vargas Parada, por sus acertados comentarios y valiosas sugerencias.

Agradezco la beca que me otorgó el programa PAPIIT de DGAPA, proyecto IN232399.

DEDICATORIA

A mi papá Francisco y mi mamá Nelba por estar siempre a mi lado y enseñarme el verdadero valor de la vida.

A mis hermanos Ulises, Francisco, Magdalena, Benjamín, Patricia, Nelba y Arturo por haberme apoyado y darme ánimos para seguir caminando y concluir mis metas.

A mis sobrinos Héctor, Ariel, Kenia, Tania, Naha-hib, Yakin, Sebastián, Mariana, Kevin y Diego, por ser mi fuente de inspiración.

A mis amigos y compañeros de laboratorio: Guichdani, Edgar, Andrea, Ivone, Maria Luisa, Teresa, Sandro, Rosalía, Ignacio, Bety, Oralia, Gabriel y Elizabeth por ayudarme tanto experimental como anímicamente.

“Nada recibirás ya de segunda o tercera mano... ni mirarás a través de los ojos de los muertos ... ni te alimentarás de los espectros de los libros. Tampoco mirarás a través de mis ojos, ni aceptarás las cosas que te digo, escucharás lo que te llega de todas lados y lo tocarás tú mismo”

Walt Whitman

INDICE

	Páginas
I. Resumen	1
II. Introducción	2
II.1. Enfermedad de Chagas.....	3
II.2. Agente Etiológico.....	5
II.2.a. Ciclo de Vida.....	5
II.3. Transmisión.....	7
II.3.a. Infección por Triatómicos.....	7
II.3.b. Infección por Transfusión Sanguínea.....	7
II.3.c. Chagas Congénito y Neonatal.....	7
II.4. Manifestaciones y Patología en la Enfermedad de Chagas.....	8
II.4.a. Fase aguda.....	8
II.4.b. Fase crónica	
Fase Crónica Indeterminada o Asintomática.....	9
Fase Crónica Sintomática.....	9
II.5. El vector.....	9
II.5.a. Distribución.....	9
Latitud.....	9
Altitud.....	10

II.5.b. Riología.....	10
II.5.c. Especies de Triatóminos	12
II.5.d. Hábitos Alimenticios.....	13
II.6. Factores Climáticos.....	18
II.7. Infección de Triatóminos en México.....	19
II.8. Control Biológico del Vector.....	22
II.8.a. Viviendas.....	22
II.8.b. Predadores de Triatómicos.....	23
II.8.c. Insecticidas.....	23
II.8.d. Control Biológico con el uso de Bacterias Transgénicas.....	24
II.8.e. Control Biológico con el uso de Virus.....	25
II.9. Clasificación Taxonómica.....	25
II.9.a. Criterios de Identificación.....	25
II.9.b. Controversias en la clasificación.....	28
III. Justificación.....	30
IV. Objetivos.....	31
IV.1. Objetivo General.....	31
IV.2. Objetivos Específicos.....	31
V. Material y Métodos.....	32
V.1. Triatóminos.....	32
V.2. Extracción de Isoenzimas (Extracto crudo proteico).....	32
V.3. Condiciones electroforéticas y sistemas isoenzimáticos.....	33
V.4. Revelado de placas de acetato.....	33
V.5. Sistemas de análisis.....	34

V.6. Análisis Genético.....	34
V.6.a. Interpretación alélica de los zimograma	34
V.6.b. Polimorfismo Genético.....	36
V.6.c. Heterocigocidad.....	36
V.6.d. Equilibrio Hardy-Weinberg.....	37
V.6.e. Índice de Fijación F ó de Wright	37
V.6.f. Distancia genética de Nei.....	38
V.6.g. Fenograma.....	38
VI. Resultados.....	39
VI.1. Estudios isoenzimáticos.....	39
VI.2. Genotipos observados.....	39
VI.3. Frecuencias alélicas	42
VI.4. Polimorfismo y Heterocigocidad.....	43
VI.5 Endogamia.....	45
VI.6. Loci diagnóstico.....	46
VI.7. Distancias Genéticas de Nei y filogenia.....	48
VII. Discusión.....	50
VIII. Conclusiones.....	55
IX. Bibliografía.....	56
X. Anexos.....	66
Anexo 1. Volúmenes de solución del estabilizador isoenzimático empleado	
para las extracciones proteicas de los diferentes vectores analizados.....	66
Estabilizador enzimático.....	66
Anexo 2. Nombre, Abreviación y código de los sistemas isoenzimáticos.....	67

Reacciones isoenzimáticas para cada uno de los sistemas	67
Anexo 3. Condiciones electroforéticas para cada uno de los sistemas isoenzimáticos.....	68
Búfer III Shaw.....	68
Búfer I Shaw.....	68
Búfer III Kreutzer.....	69
Búfer HR.....	69
Anexo 4. Reactivos para sólidos para el revelado de la actividad isoenzimática.....	70
Soluciones líquidas empleadas para el revelado de los sistemas isoenzimáticos...	71
Anexo 5. Lecturas de genotipos para cada especie analizada.....	72
XI. Glosario.....	75

TRABAJO CON
FALLA DE ORIGEN

I. RESUMEN

El Phylum Arthropoda comprende el orden de los Hemiptera caracterizados por una exclusiva hematófagia. Entre estos insectos, se encuentran los triatóminos o chinches besuconas, que son los vectores transmisores del protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*, el agente causal de la Enfermedad de Chagas. Los estudios de taxonomía para estos vectores están basados principalmente en caracteres morfológicos, sin embargo, este tipo de identificación es problemática ya que la similitud en algunos caracteres hace difícil su clasificación. El uso de marcadores moleculares, como isoenzimas, en el estudio genético poblacional del vector de *T. cruzi*, abre el campo para diseñar claves específicas de caracterización para identificar las especies y corroborar o modificar las clasificaciones basadas en caracteres morfológicos. El objetivo del presente trabajo fue establecer las relaciones de parentesco entre algunas especies del complejo Phyllosoma (C.P., *T. mazzottii*, *T. pallidipennis* y *T. longipennis*) y especies de complejos externos (*T. lenticularia*, *T. rubida* y *T. infestans*), así como determinar la posible inclusión de *T. bassolsae* dentro del C.P. mediante el uso de 10 sistemas isoenzimáticos (analizados 14 loci). El estudio de las isoenzimas se llevó a cabo a partir de la extracción de proteínas del músculo torácico y el análisis de sus corrimientos. Los resultados muestran que las especies del C.P. presentan una tasa de polimorfismo [$P \leq 0.95$] entre los valores de 14.3% y 50%, y las especies de complejos externos presentaron polimorfismos también entre estos porcentajes (*T. lenticularia* 42.9%, *T. rubida* 42.9% y *T. infestans* 35.7%). El árbol fenético elaborado con las distancias genéticas de Nei muestra una clara diferencia entre las especies del C.P. y los complejos externos. Las distancias para especies del C.P., son menores a 0.207 reflejando el parentesco y su proximidad evolutiva. En el caso de la especie *T. bassolsae* se detectó una distancia de 0.046 con respecto a *T. longipennis*, por lo que se confirma la pertenencia de esta especie al C.P. Finalmente, para las especies del C.P. no se encontraron loci diagnóstico, mientras que para las especies de los complejos externos sí, para la especie *T. infestans* se detectaron 6 locus diagnósticos, mientras que *T. lenticularia* 2 y *T. rubida* 5.

LENS CON
FALLA DE ORIGEN

II. INTRODUCCIÓN

Muchas de las enfermedades de importancia mundial son transmitidas por vectores, insectos que conviven íntimamente con el hombre. Entre estas enfermedades encontramos a la enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana, que es una de las parasitosis más importantes en el Continente Americano (WHO, 1991 y 2000). El agente etiológico de esta enfermedad es un protozooario hemoflagelado llamado *Trypanosoma cruzi*, el cual es transmitido principalmente por insectos de los géneros *Triatoma* y *Rhodnius*. Estos hemipteros son hematófagos, que se alimentan de sangre de mamíferos, aves, y en menor grado de sangre de reptiles (De La Merced, 1987; Dujardin *et al.*, 1999). La posible infección del hospedero con *T. cruzi* ocurre por una transmisión de tipo estercolaria, es decir, a través de las deyecciones del vector.

Se estima que un total de 100 millones de personas están en riesgo de contraer esta parasitosis y un total de 16 a 18 millones de personas están infectadas actualmente (WHO, 1991 y 2000). Además se reportan 50 000 muertes al año por secuelas crónicas de la enfermedad de Chagas (Bear *et al.*, 2002, 2001), por lo que esta representa un serio problema de salud pública.

Según los trabajos de Zárate y Zárate en 1985, un total de 32 especies de vectores están presentes en México, de las cuales, 28 especies son endémicas, y un 67% de éstas, es decir, 18 especies, se han encontrado infectadas de manera natural con *T. cruzi*. Esta diversidad aunada con el fenómeno de domiciliación de algunas de las especies de insectos y la invasión de humanos a sus habitats silvestres, pone a la población mexicana en riesgo de contraer la infección.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

II.1. Enfermedad de Chagas

La enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana, como ya se mencionó, es una enfermedad causada por un protozooario flagelado llamado *Trypanosoma cruzi*, este parásito es principalmente transmitido a humanos y a otros animales por las chinches de la familia Reduviidae, destacando la importancia epidemiológica a lo largo del continente Americano de los vectores pertenecientes a los géneros *Triatoma* y *Rhodnius*. El contacto del futuro hospedero con las heces del vector contaminado con *T. cruzi* es el principal factor de riesgo para contraer la infección por el parásito (De La Merced, 1987; Schofield, 1985 y 1994; WHO, 1991).

Este protozooario puede internalizarse por las zonas húmedas del cuerpo, tales como boca y ojos, al igual que por pequeñas heridas producidas por la picadura del insecto o por laceraciones que el mismo organismo hospedero se produzca, y muy probablemente este protozooario puede también introducirse a través de la piel indemne (Velasco-Castrejón, 1991).

En América se estima que un total de 100 millones de personas están en riesgo de contraer la enfermedad, mientras que 16 a 18 millones ya presentan la parasitosis (WHO, 1991). Esto hace que se considera a la enfermedad de Chagas como un problema de salud pública en 17 países de Latinoamérica (figura 1). En México, hasta 1990 se habían identificado alrededor de 300 casos agudos de la enfermedad (Velasco-Castrejón, 1991). Posteriormente un muestreo nacional indicó un promedio de 0.2 % de seroprevalencia determinadas por pruebas de hemaglutinación e inmunofluorescencia (Velasco-Castrejón,

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

11.2. Agente etiológico

El *Trypanosoma cruzi* agente etiológico de la enfermedad de Chagas (Chagas, 1909), es un parásito flagelado, que presenta la siguiente clasificación taxonómica elaborada por Leedale y Vickerman en el 2000:

Phyllum: Euglenozoa (Cavalier-Smith, 1981)

Clase: Diplonemea (Cavalier-Smith, 1993)

Orden: Kinetoplastida (Honningberg, 1963)

Suborden: Trypanosomatina (Kent, 1980)

Familia: Trypanosomatidae (Duflein, 1901)

Género: *Trypanosoma* (Gruby, 1843)

Subgénero Schizotrypanum (Chagas, 1909)

Especie: *cruzi* (Chagas, 1909)

11.2.a. Ciclo de vida

En el ciclo biológico de *T. cruzi*, se involucran vertebrados que funcionan como hospederos y reservorios y un artrópodo vector del grupo de los triatóminos. El protozoario *T. cruzi* pasa por tres estadios: una forma infectiva (tripomastigote), una forma reproductiva en células del hospedador (amastigote) y una forma reproductiva en el vector triatómino (epimastigote) (WHO, 1991; Velasco-Castrejón, 1991).

El ciclo vital de *T. cruzi* (figura 2) comienza con la fase de tripomastigote metaicíclico, que se encuentra tanto en la materia fecal como en la parte terminal del intestino del triatómino. Al deyectar el vector, el hospedero se infecta por la entrada del protozoario por zonas húmedas (ojos y boca), por las heridas causadas por el piquete del insecto y probablemente por la piel indemne (Velasco-Castrejón, 1991).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Dentro del hospedero el parásito se internaliza dentro de las células y adquiere una forma redondeada, el amastigote, que se reproduce rápidamente por bipartición en el citoplasma, posteriormente lisa la célula e invaden otras, si el insecto ingiere de nuevo la sangre del animal infectado, el tripomastigote sanguíneo se transforma en el aparato digestivo del triatómino a su forma de epimastigote y poco tiempo después, al terminar el recorrido en el aparato digestivo del vector se transformará en un tripomastigote metacíclico (WHO, 1991; Velasco-Castrejón, 1991; Tyler y Engman, 2001).

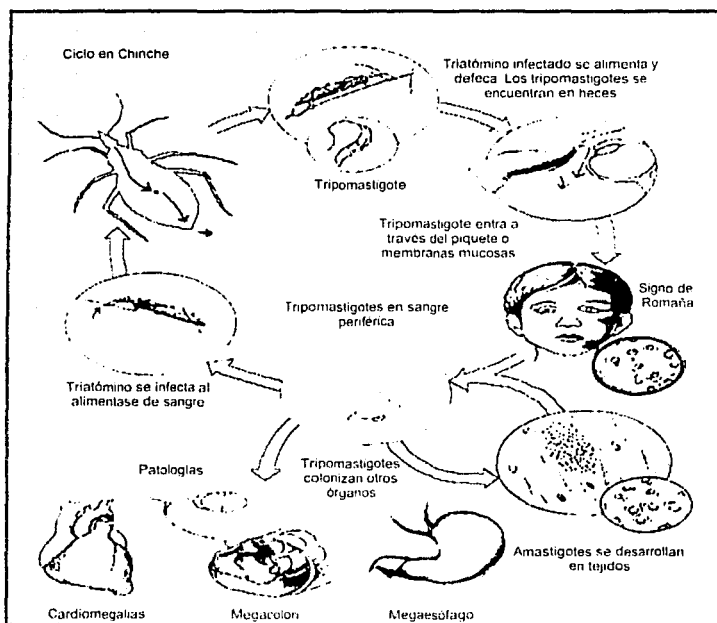


Figura 2. Ciclo biológico de *T. cruzi* (fuente Katz et al., 1989).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

II.3. Transmisión

II.3.a. Infección por Triatóminos

La enfermedad de Chagas en México como en América Latina, está relacionada principalmente con la zona de dispersión de los triatóminos. La ubicación de estos insectos en los habitats domésticos o peridomésticos y la infección con el parásito son algunas características que los ubican como la principal forma de transmisión de este parásito.

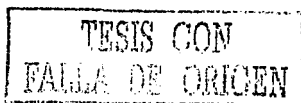
II.3.b. Infección por transfusión sanguínea

La segunda causa de transmisión de la Enfermedad de Chagas son las transfusiones de sangre contaminada. Alrededor de 200 casos al año de infecciones con *T. cruzi* son debidas a transfusiones sanguíneas (WHO, 1991), aunque se sospecha que pueden ser muchos más, pero éstas son difíciles de precisar.

En México, un trabajo realizado con 65,000 donadores de sangre de 18 centros gubernamentales mostró un 1.5 % de prevalencia de anticuerpos anti-*T. cruzi*, con una alta incidencia en la zona geográfica de la Huasteca Potosina y en las áreas del sureste de México (Guzmán-Bracho, 2001). El problema aumenta ya que, cada unidad de sangre es dividida en 2.5 fracciones útiles, por lo que se duplica el número de componentes de sangre infectada y por tal el número de personas en riesgo de contraer la enfermedad por este tipo de transmisión.

II.3.c. Chagas congénito y neonatal

Estos casos se han reportado a través de infecciones transplacentarias, causando abortos, nacimientos prematuros, hepatoesplendomegalias, algunos síntomas neurológicos como convulsiones, hiporeflexia, hipotonía, dolor de brazos y piernas y apnea. Algunas



señales Hematológicas incluyen anemia, leucocitosis con linfocitosis, hiperglobulinemia y en varias ocasiones hiperbilirubinaemia. Alrededor del 50 % de los casos de nacimientos prematuros mueren como consecuencia de la infección (WHIO, 1991).

Las infecciones de bebés por alimentación con leche materna contaminada son poco comunes. En 1936 en Salta, Argentina, se encontraron tripomastigotes en la leche de una madre en fase aguda de la enfermedad de Chagas y la infección de su bebé se atribuyó a la alimentación materna. En un estudio parasitológico analizando la leche materna de 100 madres, 78 de ellas con Chagas crónico y 22 con Chagas agudo, el parásito se detectó únicamente a 5 de ellas, con la enfermedad de Chagas en fase aguda (WHO, 1991).

II.4. Manifestaciones y Patología en la Enfermedad de Chagas

II.4.a. Fase aguda

La enfermedad de Chagas presenta dos etapas, la primera de ellas conocida como fase aguda, caracterizada por la presencia del parásito en circulación sanguínea y por una sintomatología clínica variable, pudiendo presentarse fiebre, vómito, diarrea, náuseas, anorexia, linfadenopatías y hepatomegalia. En algunos casos, se observa la presencia de cardiopatías y en casos extremos miocarditis Chagásica, ocasionando la muerte del individuo. También el sistema nervioso puede verse afectado manifestándose meningoencefalitis, otros tejidos nerviosos pueden presentar daño como el cerebrolo y la médula espinal (WHIO, 1991).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

II.4.b. Fase crónica

Fase crónica indeterminada o asintomática

La segunda etapa es una fase crónica indeterminada, que se presenta de 8 - 10 semanas después de la fase aguda. Esta etapa se caracteriza por la ausencia de manifestaciones clínicas, el hospedero puede permanecer durante muchos años sin sintomatología, con una actividad física normal (electrocardiogramas normales), pero con una respuesta serológica positiva (presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi*). El organismo infectado puede desarrollar el siguiente estadio de la enfermedad o puede permanecer como un organismo reservorio, manteniendo el ciclo de vida del parásito (WHO, 1991).

Fase crónica sintomática

El segundo estadio de la fase crónica, es una fase crónica sintomática. Se estima que el 30% de las personas que cursan la fase crónica indeterminada de la infección desarrollan esta fase. Esta etapa de la enfermedad presenta patologías severas, como trastornos cardiacos (degeneración del miocardio, presencia de arritmias, defectos en la conducción ventricular) y gastrointestinales (disturbios en la dilatación del sistema digestivo, así como, la alteración de los movimientos peristálticos). Principalmente hay una dilatación progresiva asociada a la colonización del parásito a órganos como el corazón, el esófago y el intestino, produciéndose como fase terminal los mega-órganos. (WHO, 1991), aunque existen controversias, ya que no se ha determinado la presencia del parásito en estos órganos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

II.5. El vector

II.5.a. Distribución

Latitud

Casi todas las especies de triatóminos están restringidas a las regiones neotropicales y neoárticas. Estas se distribuyen geográficamente desde Salt Lake City en Estados Unidos a 41° latitud norte, en donde, la especie *Triatoma protracta* ha sido reportada, y hasta el Sur del Continente Americano a 46° latitud sur, donde se ha reportado la especie *T. patagonica*, en la Patagonia Argentina (De La Merced, 1987; WHO, 1991).

Altitud

Muchas de las especies de la subfamilia Triatominae, se establecen entre los 200 y 1500 metros sobre el nivel del mar. Sin embargo, algunas especies como *T. infestans* pueden establecerse a 0 metros al nivel del mar, en las costas del Atlántico Sur (en los linderos Argentinos). También se han reportado especies en regiones geográficas tan altas como a los 4100 metros sobre el nivel del mar en algunas zonas de Bolivia (WHO, 1991).

II.5.b. Biología

Los triatóminos son insectos con metamorfosis incompleta, es decir, pasan por cinco estadios ninfales antes de llegar al estadio de adulto. Los triatóminos adultos difieren de los ninfales por la presencia de ocelos, genitales y alas desarrolladas. Las hembras se distinguen de los machos por presentar un ápice puntiagudo y generalmente son más grandes. Todos los estadios tanto en machos como en hembras son hematófagos (Lent y Wygodzinsky, 1979).

Los triatóminos son aplanados dorso ventralmente y poseen patas caminadoras. Presentan una cabeza pequeña proyectada hacia el frente; la cabeza es libre, cilíndrica y con un cuello distinguible, con ojos dorsalmente compuestos y ocelos separados. Las antenas están divididas en cuatro segmentos. En la parte inferior de la cabeza se encuentra el rostrum trisegmentado que se dobla ventralmente y se prolonga en el labium. El labium presenta una estructura protectora que contiene los estiletes (el maxilar y las mandíbulas) adaptados para su alimentación (Lent y Wygodzinsky, 1979; Zárate y Zárate, 1985; De La Merced, 1987), (figura 3).

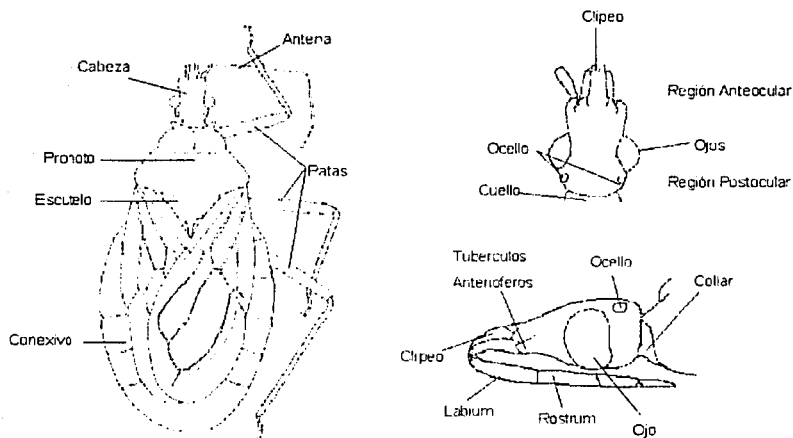


Figura 3. Estructuras morfológicas de los triatóminos (Fuente: Lent y Wygodzinsky, 1979).

Los principales caracteres de clasificación taxonómica de éstas especies, son las estructuras morfológicas, tales como, el tamaño de las antenas, su segmentación y su posición a lo largo de la cabeza, también las alas, los ojos y los genitales. El tamaño del insecto es característico, ciertas especies miden desde 5mm a 45 mm de longitud (Lent y

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Wygodzinski, 1979), otros caracteres como la coloración del cuerpo y el conexivo, son también caracteres importantes de clasificación, las coloraciones van desde amarillas hasta negras, con manchas de diferentes tonalidades, como son naranjas, cafés, amarillas, blancas, rojas, grises o verdes.

La longevidad de los insectos es variable, generalmente de 2 a 12 meses, pero ciertas especies pueden vivir hasta más de 2 años, como *T. dimidiata* que presentan una longevidad de 20 a 26 meses, *T. infestans* de 8 a 16 meses, *Dipetalogaster maximus* 14 meses y *T. barberi* de 3 a 14 meses (Zeledón y Rabinovich, 1981; Zárate y Zárate, 1985).

El número de huevecillos ovopositados al año es variable de acuerdo a la especie, por ejemplo para *Panstrongylus magistus* se han registrado 838 huevecillos; *T. infestans* 920; *T. dimidiata* 2054; *R. prolixus* 701; *T. patagonica* 169; *T. pallidipennis* 290 y *T. barberi* 150. La eclosión sucede en promedio un mes después de la ovoposición (Zeledón y Rabinovich, 1981; Zárate y Zárate, 1985; Flores *et al.*, 2001).

II.5.c. Especies de triatóminos

Se han identificado más de 123 especies silvestres de triatóminos en el mundo, distribuidos en 17 géneros (Lent y Wygodzinsky, 1979; Schofield, 1985, 1994; Zárate y Zárate, 1985; Schaefer y Coscaron, 2001). Alrededor de 53 de estas especies han sido reportadas con infecciones naturales con *T. cruzi*, 36 de estas especies están asociadas a la vivienda humana, de las cuales al menos 12 son epidemiológicamente importante en la transmisión del parásito al hombre en el continente Americano (Schenone y Rojas, 1989). Todas las especies de triatóminos son vectores con el potencial de transmitir a *T. cruzi*, pero seis especies son de especial significado epidemiológico en el Sur de América: *T. infestans*, *T. brasiliensis*, *T. dimidiata*, *T. sordida*, *P. megistus* *R. prolixus* y *R. pallescens* (WHO, 1991).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

De acuerdo a los trabajos de Zárate y Zárate, en 1985, en México existen un total de 32 especies distribuidas dentro de 7 géneros (*Dipetalogaster*, *Eratyrus*, *Paratriatoma*, *Pastronygylus*, *Belminus*, *Triatoma* y *Rhodnius*), de las cuales, 28 especies son endémicas, y el 67 por ciento de estas, es decir, 23 especies, se han reportado infectadas con *T. cruzi*. La figura 4 y la tabla 1 muestran la distribución de las especies de triatóminos presentes en México.



Figura 4 Lista de Triatóminos en México (Fuente tabla 2)

Tabla 1: Distribución de Triatóminos (Hemiptera: Rduviidae) en México

(Revisión bibliográfica 1979-2003)

ESPECIE	DISTRIBUCIÓN	REFERENCIA
1.- <i>Belminus costaricensis</i> (Herrel, Lent & Wygodzinski, 1954)	Veracruz	Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985.
2.- <i>Diptalogaster maxima</i> (Uhlr, 1894)	B.C.S.	Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000; Guzmán-Bracho, 2001; Jiménez <i>et al.</i> , 2003.
3.- <i>Eratyrus cuspidatus</i> (Stal, 1859)	Veracruz y Chiapas	Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; Velasco-Castrejón y Guzmán-Bracho, 1986.
*4.- <i>E. mucronatus</i> (Stal, 1859)	Chihuahua y Veracruz	Velasco-Castrejón y Guzmán-Bracho, 1986.
5.- <i>Paratriatoma hirsuta kamiensis</i> (Ryckman, 1967)	B.C.N.	Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985.
6.- <i>Panstrogylus rufotuberculata</i> (Champion, 1899)	Veracruz, Chiapas y B.C.S.	Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000.
7.- <i>Paratriatoma hirsuta papagoensis</i> (Ryckman, 1967)	Sonora	Aguirre-Pequeño, 1947; Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985.
8.- <i>Paratriatoma hirsuta yomancensis</i> (Ryckman, 1967)	B.C.N. y B.C.S.	Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985.
9.- <i>Rhodnius prolixus</i> (Ryckman, 1967)	Chiapas y Oaxaca	Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; Schofield, 1994; Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000.
10.- <i>Triatoma barberi</i> (Usinger, 1939)	Colima, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Querétaro, Puebla, Tlaxcala y Veracruz	Aguirre-Pequeño, 1947; Beltrán y Pérez, 1949; Lent y Wygodzinski, 1979; Salazar-Schettino <i>et al.</i> , 1983; Zárate y Zárate, 1985; De La Merced, 1987; Cortés-Jiménez <i>et al.</i> , 1996; Magallón-Gastélum <i>et al.</i> , 1998; Flores <i>et al.</i> , 2001.
11.- <i>Triatoma bassolsae</i> (Meccus <i>bassolsae</i>)	Puebla	Alejandro <i>et al.</i> , 1999.

(Alejandro <i>et al.</i> , 1999)		
12.- <i>Triatoma brailowsky</i> Martínez, Carcavallo y (Peláez, 1984)	Colima, Hidalgo, Jalisco y Nayarit	Aguirre-Pequeño, 1947; Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985.
13.- <i>Triatoma bolivari</i> (Carcavallo <i>et al.</i> , 1987)	Hidalgo	Aguirre-Pequeño, 1947
14.- <i>Triatoma dimidiata</i> (Latreille, 1811)	Campeche, Colima, Guanajuato, Hidalgo Chiapas, Querétaro Oaxaca, Jalisco, Morelos, Tabasco, Veracruz, Yucatán, San Luis Potosí, Sonora, Quintana Roo, Puebla y Guerrero	Aguirre-Pequeño, 1947; Díaz, 1951; Goldsmith <i>et al.</i> , 1978; Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; De La Merced, 1987; Guzman-Marin <i>et al.</i> , 1992; Cortés-Jiménez <i>et al.</i> , 1996; Magallón-Gastélum <i>et al.</i> , 1998; Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000; Flores <i>et al.</i> , 2001.
15.- <i>Triatoma gerstaeckeri</i> (Stal, 1959)	Chihuahua, Coahuila, Hidalgo, Nuevo León, San Luis Potosí, Tamaulipas y Veracruz	Aguirre-Pequeño, 1947; Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; Martínez- Ibarra, 1992; Vidal-Acosta <i>et</i> <i>al.</i> , 2000.
16.- <i>Triatoma hegneri</i> (Mazzotti, 1940)	Quintana Roo	Aguirre-Pequeño, 1947; Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985.
17.- <i>Triatoma incassata</i> (Usinger, 1939)	Sonora y Edo. de México	Aguirre-Pequeño, 1947; Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985.
18.- <i>Triatoma indictiva</i> (Neiva, 1912)	Chihuahua y Sinaloa	Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985.
*19.- <i>Triatoma infestans</i> (Klug, 1834)	San Luis Potosí y Veracruz	Velasco-Castrejón y Guzman- Bracho, 1986.
20.- <i>Triatoma lenticularia</i> (Stal, 1959)	Nuevo León	Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; Martínez-Ibarra, 1992.
21.- <i>Triatoma longipennis</i> (<i>Meccus longipennis</i>) (Usinger, 1939)	Agascaliente, B.C.N., Chihuahua, Colima, Durango, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, Sinaloa, Yucatán y Zacatecas	Aguirre-Pequeño, 1947; Díaz, 1951; Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; Magallón-Gastélum <i>et al.</i> , 1998; Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000; Flores <i>et al.</i> , 2001; Martínez-Ibarra <i>et al.</i> , 2001.
22.- <i>Triatoma mazzottii</i> (<i>Meccus mazzottii</i>) (Usinger, 1941)	Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit y Oaxaca	Aguirre-Pequeño, 1947; Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; De Aluja, 1985; Cortés-Jiménez <i>et al.</i> , 1996; Magallón-Gastélum <i>et</i>

		<i>al.</i> , 1998; Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000.
23.- <i>Triatoma mexicana</i> (Schaffer, 1848)	Guanajuato, Hidalgo, Querétaro y San Luis Potosí.	Aguirre-Pequeño, 1947; Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000.
24.- <i>Triatoma neotomae</i> (Neiva, 1911)	Nuevo León, Jalisco y Tamaulipas	Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985.
25.- <i>Triatoma nitida</i> (Usinger, 1939)	Yucatán	Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985.
26.- <i>Triatoma pallidipennis</i> (<i>Meccus pallidipennis</i>) (Stal, 1872)	Colima, Guerrero, Jalisco, Oaxaca, Edo. México, Morelos, Michoacán, Puebla, Veracruz, Querétaro y Zacatecas	Aguirre-Pequeño, 1947; Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; Schofield, 1994; Jiménez <i>et</i> <i>al.</i> , 1996; Magallón-Gastélum <i>et al.</i> , 1998; Bautista <i>et al.</i> , 1999; Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000; Cortés- Flores <i>et al.</i> , 2001.
27.- <i>Triatoma peninsularis</i> (Usinger, 1940)	B.C.S.	Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985.
28.- <i>Triatoma phyllosoma</i> (<i>Meccus phyllosoma</i>) (Burmeister, 1835)	Guanajuato, Oaxaca, Nayarit y Jalisco	Biagi <i>et al.</i> , 1946; Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; Cortés- Jiménez <i>et al.</i> , 1996; Magallón-Gastélum <i>et al.</i> , 1998; Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000.
29.- <i>Triatoma picturata</i> (<i>Meccus picturatus</i>) (Usinger, 1939)	Colima, Jalisco, Nayarit y Oaxaca	Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; Magallón-Gastélum <i>et al.</i> , 1998; Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000; Flores <i>et al.</i> , 2001; Martínez-Ibarra <i>et al.</i> , 2001.
30.- <i>Triatoma protracta</i> <i>nahuatlac</i> (Ryckman, 1962)	Sinaloa y Sonora	Aguirre-Pequeño, 1947; Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985.
31.- <i>Triatoma protracta</i> <i>protracta</i> (Uhler, 1894)	B.C.N. y Sonora	Aguirre-Pequeño, 1947; Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985.
32.- <i>Triatoma protracta</i> <i>woondi</i> (Usinger, 1939)	Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, y Tamaulipas	Aguirre-Pequeño, 1947; Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985.
33.- <i>Triatoma protracta</i> <i>zacatecensis</i>	Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León, San	Aguirre-Pequeño, 1947; Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate

(Ryckman, 1962)	Luis Potosí y Zacatecas	y Zárate, 1985.
34.- <i>Triatoma recurva</i> (Stal, 1969)	B.C.N., B.C.S., Chihuahua, Guerrero, Nayarit, Sinaloa y Sonora	Zárate y Zárate, 1985; Paredes <i>et al.</i> , 2001
35.- <i>Triatoma rubida</i> <i>cochimiensis</i> (Ryckman, 1967)	B. C. N. y B. C. S.	Aguirre-Pequeño, 1947; Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; Cortés- Jiménez <i>et al.</i> , 1996; Paredes <i>et al.</i> , 2001;
36.- <i>Triatoma rubida jaegeri</i> (Ryckman, 1967)	B.C.N.	Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; Cortés-Jiménez <i>et al.</i> , 1996; Paredes <i>et al.</i> , 2001.
37.- <i>Triatoma rubida rubida</i> (Uhler, 1894)	B.C.S., Nayarit, Sinaloa y Sonora	Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; Cortés-Jiménez <i>et al.</i> , 1996; Paredes <i>et al.</i> , 2001.
38.- <i>Triatoma rubida</i> <i>sonoriana</i> (Del Ponte, 1930)	B.C.S., Nayarit, Sinaloa y Sonora	Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; Cortés-Jiménez <i>et al.</i> , 1996 Paredes <i>et al.</i> , 2001.
39.- <i>Triatoma rubida uhleri</i> (Neiva, 1911)	Chihuahua y Sonora	Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; Cortés-Jiménez <i>et al.</i> , 1996 Paredes <i>et al.</i> , 2001.
*40.- <i>Triatoma sanguistoga</i> (Laconte, 1855)	Chiapas, Edo. México y Sinaloa	Aguirre-Pequeño, 1947
41.- <i>Triatoma sinaloenses</i> (Ryckman, 1962)	Sinaloa y Sonora	Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985.

*Especies dudosamente presentes en México, ya que sólo han sido reportadas una vez y además su distribución es sudamericana.

III.5.d. Hábitos alimenticios

Todos los triatóminos requieren alimentarse de sangre para su completo desarrollo, es decir, son hematófagos. Muchas de estas especies de triatóminos se alimentan de pequeños mamíferos terrestres o arbóreos, especialmente didélfidos, edentantes y roedores; mientras que otros triatómos se encuentran asociados con especies de murciélagos y aves (Tabla 2).

Estos hábitos alimenticios y la diversidad de fuentes de alimentación de las especies de triatóminos favorecen la posible colonización de las habitaciones humanas, alimentándose tanto de los animales domésticos como del hombre y de esta manera transmitiendo la infección con *T. cruzi* y propagando la enfermedad de Chagas (Lent y Wygodzinsky, 1979). Otro problema relacionado, es la cantidad de sangre ingerida por el insecto y la deyección de materia contaminada por el protozoario, generalmente el consumo de sangre para estadios iniciales es de aproximadamente 3 o 5 veces el peso corporal, mientras que en los estadios adultos el consumo de sangre es equivalente a su peso corporal (De la Merced, 1987).

Tabla 2: Fuentes de alimentación e infecciones con *T. cruzi* en especies de Triatóminos.

Especie	Fuentes de Alimentación	Infección con <i>T. cruzi</i>
<i>T. infestans</i>	Hombre, animales domésticos, tortugas, ranas, serpientes, lagartos y otros insectos	+
<i>T. lenticularia</i>	Roedores	+
<i>T. longipennis</i>	Humanos, murciélagos, mamíferos silvestres	+
<i>T. mazzottii</i>	Roedores, armadillos hombre, perros, palomas	+
<i>T. pallidipennis</i>	Roedores, armadillos, gallinas, palomas	+
<i>T. picturata</i>	Palomas, hombre (experimental)	+
<i>T. rubida</i>	Roedores, murciélagos	+

Fuente: De la Merced, 1987; Alejandre *et al.*, 1993.

III.5.e. Factores climáticos

Los factores ambientales tales como los alimento, la temperatura y la humedad influyen generalmente en la expresión de diversos genes (poligenes) afectando al fenotipo de los caracteres morfológicos, tales como, el número de huevos y el ciclo de vida de los

triatóminos (Lent y Wygodzinsky, 1979; Avise, 1993; Galvao *et al.*, 1995; Hillis *et al.*, 1996; Flores *et al.*, 2001; Emmanuelle-Machado *et al.*, 2002).

Se ha observado que en condiciones de laboratorio, la temperatura óptima de desarrollo de los triatóminos es de 27°C a 28°C. Muchas especies no sobreviven a temperaturas superiores de los 37°C y por debajo de los 10°C (Lima y Pinto, 1998). Las diferentes especies requieren una humedad específica con rangos experimentales de 70% a 80% y algunas especies como *P. geniculatus* requiere 100% de humedad (De La Merced, 1987; Galvao *et al.*, 1995).

Se ha observado que la temperatura es un factor que juega un papel importante en la tasa del incremento de las poblaciones de triatóminos. El mayor número de adultos se detecta en verano (en junio y julio), seguido por uno menor número de individuos en invierno. La reproducción y la muda se inician al comienzo de la primavera. Estos factores climáticos, reflejan el aumento en las frecuencias de casos humanos agudos de la enfermedad de Chagas (WHO, 1991; Velasco-Castrejón *et al.*, 1992; Schofield, 1994).

III.6. Infección de Triatóminos en México.

Entre las especies mexicanas infectadas naturalmente con *T. cruzi* se han reportado las siguientes especies de triatóminos: *D. maxima*, *R. prolixus*, *T. barberi*, *T. dimidiata*, *T. gerstaeckeri*, *T. hegneri*, *T. lenticularia*, *T. longipennis*, *T. mazzottii*, *T. mexicana*, *T. nitida*, *T. pallidipennis*, *T. peninsularis*, *T. phyllosoma*, *T. picturata*, *T. protacta*, *T. recurva*, *T. rubida* y *T. sinaloensis* (Lent y Wygodzinski, 1979; Salazar-Schettino *et al.*, 1983; Zárate y Zárate, 1985; De La Merced, 1987; Velasco-Castrejón, 1991; WHO, 1991; Guzmán-Marin *et al.*, 1992; Martínez-Ibarra, 1992; Magallón-Gastélum *et al.*, 1998; Ibañez *et al.*, 1998; Vidal-Acosta *et al.*, 2000; Flores, 2001; Guzmán-Bracho, 2001; Paredes *et al.*,

2001; Vitlegas-García, 2001). La distribución de estos vectores en México se muestra en la figura 4 y la tabla 1. Entre todas las especies de vectores infectados con *T. cruzi*, se consideran algunas de importancia epidemiológica, de acuerdo a su índice de infección, a su amplia distribución en algunas localidades de México y a el número de individuos registrados en los diferentes estados de la República, entre estas especies encontramos a: *T. barberi*, *T. dimidiata*, *T. pallidipennis*, *T. picturata*, *T. longipennis*, *T. rubida* y *T. gerstaeckeri* (Salazar-Schettino *et al.*, 1983; Zárate y Zárate, 1985; Martínez-Ibarra, 1992; Guzmán-Marín *et al.*, 1992; Magallón-Gastélum *et al.*, 1998; Vidal-Acosta *et al.*, 2000; Flores *et al.*, 2001; Guzmán-Bracho, 2001; Paredes *et al.*, 2001).

En recientes colectas realizadas en México, analizando el número de individuos y el porcentaje de infección con *T. cruzi*, se observó que: *T. longipennis*, es la especie que se distribuye en los estados de Jalisco y Nayarit con índices de infección de 50 y 55% respectivamente, *T. pallidipennis* en el estado de Morelos con un índice de infección de 88% y por último *T. rubida* en el estado de Sonora con un 90% de infección. Estas observaciones permiten considerar a los insectos como importantes transmisores en estos estados, y a las zonas, como de alto riesgo en la transmisión. Se debe de tomar en cuenta que no se han realizado colectas exhaustivas de otros vectores y que se sigue presentando el problema de clasificación taxonómica de los estadios ninfales, factor importante para determinar el riesgo de cada especie (Tabla 3).

Tabla 3. Índices de infección de triatóminos colectados en México.

Especies	Porcentaje de infección	Numero de vectores colectados	Localidad	Referencias
<i>D. maximus</i>	7	245	B.C.S.	Jiménez <i>et al.</i> , 2003.
<i>T. barberi</i>	70	25	Morelos	Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000.
	33.3	57	Jalisco	Flores, 2001.
	4.8	21	Oaxaca	Cortéz-Jiménez <i>et al.</i> , 1996.
	66.7	18	Oaxaca	Magallón-Gastélum <i>et al.</i> , 1998.
<i>T. dimidiata</i>	9.52	189	Hidalgo	Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000.
	4.1	195	Oaxaca	
	5.2	58	S.L.P.	
	14	1934	Veracruz	
<i>T. gerstaeckeri</i>	28	192	Nuevo León	Martínez-Ibarra <i>et al.</i> , 1992.
<i>T. lenticularia</i>	33	9	Nuevo León	Martínez-Ibarra <i>et al.</i> , 1992.
<i>T. longipennis</i>	50	100	Jalisco	Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000.
	25	164	Jalisco	Martínez-Ibarra <i>et al.</i> , 2001.
	18.4	412	Jalisco	Flores, 2001.
	33.5	24	Nayarit	Martínez-Ibarra <i>et al.</i> , 2001.
	55	170	Nayarit	Martínez-Ibarra <i>et al.</i> , 2001.
	29.5	47	Zacatecas	Flores, 2001.
<i>T. mazzottii</i>	50	4	Jalisco	Magallón-Gastélum <i>et al.</i> , 1998.
	7	15	Oaxaca	Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000.
<i>T. mexicana</i>	0.29	342	Guanajuato	Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000.
<i>T. pallidipennis</i>	14	228	Jalisco	Magallón-Gastélum <i>et al.</i> , 1998.
	36.4	22	Michoacán	Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000.
	18.54	275	Morelos	Bautista <i>et al.</i> , 1999.
	25	41	Morelos	Flores, 2001.
	88	906	Morelos	Cortéz-Jiménez <i>et al.</i> , 1996.
<i>T. phyllosoma</i>	9.1	33	Oaxaca	Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000.
<i>T. picturata</i>	0	12	Jalisco	Martínez-Ibarra <i>et al.</i> , 2001.
	7.4	27	Jalisco	Magallón-Gastélum <i>et al.</i> , 1998.
	52	23	Nayarit	Flores, 2001.
	34	50	Nayarit	Martínez-Ibarra <i>et al.</i> , 2001.
<i>T. rubida</i> y <i>T. recurva</i>	90	279	Sonora	Paredes <i>et al.</i> , 2001.
Sin clasificar	10.2	293	Jalisco	Magallón-Gastélum <i>et al.</i> , 1998.
Sin clasificar	7.1	2488	Varios estados	Vidal-Acosta <i>et al.</i> , 2000.
Sin clasificar	42	507	Varios estados	Flores, 2001.

III.7. Control biológico del vector

La falta de una vacuna y la poca eficiencia en los tratamientos quimioterapéuticos hacen pensar que el posible control de la enfermedad de Chagas se debe basar, principalmente en la eliminación de poblaciones de triatóminos domésticos, con el uso de insecticidas efectivos, el apoyo de programas de educación sanitaria y la implementación de materiales de construcción adecuados para las viviendas.

La infección residual y la reinfección después del uso de insecticidas caseros obstruyen las campañas de control contra los vectores, especialmente si la dispersión del insecticida no cubre todos los focos selváticos (WHO, 1991; Schofield, 1994; Schofield y Dujardin, 1997; García *et al.*, 1998; Noireau *et al.*, 1999a, 1999b).

III.7.a. Viviendas

El control a largo plazo de los vectores de la enfermedad de Chagas se puede lograr por modificación de las casas en las áreas endémicas haciéndolas inadecuadas para la colonización de las chinches, siendo importantes tres factores: el material de construcción, las áreas peridomésticas (tipos de construcciones y animales domésticos) y la ubicación de los objetos en la casa que proporcionan refugios para los triatóminos (WHO, 1991; Schofield, 1994).

Entre los cambios más importantes se encuentran, la sustitución de techos contruidos con hojas de palma por los de concreto, este es punto importante como control de vectores tales como *R. prolixus*, *R. robustus*, *R. neglectus* y *R. nasutus* (Schofield y Dujardin, 1997) y la cementación del suelo, que suele ser importante para especies como *T. dimidiata* (especie generalmente rastrera). Para la mayoría de las especies es importante

cnysar las paredes previniendo la formación de huecos o hendiduras en los cuales las chinches suelen habitar (WHO, 1991; Schofield, 1994).

III.7.b. Predadores de Triatóminos

Los enemigos naturales de los triatóminos incluyen una gran variedad de especies predatoras y parásitas, entre ellas muchos tipos de arañas, pseudoescorpiones, garrapatas, cucarachas, hormigas, lagartos, roedores, especies de avispas microhemípteras que parasitan los huevos de los Triatóminos, algunos nemátodos, hongos, bacterias y virus que atacan a las ninfas y a los adultos (WHO, 1991; Schofield, 1994).

III.7.c. Insecticidas

Algunos insecticidas convencionales como el clorinato de hidrocarbóno y la dieldrina, fueron utilizados para el control del vector en 1950 y 1960, estos insecticidas deben de aplicarse en dos ciclos sucesivos, la primera aplicación elimina a ninfas y adultos mientras que la segunda aplicación se usa para matar a ninfas recién eclosionadas, esta operación es costosa, por la cantidad de insecticida por área que debe usarse (500 mg/m^2) y por la duración del insecticida, que va desde 30 hasta 180 días. Algunos otros insecticidas como el Carbamato tienen la misma eficacia pero el mismo problema en cuanto a su costeabilidad. Los organofosforados malatión y el fenitrotión, se pueden aplicar una o dos veces al año, de manera que se pueden reducir los costos, las desventajas en el uso de estos insecticidas es, que poseen un olor desagradable (WHO, 1991; Schofield, 1994; Schofield y Dujardin, 1997). El fibronil es un insecticida que se usa en bajas dosis y con alta permanencia en el ambiente, siendo altamente efectivo contra un amplio rango de insectos, aunque sólo ha sido probado en laboratorio para las especies 7.

T. infestans y *R. neglectus*, esta última especie muestra una susceptibilidad mayor, la problemática del uso de este insecticida es su efecto tóxico por lo que se usa en concentraciones bajas (Rojas de Arias y Fournet, 2002)

La recolonización puede incrementarse en áreas no tratadas o por inmigración de chinches provenientes de focos selváticos o peridomésticos, otros problemas pueden ser la resistencia a insecticidas (Nouveau *et al.*, 1999a, 1999b) aunque este, no ha sido un problema ampliamente distribuido, sólo se ha reportado resistencia a algunos piretroides sintéticos por parte de poblaciones de *R. prolixus* en Venezuela y *T. infestans* en Argentina (WIIO, 1991).

III.7.d. Control biológico con el uso de bacterias transgénicas

Estos insectos hematófagos necesitan de sangre para completar su ciclo de desarrollo, sin embargo esta dieta es deficiente de ciertas vitaminas y nutrientes, por lo cual, necesitan de bacterias simbiotas que sinteticen los nutrientes de los cuales carecen. Los triatóminos se encuentran asociados con una bacteria actinomicete: *Rhodococcus rhodnini*, las cuales son esenciales para el crecimiento y desarrollo de los insectos, y se transmiten eficientemente de chinches adultas a su progenie a través de coprofagia, la deficiencia en la colonización de esta bacteria es altamente mortal para los triatóminos.

En 1992 Beard y colaboradores, seleccionaron un plásmido de *E. coli*, al cual se le inserto un gen para la expresión de una proteína Cecropina A (proteína con actividad anti-tripanicida) y se transformó a individuos de la especie *R. rhodnini*. Los insectos transformados con estas bacterias paratransgénicas e infectados con *T. cruzi*, eliminaron en un 65% a *T. cruzi*, el otro 35% redujo la carga parasitaria, de 2 a 3 órdenes de magnitud

comparadas con los insectos controles. Este podría ser una de las estrategias para el control de los triatóminos en el futuro (Beard *et al.*, 2001; Beard *et al.*, 2002).

III.7.e. Control biológico con el uso de virus

En el 2002, Rozas-Dannis y colaboradores demostraron que el virus: *Triatoma virus* (TrV) es capaz de infectar a las especies de Triatóminos (*Triatoma infestans*), produciendo una parálisis de las extremidades del vector, además de interrumpir el proceso de ecdisis o muda. La infección natural de TrV es a través de una ruta oral-fécal, pudiendo presentar transmisiones horizontales, e infectando a otras especies de triatóminos. En estudios de laboratorio, se reportó que para la especie *T. patagonica* con infección de TrV por la alimentación coprofágica, el 66.7% de las ninfas de primer estadio mueren a causa de la infección. Este método pudiera ser importante como una medida adicional para el control de las especies de triatóminos, pero los estudios de posibles transmisiones verticales no se han llevado a cabo.

III.8. Clasificación Taxonómica

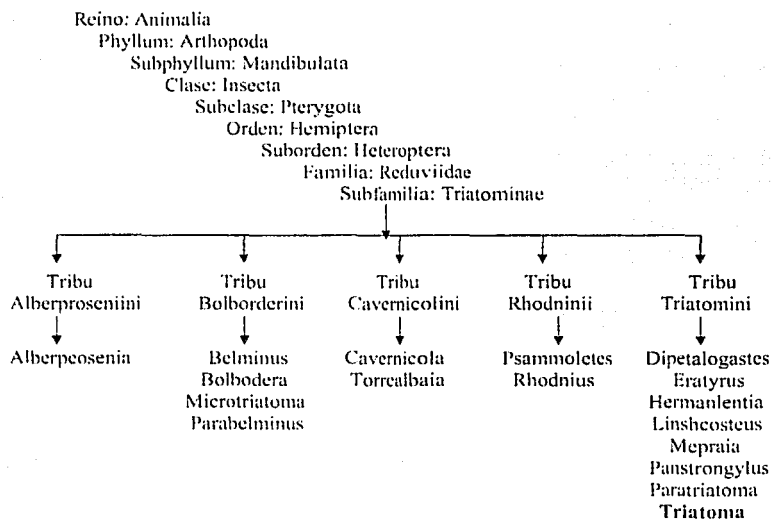
III.8.a. Criterios de identificación

Los miembros de la familia Reduviidae se distinguen de otros Hemipteros por la presencia de tres segmentos en la probóscide, los cuales están doblados bajo la cabeza (WHO, 1991; Schofield, 1994). La subfamilia Triatominae son reconocidos por las antenas lateralmente insertas, las articulaciones membranosas entre el segundo y tercer segmento del rostro (permitiendo una amplia flexión del tercer segmento rostral durante la alimentación), y la ausencia de glándulas de esencia en el lado dorsal del abdomen. La

obvia hematofagia es un conducta característica de estas especies, siendo la única forma de alimentación de los Triatóminos (De La Merced, 1987).

El genero *Rhodnius* se distingue de otros géneros de Triatomas, por su extensa cabeza, con antenas insertas en la parte frontal cerca del clipeo. En el género *Triatoma*, el largo de la cabeza es intermedio, con antenas insertas a la mitad, entre los ojos y el clipeo. Mientras que el género *Panstrongylus* tiene una cabeza corta y robusta, con antenas insertadas enfrente de los ojos (Lent y Wygodzinsky, 1979).

Los triatóminos están divididos en 5 tribus: Triatomini, Rodnini, Cavernicolini, Bolboderini y Alberprosenini que contienen 14 géneros y 111 especies descritas hasta 1979 (Lent y Wygodzinsky, 1979). Para el género *Triatoma*, Ryckman en 1984 postula los siguientes taxones:



El género *Triatoma* se divide en dos grupos (Figura 5): Grupo Protracta (especies cuya ninfa de primer estadio carecen de pelos especializados en el metatarso) y dentro de este grupo se reconocen dos complejos de especies, el complejo Protacta (caracterizado por el cuerpo fusiforme y patas relativamente cortas) que incluye a las especies *T. barberi*, *T. neotomae*, *T. protracta* y por confirmar *T. incrassata*, *T. nitida*, *T. penninsularis* y *T. sinaloensis* y el complejo Lenticularia (definido por el cuerpo más ancho y patas comparativamente más largas o de tamaño normal), que alberga a las especies *T. indictiva*, *T. lenticularia* y *T. sanguisuga*, todas con distribución en el sur de Estados Unidos y dos con extensiones al norte de México (Ibáñez *et al.*, 1998).

El segundo grupo: Rubrofasciata alberga a la mayor parte de los Triatomas, éste, a su vez, se dividió en dos subgrupos: Infestans y Rubrofasciata. El subgrupo Infestans se caracteriza por la presencia de gránulos conspicuos en la posición dorsal del abdomen de las ninfas de quinto estadio. En el subgrupo Rubrofasciata las especies de quinto estadio presentan el dorso del abdomen liso o con gránulos minúsculos, este subgrupo incluye a 6 complejos: Rubrofasciata (especies con distribución oriental), Spinolai (especies sudamericanas), Flavida (especies de las islas caribe), Nigromaculata (especies sudamericanas), Phyllosoma (las especies de este complejo son endémicas de México) y Recurva (especies nativas de Estados Unidos y México).

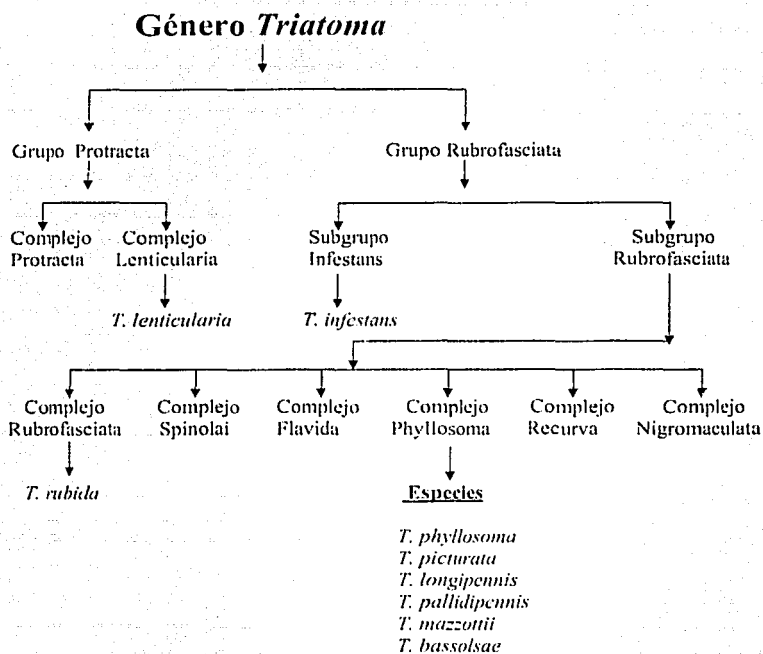


Figura 5. División taxonómica de triatóminos realizada por Lent y Wygodzinsky en 1979.

III.8.b. Controversia en la clasificación

Las clasificaciones hasta ahora se basan principalmente en el uso de caracteres morfológicos, dentro de estas clasificaciones se presentan controversias relacionadas con estos complejos. Entre ellas está la inclusión tentativa de *T. mexicana* (Herrich-Schöffer, 1848) y *T. dimidiata* al complejo Phyllosoma por Lent y Wygodzinsky en 1979. Schofield en 1994, propuso la eliminación del complejo Phyllosoma y su sustitución por el

complejo *Dimidiata*, el cual contendría la presencia de *T. dimidiata* junto a las especies del complejo *Phyllosoma*. En 1999, Alejandro y colaboradores, introducen a la especie descrita por ellos mismos, *T. bassolsae*, dentro de las especies del complejo *Phyllosoma*. Descripciones recientes de especies mexicanas con caracteres morfológicos similares fueron revisadas por Dujardin *et al.* (1999), sugiriendo la inclusión adicional de *T. bolivari* (Carcavallo *et al.*, 1987), *T. brailoskyi* (Martínez *et al.*, 1984), *T. hegnery* (Mazzottii y Osorio, 1940) y *T. ryckmani* (Carcavallo, Martínez y Pérez, 1987) al complejo *Phyllosoma*. En el 2001 Guzmán-Bracho incluyó *T. mexicana* en el complejo *Phyllosoma*. Flores y colaboradores en el 2001, con el uso de isoenzimas confirmaron la clasificación morfológica para las especies del complejo *Phyllosoma* realizada por Lent y Wygodzinsky en el 1979 y la exclusión taxonómica de *T. dimidiata* de este complejo. Por otra parte, Marcella y colaboradores en el 2001 también corroboraron, con el uso de marcadores nucleares (ITS-2), esta exclusión de *T. dimidiata* del complejo *Phyllosoma*.

Finalmente, Carcavallo y colaboradores, postularon el cambio de nombre del complejo *Phyllosoma* a complejo *Meccus*, el género *Triatoma* a *Meccus*, y la especie *Triatoma picturata* a *Meccus picturatus* (Carcavallo *et al.*, 2000; Hyspa *et al.*, 2002).

Un problema adicional es la determinación del número de especies presentes en México: Goldsmith y colaboradores (1979) reportan 39 especies de Triatomíneos, 20 de ellas infectadas de manera natural con el protozooario *T. cruzi*. Para Zárate y Zárate (1985), México presenta un total de 36 especies, 18 de las cuales se han encontrado infectadas con el parásito. Ibáñez y colaboradores (1998), reportaron 31 especies con 18 de éstas infectadas. Esto muestra una clara problemática para clasificar especies y sub-especies en los distintos complejos.

IV. JUSTIFICACIÓN

Uno de los principales factores de riesgo para contraer la enfermedad de Chagas, es la convivencia con el insecto vector infectado con *T. cruzi*. Aunado a esto, las zonas de dispersión en México de los triatóminos probablemente abarcan toda la República Mexicana, así como la amplia presencia de factores ambientales y la diversidad de hábitat biológicos para el desarrollo de estos insectos, incrementan las zonas de riesgo para contraer la enfermedad. México posee gran diversidad biológica del insecto vector, ello aunado con el incremento poblacional y la presencia del hombre en hábitat nuevos ocupados por el insecto, pone a la población en riesgo de infectarse, mantener y propagar la enfermedad, por ello es importante determinar las características genéticas que puedan ayudar a clasificar a las especies y realizar un control biológico adecuado para cada una de ellas.

Si bien los caracteres morfológicos en los principios de la taxonomía y sistemática han sido importantes para dilucidar ciertas relaciones de parentesco entre algunos grupos de especies, para el orden Hemiptera estos métodos han mostrado una limitada capacidad para eliminar toda la problemática que se presenta en cada uno de los complejos, por ello, la necesidad de utilizar marcadores moleculares adecuados que pudiesen aclarar y eliminar la problemática actual de clasificación, además de establecer claves genéticas que simplifiquen la taxonomía de estos insectos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

V. OBJETIVOS

V.1. Objetivo General

Establecer las relaciones de parentesco a través de marcadores isoenzimáticos, entre algunas especies del complejo *Phyllosoma* y especies de complejos externos presentes en Brasil y México.

V.2. Objetivos Específicos

- Conocer las relaciones de parentesco entre las especies de *Triatóminos* estudiadas, a partir de la elaboración de un dendograma.
- Determinar el comportamiento de la genética poblacional para las especies analizadas, tales como: polimorfismo, endogamia y equilibrio Hardy-Weingberg.
- Determinar sistemas isoenzimáticos diagnósticos para cada una de las especies estudiadas.
- Corroborar desde el punto de vista isoenzimático la posible inclusión de *T. bassolsae* dentro del complejo *Phyllosoma*.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VI. MATERIAL Y MÉTODO

VI.1. Triatóminos

Todos los triatóminos usados en este estudio provinieron de colonias establecidas por el Dr. Ricardo Alejandre (Escuela de Ciencias Biológicas, IPN). Las características generales de las especies analizadas se presentan en la tabla 4.

El estudio contempló el análisis de 7 especies, dentro de las cuales, cuatro de ellas pertenecen al complejo *Phyllosoma* (*T. bassolsae*, *T. longipennis*, *T. mazzottii*, *T. pallidipennis*) y las demás especies a otros complejos: como un control de subgrupos *T. infestans* (complejo *Infestans*), como control de grupo la especie *T. lenticularia* (complejo *Lenticularia*) y como control de complejos la especie *T. rubida* (complejo *Rubrofaciata*).

Entre las especies analizadas, *T. bassolsae*, *T. lenticularia* y *T. rubida* son de especial importancia, ya que son especies que no habían sido analizadas con marcadores moleculares.

Tabla 4. Características generales de las especies analizadas.

Especies	Origen	# de ejemplares analizados	Antigüedad de la colonia	Estadio
<i>T. bassolsae</i>	Puebla	17	10	Adulto
<i>T. pallidipennis</i>	Morelos	11	10	Adulto
<i>T. longipennis</i>	Navarrit	8	10	Adulto
<i>T. mazzottii</i>	Guerrero	11	3	Adulto
<i>T. rubida</i>	Sonora	20	2	Adulto
<i>T. lenticularia</i>	Nuevo León	19	15	Adulto
<i>T. infestans</i>	Brasil	20	18	Adulto

VI.2. Extracción de Isoenzimas (Extracto crudo proteico).

Del insecto vector se extrajo el músculo torácico, éste se congeló en un tubo de 1.6 ml (marca Eppendorf) usando nitrógeno líquido, e inmediatamente después se maceró con ayuda de un micropistilo (marca Eppendorf) hasta pulverizarse, se resuspendió en un

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

volumen de 50 a 80 μ l (dependiendo del tamaño del insecto, Anexo 1) de un estabilizador enzimático que contenía 2 mM diotiothreitol, 2 mM ácido E-amino caproico y 2 mM EDTA (Anexo 1). se homogenizó la solución por agitación y se centrifugo durante 10 minutos a 25 000 g en una centrifuga (marca Eppendorf) refrigerada. Se tomó el sobrenadante, que contenía las enzimas hidrosolubles y se distribuyó en alícuotas de 10 μ l conservadas a -70°C hasta su uso posterior.

VI.3. Condiciones electroforéticas y sistemas isoenzimáticos

Las muestras fueron separadas por electroforesis enzimática multilocus (MLEE), estandarizada en placas de acetato de celulosa (Laboratorios Helena, Beaumont, TX). Diez sistemas isoenzimáticos que corresponden a 14 loci fueron estandarizados para el análisis enzimático (Anexo 2): Aspartato amino transferasa (GOT, EC 2.6.1.1), Glucosa fosfato deshidrogenasa (G6PD, EC 1.1.1.49), Glucosafosfato isomerasa (GPI, EC 5.31.9), Leucin aminopeptidasa (LAP EC 3.4.11.0.13), Malato deshidrogenasa (MDH, EC 1.1.1.37), enzima Mállica (ME, EC 1.1.1.40), Peptidasas 1 y Peptidasas 2 (PEP, EC 3.4.11 o EC 3.4.13), 6 Fosfogluconato deshidrogenasa (6PGDH, EC 1.1.1.44) y fosfoglucomutasa (PGM, EC 2.7.5.1). Las condiciones para electroforesis y sustratos enzimáticos fueron previamente descritos por Flores y colaboradores en el 2001, sin embargo, se realizaron modificaciones basadas en los siguientes trabajos: Selander *et al.*, 1986; Noireau *et al.*, 1998; Hillis *et al.*, 1996; Manguin *et al.*, 1999, (Anexo 3).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VI.4. Revelado de placas de acetato

Después de efectuada la MLEE para cada una de las muestras en la cámara de electroforesis horizontal, las bandas proteicas se revelaron sobre un soporte sólido que contenía 10 ml de agarosa al 1.6% junto con los sustratos específicos y soluciones de coloración para cada sistema isoenzimático a revelar (Anexo 4), sobre este medio se colocaron las placas de acetato. Se introdujeron en una estufa a 37° C hasta que se observó el revelado de cada una de las bandas (aproximadamente 15 minutos), para fijar la reacción de revelado se sumergieron las placas de acetato en ácido acético glacial al 5 % por 5 minutos. Posteriormente se lavaron las placas con agua y se dejaron secar a temperatura ambiente, únicamente para los sistemas PEP1 y PEP2 la matriz de agarosa que contienen las bandas de revelado se corta y se deja secando sobre papel filtro.

VI.5. Sistemas de análisis

Para el análisis genético poblacional se utilizó los programa ARLEQUIN ver. 2000 y BIOSYS-1. El fenograma se realizó a partir de una matriz de distancias de Nei y estas fueron agrupadas por el método UPGMA (Método de Agrupamiento Aritmético Usando Grupo de Datos Sin Peso), para estos análisis se usó el programa BIOSYS-1 (Schneider *et al.*, 2000; Hillis *et al.*, 1996; Swofford y Selander, 1989).

VI.6. Análisis Genético

VI.6.a. Interpretación alélica de los zimograma

Para la interpretación del patrón de bandas que comprende el zimograma se requiere del conocimiento de las estructuras de las subunidades y el control genético del

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

sistema enzimático, ya que muchos tejidos pueden limitar la actividad enzimática, el número de productos génicos y la expresión de subunidades (Hillis *et al.*, 1996). Cada una de las enzimas utilizadas en este análisis fueron probadas en un trabajo anterior (Flores *et al.*, 2001).

En la expresión de sistemas con un solo locus para organismos diploides, en cada uno de los homocigotos sólo se distingue un producto alélico. En cambio, si el individuo es heterocigoto, se pueden formar dos productos alélicos. La interpretación de las bandas, se realizó según la velocidad de migración, para los alelos con corrimientos más rápidos se les asignó el valor de 1/1, a corrimientos menores 2/2 y así sucesivamente. Los alelos heterocigotos mostraron dos líneas de revelados interpretándose 1/2 en ese caso, como se muestra en la figura 6. Por último, para cada sistema isoenzimático se realizó un registro del patrón de alelos observados

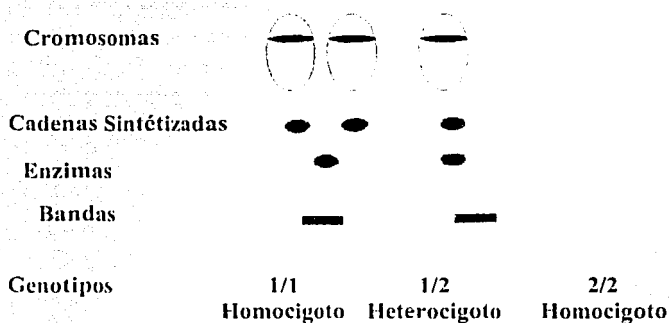


Figura 6. Análisis de corrimientos según el número de bandas observadas en los geles de electroforesis.

VI.6.b. Polimorfismo Genético

Un loci es polimórfico si dos o más alelos coexisten en una población. Si uno de los alelos posee una frecuencia igual o mayor al 99%, los alelos restantes poseen frecuencias menores al observado. Así pues, un loci es comunmente definido como polimórfico si la frecuencia del alelo más común es menor de 99%. Esto se puede expresar en la siguiente formula:

$$A = \sum x_i / r$$

en donde A = loci polimórfico.

x_i = número de alelos polimórficos para cada locus

r = número de locus estudiados

VI.6.c. Heterocigüedad

Una apropiada medición de la variación genética dentro de una población, es conocida como Heterocigüedad esperada o Diversidad Génica, definida como la estimación de la proporción del número de genes heterocigotos para una población determinada (Hartl y Clark, 1997). La diversidad genética de un locus esta definida como:

$$h = 1 - \sum_{i=1}^m x_i^2$$

donde h= es la probabilidad de que dos alelos elegidos al azar de una población, sean diferentes uno del otro (Graur y Li, 1999; Avise, 1993), y x_i son las frecuencias del alelo i hasta m.

VI.6.d. Equilibrio Hardy-Weinberg

Este análisis genético predice la relación de las frecuencias alélicas y genotípicas en ausencia de cualquier fuerza evolutiva (migración, deriva génica, selección natural, mutación y endogamia), así, en el caso de un locus con dos alelos (A y a) tenemos que:

$$D = p^2$$

$$H = 2pq$$

$$R = q^2$$

en donde $p = D + 1/2H$ y $q = R + 1/2H$

D representa a la frecuencia de los homocigotos AA, H a la frecuencia de los heterocigotos Aa, y R a la frecuencia de los homocigotos aa, siendo p la frecuencia del alelo A y q la frecuencia del alelo a, considerando que $D + H + R = 1$ entonces $p + q = 1$.

Para determinar si una población se encuentra o no en equilibrio Hardy-Weinberg, se usa la prueba estadística de $\chi^2 = (O-E)^2/E$ con $k(k-1)/2$ grados de libertad, donde K es el número de alelos (Hartl y Clark, 1997; Hillis *et al.*, 1996).

VI.6.e. Índice de Fijación F o Wright

Otra manera de visualizar si la población se encuentra o no en equilibrio Hardy-Weinberg es a través del índice de fijación F, el cual es definido como:

$$F = 1 - H/2pq$$

donde H es la proporción de heterocigotos observados y 2pq la proporción de heterocigotos esperados en Hardy-Weinberg. Este índice F tiene un valor de 0 si la población se encuentra en equilibrio, se pueden encontrar valores de +1 o -1, donde +1 significa que sólo existen individuos homocigotos y -1 que sólo coexisten en una población individuos heterocigotos. La significancia de este índice puede ser probada a

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

traves de $\chi^2 = F^2 N (K-1)$ para $k(k-1)/2$ grados de libertad, donde N es el número total de la población y K el número de alelos (Hartl y Clark, 1997; Hillis *et al.*, 1996).

VI.6.f. Distancia genética de Nei

La distancia genética de Nei es una medida de las diferencias génicas entre dos poblaciones, cuantificando la divergencia genética entre unidades taxonómicas, a partir de las frecuencias alélicas.

$$D_{nei} = -\ln I$$

$$I = \sum X_i Y_i / \sqrt{\sum X_i^2 \sum Y_i^2}$$

donde X_i y Y_i son las frecuencias de alelo i en las dos poblaciones X y Y (Flores, 2001, Hillis *et al.*, 1996).

VI.6.g. Fenograma

Después de generar la matriz de distancia de Nei, se construyó un Fenograma por método UPGMA (Unweighted Pair Group Method) ó Matriz de Promedio. Estos análisis fueron calculados usando el programa BIOSYS-1 (Hillis *et al.*, 1996; Swofford y Selender, 1989).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VII. RESULTADOS

VII.1. Estudios isoenzimáticos

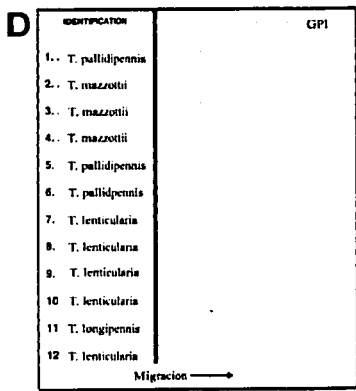
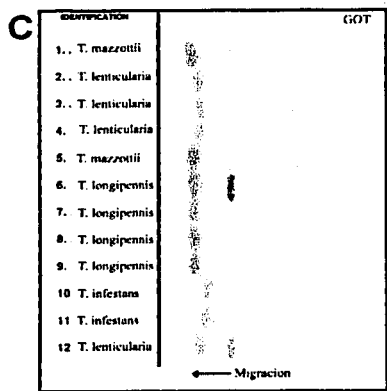
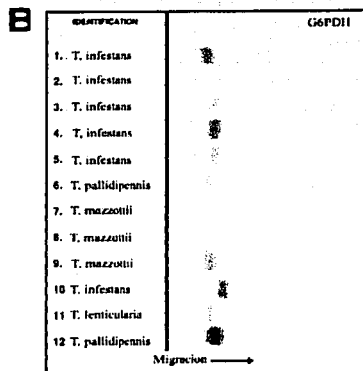
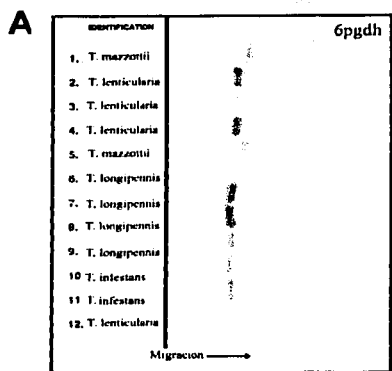
Todos los organismos estudiados corresponden a colonias de laboratorio. La tabla 4 de la sección de material y métodos mostró las características generales de las especies analizadas.

VII.2. Genotipos observados

Se utilizaron 10 sistemas isoenzimáticos, cuatro de estos (ME, PEP1, MDH y PGM) poseen dos zonas de actividad o loci, los demás sistemas isoenzimáticos (PEP2, GPI, 6PGDH, G6PDH, LAP y GOT) sólo poseen una zona de actividad, analizándose un total de 14 loci génicos.

Cada loci es monomérico por lo que la lectura alélica, se realizó de manera individual (por loci). La interpretación de las bandas se estableció de acuerdo a su velocidad de migración, reconociendo dentro de este análisis a individuos homocigotos y heterocigotos (Figura 7). Los resultados de las lecturas de los diferentes genotipos por loci se resumen en el anexo 5.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

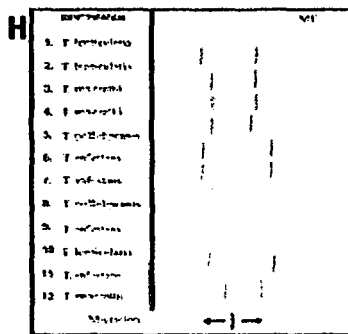
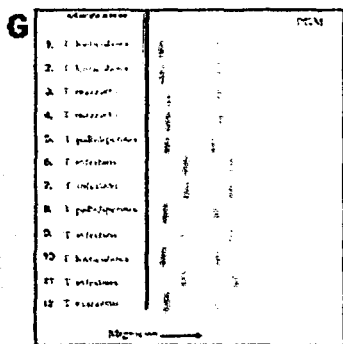
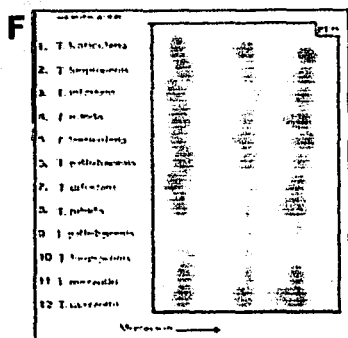
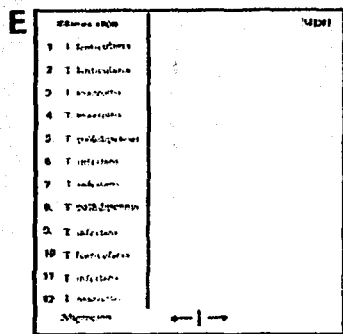


Figura 7: Corrimientos representativos de algunos sistemas isoenzimáticos analizados en este estudio. A) 6 Fosfoglucona deshidrogenasa (6PGDH); B) Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PDH); C) Aspartato aminotranferasa (GOT); D) Glucosa fosfato isomerasa (GPI); E) Malato deshidrogenasa (MDH); F) Peptidasas (PEP); G) Fosfoglucomutasa (PGM) y H) Enzima Málca (ME).

VII.3. Frecuencias alélicas

Complejo Phyllosoma:

Para las especies del complejo Phyllosoma, en la mayoría de los loci analizados se observan monomórficas, es decir, presentan loci con frecuencias alélicas iguales a 1. Para la especie *T. bassolsae*, se detectaron 12 loci monomórficos, entre estos loci se registraron los siguientes sistemas: ME1, ME2, PEP1, PEP2, PEP3, GOT, GPI, MDH2, PGM1, PGM2, LAP Y G6PDH. Los loci MDH1 y 6 PGDH se detectaron como loci polimórficos (Tabla 5).

Para la especie *T. pallidipennis*, los loci monomórficos fueron: ME1, ME2, PEP1, PEP2, GOT, GPI, MDH1, PGM1, LAP Y 6PGDH y los loci polimórficos fueron: PEP3 MDH2, PGM2 Y G6PDH, (Tabla 5; figura 7 F.G).

Para la especie *T. longipennis*: se observaron los siguientes loci monomórficos: ME1, ME2, PEP1, PEP2, GOT, GPI, PGM1 y LAP. Los loci polimórficos fueron: PEP3, MDH1, MDH2, PGM2, 6PGDH Y G6PDH (Tabla 5).

Para *T. mazzottii*: se observaron los siguientes loci monomórficos: ME1, ME2, PEP1, PEP2, PEP3, GOT, GPI, PGM1, 6PGDH, MDH1, y LAP. Los loci polimórficos fueron: MDH2, PGM2 Y G6PDH (Tabla 5).

Complejos externos:

Para las especies externas al complejo Phyllosoma se encontró lo siguiente:
T. fenticularia: presentó los siguientes loci monomórficos: ME1, PEP1, PEP2, PEP3, GPI, 6PGDH, G6PDH y LAP. Los loci polimórficos fueron: ME2, GOT, MDH1, MDH2, PGM1 y PGM2 (Tabla 5; figura 7 C, H).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Para *T. rubida*: se observaron los siguientes loci monomórficos: ME1, ME2, PEP1, PEP2, GPI, MDH1, PGM1 y LAP. Los loci polimórficos fueron: PEP3, GOT, MDH2, G6PDH, 6PGDH y PGM2 (Tabla 5).

En *T. infestans*: se observaron los siguientes loci monomórficos: ME1, ME2, PEP1, PEP2, GPI, PGM1, MDH1, MDH2 y 6PGDH. Los loci polimórficos fueron: PEP3, GOT, PGM2, LAP Y G6PDII (Tabla 5).

VIII.4. Polimorfismo y Heterocigocidad

El análisis del polimorfismo de estas especies, muestra a *T. longipennis*, *T. lenticularia* y *T. rubida* como las especies con mayor variabilidad, observándose un promedio de loci polimórficos de 50%, 42.9% y 42.9% respectivamente ($P [0.95]$). Este polimorfismo correspondiendo con el número de alelos por loci para dos de estas especie, para *T. longipennis* se registro en promedio 1.6 alelos diferentes por locus y para *T. lenticularia* 1.5 alelos diferentes por locus. Por otro lado, la especie menos polimórfica fue *T. bassolsae* con un promedio de loci polimórficos de 14.3% y una constitución alélica de 1.1 alelos diferentes por locus (Tabla 6).

El análisis de variación genética entre todas las poblaciones de triatóminos indica un promedio de Heterocigocidad (Promedio de Heterocigetos esperados en un organismo elegido al azar) entre los rangos de 0.018 a 0.143 (Tabla 6).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 5. Frecuencias alélicas para las especies de vectores analizados

Locus N	Alelos	<i>T. bassalisae</i> 17	<i>T. pallidipennis</i> 11	<i>T. longipennis</i> 8	<i>T. mazzottii</i> 11	<i>T. rubida</i> 20	<i>T. lenticularia</i> 19	<i>T. infansoni</i> 20
ME1	1							1
	2	1	1	1	1		1	
	3					1		
ME2	1	1	1	1	1	1	0.05	
	2						0.95	1
PEP1	1						1	
	2	1	1	1	1	1		1
PEP2	1							1
	2	1	1	1	1	1	1	
PEP3	1			0.82				
	2	1	0.82		1	85		
	3		0.18	0.18		0.15	1	0.55
	4							0.45
GOT	1							0.05
	2					0.1		
	3						0.05	
	4					0.9	0.95	0.95
	5	1	1	1	1			
GPI	1					1		
	2						1	1
	3	1	1	1	1			
MDH1	1					1	0.52	
	2	0.11						
	3	0.89	1	0.87	1		0.48	
	4			0.13				1
MDH2	1		0.54	0.37	0.45	0.9	0.74	
	2	1	0.46	0.63	0.55	1	0.26	1
PGM1	1							1
	2	1	1	1	1		0.68	
	3						0.32	
	4					1		
PGM2	1							0.95
	2				0.91			
	3		0.18	0.24		0.85	0.42	
	4	1	0.82	0.63	0.09	0.15	0.58	0.05
	5			0.13				
LAP	1	1	1	0.38				
	2			0.5				
	3			0.12	1		1	
	4							0.8
	5					1		
	6							0.4
G6PDH	1					0.25		0.95
	2	1	0.82	0.87	0.64	0.75	1	0.05
	3		0.18	0.13	0.36			
6PGDH	1	0.06						
	2				1			
	3		1	0.13				
	4	0.94		0.87		0.85	1	1
	5					0.15		

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 6. Porcentaje de polimorfismo para las diferentes especies de triatóminos estudiadas.

Especies	N	Promedio de alelos por locus	Porcentaje de loci Polimórficos*	Heterocigocidad Promedio	
				Conteo Directo	Esperadas HdyWbg**
<i>T. bassolsae</i>	17	1.1	14.3	0.080	0.045
<i>T. pallidipennis</i>	11	1.3	28.6	0.058	0.118
<i>T. longipennis</i>	8	1.6	50.0	0.134	0.214
<i>T. mazzottii</i>	11	1.3	21.4	0.071	0.112
<i>T. rubida</i>	20	1.4	42.9	0.018	0.095
<i>T. lenticularia</i>	19	1.5	42.9	0.068	0.132
<i>T. infestans</i>	20	1.5	35.7	0.143	0.134

N = Tamaño de la población

* un alelo es considerado polimórfico si la frecuencia del alelo más común no excede de 0.95

** HdyWbg = Equilibrio Hardy-Weinberg.

VII.5. Endogamia

Para el análisis Hardy Weinberg se utilizó el índice de fijación de endogamia o de Wright, como una medida alterna para predecir este equilibrio. Los valores cercanos a 0 indican un alelo en equilibrio, es decir, igual número de heterocigotos que homocigotos. También se pueden encontrar valores de +1 o -1, indicando ciertas variaciones en el equilibrio de los alelos, favoreciéndose individuos homocigotos (valores de +1) o individuos heterocigotos (valores menores o iguales a -1). Para todas las especies, la mayoría de los alelos se observaron monomórficos, por lo que estas poblaciones se encuentran fuera de equilibrio Hardy-Weinberg, favoreciendo dentro de estas poblaciones a individuos homocigotos o heterocigotos (Tabla 7).

Tabla 7. Análisis de Endogamia por locus para las especies de triatóminos analizados.

Locus	<i>T. bassolsae</i>	<i>T. pallidipennis</i>	<i>T. longipennis</i>	<i>T. mazzottii</i>	<i>T. rubida</i>	<i>T. lenticularia</i>	<i>T. infestans</i>
ME1	Mono	Mono	Mono	Mono	Mono	Mono	Mono
ME2	Mono	Mono	Mono	Mono	Mono	+1	Mono
PEP1	Mono	Mono	Mono	Mono	Mono	Mono	Mono
PEP2	Mono	+1	-0.143	Mono	+1	Mono	+1
PEP3	Mono	Mono	Mono	Mono	Mono	-0.027	Mono
GOT	Mono	Mono	Mono	Mono	-0.053	+1	+1
GPI	Mono	Mono	Mono	Mono	Mono	Mono	Mono
MDH1	-0.071	Mono	+1	Mono	Mono	+1	Mono
MDH2	Mono	+1	+1	+1	+1	+1	Mono
PGM1	Mono	Mono	Mono	Mono	Mono	-0.188	Mono
PGM2	-1	-0.692	-0.270	-0.847	-0.081	-0.407	-0.909
LAP	Mono	Mono	0.059	Mono	Mono	Mono	-0.613
G6PD-1	Mono	+1	+1	+1	+1	Mono	+1
G6PD-H	Mono	Mono	+1	Mono	+1	Mono	Mono

Mono = Alelos monomórficos

VII.6. Loci diagnóstico

Las especies del complejo *Phyllosoma* no revelaron ningún loci diagnóstico, es decir, ningún loci que las pudiera identificar dentro de estas especies. Las diferencias entre este complejo, solo mostraron alrededor de dos loci distintos entre cada una de estas especies (Tabla 8).

Para especies que no pertenecen al complejo *Phyllosoma* se encontró lo siguiente: la especie *T. rubida* muestra una clara diferencia con las especies del complejo *Phyllosoma* y otras especies de complejos externos, encontrándose al menos seis sistemas diferente con corrimientos que pueden identificar a esta especie dentro de todas las especies analizadas en este trabajo. Dentro de los loci diagnósticos para *T. rubida* encontramos los siguientes loci: ME1, GOT, GPI, MDH1 y LAP.

Tabla 8. Loci diferentes por especies.

	<i>T. bassotsae</i>	<i>T. pallidipennis</i>	<i>T. longipennis</i>	<i>T. mazzottii</i>	<i>T. rubida</i>	<i>T. lenticularia</i>
<i>T. pallidipennis</i>	6pgdh (7.1)*	Ninguno				
<i>T. longipennis</i>	Pep3 (7.1)*	Ninguno	ninguno			
<i>T. mazzottii</i>	Lap, 6pgdh (4.3)*	6pgdh, Lap (4.3)*	Pep3, 6gdh (4.3)*	ninguno		
<i>T. rubida</i>	Me1, Got, Gpi, Mdh1, Pgm1, Lap (42.9)*	6pgdh, Me1, Got, Gpi, Mdh1, Pgm1, Lap (50.0)*	Me1, Got, Gpi, Mdh1, Pgm1, Lap (42.9)*	6pgdh Me1, Got Gpi, Mdh1, Pgm1, Lap (50.0)*	ninguno	
<i>T. lenticularia</i>	Pep1, Pep3, Got, Gpi, Lap (35.7)*	Pep1, Got, Gpi, Lap, 6pgdh (35.7)*	Pep1, Got, Gpi, Mdh1 (28.5)*	Pep1, Pep3, Got, Gpi, 6pgdh (35.7)*	me1, lap pep1, gpi, pgm1, (35.7)*	ninguno
<i>T. infestans</i>	Me1, Me2, Pep2, Pep3, Got, Gpi, Lap, Mdh1, Pgm1 (64.3)*	Me1, Me2, Pep2, 6pgdh, Got, Gpi, Lap, Mdh1, Pgm1 (64.3)*	Me1, Me2, Pep1, Pep2, Got, Gpi, Pgm1, Lap (57.1)*	Me1, Me2, Got, Gpi, Lap, Mdh1, Pgm1, 6pgdh (57.1)*	Me1, Me2, Pep2, Got, Gpi, Mdh1, Pgm1, Lap (57.1)*	Me1, Pep1, Pep2, Mdh1, Pgm1, Lap (42.9)*

* = Los números entre los paréntesis indican el porcentaje de alelos diferentes entre las especies comparadas.

La especie *T. lenticularia* de igual manera que *T. rubida* posee varios loci diagnósticos que la diferencian entre todas las especies analizadas. Los sistemas diagnósticos importantes para *T. lenticularia* fueron PEP1 y GPI, ya que son loci que muestran un corrimiento muy particular para esta especie. Los demás loci pierden su carácter de diagnóstico ya que son compartidos con otra especie, especialmente con *T. rubida*.

La especie *T. infestans* se comportó diferente a las especies del complejo *Phyllosoma* e incluso a las especies *T. rubida* y *T. lenticularia*, ya que presentó el mayor número de loci diagnósticos de todas las especies analizadas. Entre estos sistemas se encontraron a ME1, ME2, PEP2, GOT, MDH1 y LAP, es decir, alrededor del 43% de diferencia de los locis analizados entre todas las especies.

VII.7. Distancias Genéticas Nei y filogenia

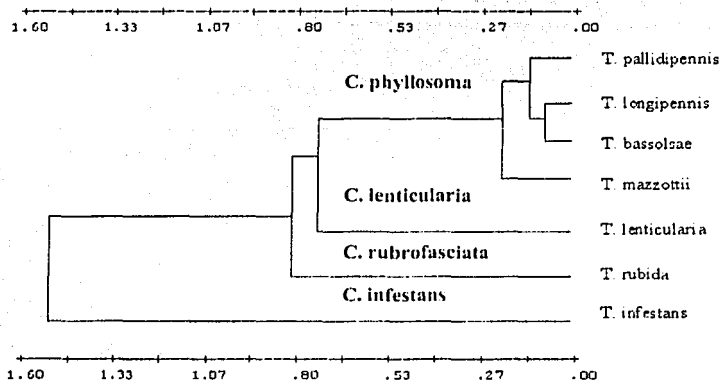
La distancia genética de Nei, fue obtenida a partir de las frecuencias alélicas observadas para cada una de las especies. Las distancias cercanas a 0 indican, una similitud entre estas especies, mientras que las distancias mayores a 0 indican el grado de diferencia entre las dos especies analizadas. Como se puede observar en la tabla 9, las especies comprendidas en el complejo *Phyllosoma* presentaron distancia menores o iguales a 0.207. La especie *T. bassolsae* mostró una distancia genética de 0.046 unidades con respecto a la especie *T. longipennis* (Tabla 9), por lo que se corrobora la clasificación morfológica anteriormente descrita, agrupándola dentro de las especies del complejo *Phyllosoma*. Las especies de los otros complejos como *T. lenticularia*, *T. rubida* y *T. infestans* presentan distancias mayores o iguales a 0.747 (Tabla 9), distancias que las identifican como agrupaciones de especies fuera del complejo *Phyllosoma*.

Tabla 9. Distancias genéticas de Nei para las especies de triatóminos analizados.

Especies	<i>T. longipennis</i>	<i>T. lenticularia</i>	<i>T. infestans</i>	<i>T. bassolsae</i>	<i>T. mazzottii</i>	<i>T. rubida</i>
<i>T. pallidipennis</i>	0.104	0.747	1.495	0.104	0.207	0.809
<i>T. longipennis</i>		0.747	1.495	0.046	0.207	0.809
<i>T. lenticularia</i>			1.495	0.747	0.747	0.809
<i>T. infestans</i>				1.495	1.495	1.495
<i>T. bassolsae</i>					0.207	0.809
<i>T. mazzottii</i>						0.809

Finalmente, para la construcción del árbol fenético se utilizó una matriz de promedios (UPGMA), usando las distancias genéticas de Nei de la tabla 9. El fenograma obtenido se ilustra en la figura 8. Las especies del complejo *Phyllosoma* presentan distancias genéticas cercanas, por lo que se agrupan en un clado reconocible, mientras que las especies externas a este complejo se muestran más alejadas.

Figura 8. Árbol UPGMA derivado de las distancias de Nei, para las especies de Triatóminos



VIII. DISCUSIÓN

El análisis genético para las especies del complejo *Phyllosoma* llevado a cabo en este trabajo incluye algunas especies (*T. pallidipennis*, *T. longipennis*, *T. mazzottii*) analizadas por Flores y colaboradores en el 2001. El aporte de este trabajo a la clasificación realizada para las especies del complejo *Phyllosoma*, es el análisis de la especie *T. bassolsae*, recientemente descrita por Alejandre y colaboradores en 1999, la cual no había sido analizada con marcadores genéticos. Por sus características de reciente descripción *T. bassolsae* es una especie a la que no se le ha atribuido ninguna importancia epidemiológica ya que sólo ha sido reportada en el estado de Puebla, pero su inclusión al complejo *Phyllosoma* y su reciente descripción, exigen un análisis más detallado. Otro aporte importante de este trabajo fue el estudio de las especies *T. lenticularia* (Complejo *Lenticularia*) y *T. rubida* (Complejo *Rubrofasciata*) que al igual que *T. bassolsae* no habían sido analizadas con marcadores moleculares. El estudio de estas dos especies es necesario, por su importancia epidemiológica en las zonas rurales del país, ya que son especies que, aunque no se encuentran distribuidas a lo largo de toda la República Mexicana, si se localizan en los estados de Baja California Norte y Sur, Nuevo León, Sinaloa y Sonora, siendo los principales vectores de la enfermedad de Chagas en estas regiones del país (Aguirre-Pequeño, 1947; Lent y Wygodzinski, 1979; Zárate y Zárate, 1985; Martínez-Ibarra, 1992; Cortés-Jiménez *et al.*, 1996; Paredes *et al.*, 2001).

Los análisis isoenzimáticos realizados con los diversos tipos de vectores, demostraron su utilidad al mostrar información genética importante sobre especímenes sudamericanos. En la literatura se han reportado trabajos que analizan entre 7 y 15

sistemas isoenzimáticos. Por ejemplo los estudios realizados para la especie *T. sordida*, por Neireau y colaboradores en 1999 usando 7 sistemas isoenzimáticos, mostraron diferencias en algunos locus, tales como, MDH1 y PGM. Para las especies del género *Rhodnius*, Chávez y colaboradores en 1999, emplearon 12 sistemas isoenzimáticos, cuatro de ellos: IDH, GPI, FDP y MPI, mostraron claros patrones de heterocigocidad entre las especies analizadas, además de identificar 29 alelos diagnósticos, y revelar claras distinciones entre las especies *R. stail* y *R. pictipes*, especies de difícil clasificación. Para la especie *T. brasiliensis*, Costa y colaboradores en 1997, usaron 15 sistemas isoenzimáticos, de los cuales, 8 fueron importantes (MDH, ME, IDH, HK, PGM, FUM, PEP2 Y ACON), a partir de estos perfiles isoenzimáticos se detectaron diferencias en las sub especies de triatóminos analizados (*T. b. brasiliensis*, *T. b. macromelasoma* y *T. b. melanica*). Para las especies del complejo *Phyllosoma* se han usado 12 sistemas isoenzimáticos (Flores *et al.*, 2001) ayudando a resolver la problemática de clasificación de la especie *T. dimidiata*, ya que muchos autores la ubicaban taxonómicamente dentro del complejo *Phyllosoma* (Schofield, 1994, Lyman *et al.*, 1999).

En este trabajo se usaron 10 sistemas isoenzimáticos (Anexo 2), que comprenden 14 loci, de acuerdo a la literatura. Este número de sistemas es adecuado para el estudio de las 7 especies de triatóminos (*T. bassolsae*, *T. pallidipennis*, *T. longipennis*, *T. mazzottii*, *T. rubida*, *T. lenticularia* y *T. infestans*).

La estructura genética poblacional de algunos de los triatóminos estudiados, mostró valores similares tanto en polimorfismo, como en frecuencias alélicas, a los reportados en la literatura. En particular, los valores de polimorfismo para las especies *T. longipennis* (53% P[0.95]) y *T. pallidipennis* (29% P[0.95]) analizadas por Flores y colaboradores (2001), corresponden con los valores de las especies analizadas en este

trabajo (*T. longipennis* 50% P[0.95] y *T. pallidipennis* 28.6% P[0.95]). Las especies de complejos externos, que no se habían analizadas por sistemas isoenzimáticos, presentaron polimorfismos similares a las especies del complejo *Phyllosoma*, por ejemplo, para la especie *T. lenticularia* se detectó un polimorfismo de 42.9%, y para *T. rubida* un 42.9%. En cambio, para la especie *T. infestans*, el polimorfismo detectado en este trabajo fue de 35.7%. En otros trabajos se había reportado para esta especie polimorfismos mayores de 58.53 % (Breniere *et al.*, 1997) y de 92% (García *et al.*, 1995), por lo que, a diferencia de los valores obtenidos para las diferentes especies analizadas, los valores de polimorfismo para *T. infestans*, parece que se han modificado por el tiempo de estancia en el laboratorio. Por lo cual, se pudiera sugerir, que para estancias menores a 10 años, en el caso particular de las especies *T. pallidipennis* y *T. longipennis*, no se observaron ninguna diferencia en polimorfismo entre las especies mantenidas en colonias de laboratorio y las mismas especies colectadas en campo, mientras que para estancias mayores como es el caso de la especie *T. infestans* (18 años en estancia en el laboratorio), estos parámetros si pudieran verse modificados. Otra explicación para esta diferencia, podría ser que la colonia se inició con un número reducido de individuos que no reflejaban la diversidad de la especie ó también estas diferencias pueden ser el resultado de la utilización de diferentes sistemas isoenzimáticos.

La heterocigocidad observada por Flores y colaboradores en el 2001 para las especies *T. longipennis* y *T. pallidipennis* fueron de 0.017 y 0.018 respectivamente, mientras que en nuestro análisis, se detectó un número mayor de alelos heterocigotos. Para la especie *T. longipennis* se registró 0.134 y para *T. pallidipennis* 0.058. Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas cuando se aplicó un prueba de X^2 , por

lo que se puede concluir que, las variaciones en heterocigocidad son similares para estas dos especies, tanto en individuos provenientes de colonias como silvestres.

Los valores de endogamia analizados para cada loci, muestran un gran numero de alelos monomórficos, es decir, alelos homocigotos con frecuencias de 1 (Tabla 5). Para aquellos loci que se presentan con variantes alélicas, se detectó una clara desviación del equilibrio Hardy-Wienberg, favoreciéndose en su mayoría los individuos homocigotos, encontrando 21 loci de 28, con valores iguales o similares a +1, mientras que 6 loci de 28 son favorecidos hacia heterocigotos, o con valores entre los rangos de 0 a -1. De los 14 loci analizados para las siete poblaciones de triatóminos, no se detecto ningún de ellos en equilibrio Hardy-Weinberg (Tabla 6).

El complejo *Phyllosoma* no mostró ningún loci diagnóstico, ya que por lo menos un alelo es compartido con las otras especies de este complejo, esto revela una clara similitud entre estas especies (Flores *et al.*, 2001).

La poca variación genética entre las poblaciones analizadas en este trabajo, podrían explicarse por algunas de las características de los triatóminos, entre ellas encontramos los hábitos de dispersión, ya que aunque estos vectores poseen alas, éstas no tienen un uso práctico, y generalmente son empleadas para planear, más que para volar. Se ha registrado en algunos estudios en Brasil y Argentina una máxima capacidad de vuelo de 200 metros (Schofield 1984), por lo que se puede decir que los triatóminos son generalmente malos para dispersarse. Por otro lado, las cruza híbridas que se han reportado entre algunas de estas especies (Mazzottii y Osorio, 1940; Ryckman, 1962), no han sido comprobadas y este pudiera ser un factor importante para limitar la variabilidad genética de las especies de campo, aunque haya reportes de simpatria entre ellas (Flores, 2001).

Una forma de evaluar las diferencias entre las especies es a partir del cálculo de las distancias genéticas, las cuales muestran una medida indirecta de la evolución de las especies. Aunque el árbol genético obtenido en este análisis no refleja las relaciones de parentesco establecidas por las clasificaciones morfológicas, la clasificación obtenida es el reflejo de las relaciones geográficas de los diferentes complejos de triatóminos, es decir, la especie *T. infestans* es la más distante a las especies del complejo Phyllosoma ya que es un vector sudamericano, las especies *T. rubida* y *T. lenticularia* son especies cercanas al complejo Phyllosoma y ubicándose al norte de la República mexicana y por último el complejo Phyllosoma, especies que se localizan en la región central de México. Para las especies pertenecientes al complejo Phyllosoma, se puede concluir que las distancias obtenidas en este trabajo reflejan grupos claros de especies, las cuales, por sus cortas distancias genéticas se pueden ver como especies con una ancestría común y una reciente evolución (Lyman *et al.*, 1999; Marcilla *et al.*, 2001; Flores *et al.*, 2001).

Finalmente, la especie *T. bassolsae* mostró una distancia genética de 0.046 con respecto a *T. longipennis*, por lo que se confirma la pertenencia de esta especie al complejo Phyllosoma, y su clasificación previamente determinada por caracteres morfológicos.

IX. CONCLUSIONES

1. Las distancias genéticas de Nei obtenidas a partir de la técnica de isoenzimas, permitió la identificación de cada una de las especies del complejo *Phyllosoma* y especies de complejos externos.

2. Las variaciones polimórficas observadas para los organismos de campo correlacionan con las variaciones polimórficas observadas entre las especies de laboratorio estudiadas en este trabajo.

3. Se detectó un mayor número de individuos Heterocigotos mantenidos en las colonias de laboratorio que en los reportados en la literatura.

4. Las poblaciones de especies analizadas muestran una clara desviación del equilibrio Hardy-Wienberg, favoreciéndose individuos con alelos homocigotos.

5. Se comprobó genéticamente la clasificación de la especie *T. bassolsae* a partir de este análisis isoenzimático, agrupando claramente a esta especie dentro del complejo *Phyllosoma*.

6. Se observó la ausencia de loci diagnósticos para las especies del complejo *Phyllosoma*, mientras que las especies de complejos externos como son *T. rubida*, *T. lenticularia* y *T. infestans* si presentaron éstos.

7. Se comprobó la utilidad de los marcadores isoenzimáticos, al mostrar una fácil identificación de todas las especies analizadas, sin detectar los clásicos problemas de clasificación morfológica.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

X. BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre-Pequeño E. (1947). Presencia de *Trypanosoma cruzi* en mamíferos y triatomídeos de Nuevo León, México. *Archives Medical of México*. 5: 350-358.
- Alejandro Aguilar R., Nogeda Torres B. & Cortez Jiménez M. (1993). Estudio comparativo de la susceptibilidad de 5 especies de Triatomínos (Insecta: Reduviidae: Hemiptera) a la infección con *T. cruzi*. *Revista Latinoamericana*. 35: 201-206.
- Alejandro Aguilar R., Nogeda Torres B., Cortes Jiménez M., Galvão C. & Carrillo R. (1999). *Triatoma bassolsae* sp.n. do México, com uma chave para as espécies do complexo "Phyllosoma" (Hemiptera, Reduviidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 94: 353-359.
- Avise J.C. (1993). Molecular markers, natural history and evolution. Ed., Chapman and Hall, Estados Unidos. pp. 16-91.
- Barges M.D., Marcilla A., Ramsey J.M., Dujardin J.P., Schofield C.J. & Mas-Comas S. (2000). Nuclear rDNA-based molecular clock of the evolution of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), vector of Chagas disease. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 95: 567-573.
- Bautista N.L., García de la Torre G. S., De Haro Arteaga I. & Salazar-Schettino P.M. (1999). Importancia of *Triatoma pallidipennis* (Hemiptera: Reduviidae) as a vector of *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in the state of Morelos, México, and possible ecotopes. *Journal Medical Entomology*. 36: 233-235.
- Beard C.B., Cordon-Rosales C. & Durvasula R.V. (2002). Bacterial symbiosis of the Triatominae and their potencial use in control of Chagas disease transmission. *Annual Review of Entomology*. 47: 123-141.
- Beard C.B., Dotson E.M., Pennington P.M., Eichler S., Cordon-Rosales C. & Durvasula R.V. (2001). Bacterial symbiosis and paratransgenic control of vector-borne Chagas disease. *International Journal for Parasitology*. 31: 621-627.
- Beltrán E. & Pérez Reyes J. (1949). Hallazgo de *Schizotrypanum cruzi* en una rata (*Rattus norvegicus*) en la Ciudad de México. *Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales*. 10: 235-238.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Carcavallo R.U., Jurberg J., Lent H., Noireau F. & Falvao C. (2000). Phylogeny of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). Proposal for taxonomic arrangements. *Entomology of Vector*. 7: 1-99.
- Carcavallo R.U., Martínez A. & Peláez D. (1987). Una nueva especie de *Triatoma* Laporte de México. *Chagas*. 4: 476-477.
- Chagas C. (1909). Nova tripanosomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* ng. nsp. agente etiológico do nova entidade morbida no homem. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 1: 159-218.
- Cortés-Jiménez M., Nogueira B., Alejandre-Aguilar R., Isita-Torneli L. & Ramírez Moreno E. (1996). Frequency of Triatomines infected with *Tripanosoma cruzi* collected in Cuernavaca city, Morelos, México. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 38:115-119.
- Costa J., Freitas-Sibajev M.G.R., Marchon-Silva V., Quiñónez pires M. & Pacheco R.S. (1997). Isoenzimas Detect Variation in population of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera:Reduviidae:Triatominae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 92: 459-464.
- Chávez T., Moreno J. & Dujardin J.P. (1999). Isoenzyme electrophoresis of *Rhodnius* species: a phenetic approach to relationship within the genus. *Annal of Tropical Medicine and Parasitology*. 93: 299-307.
- De La Merced S.A. (1987). Chagas' disease vectors. Vol. I, II y III Anatomic and Physiological Aspects, CRC Press Inc. Boca Raton, Florida.
- De Castro S.L. (1993). The challenge of Chagas' disease chemotherapy: an update of drugs assayed against *Trypanosoma cruzi*. *Acta Tropical*. 53:83-98.
- Dias Abuja S.A. (1985). Miocarditis por *Trypanosoma cruzi* en perros. *Veterinarian (Mex.)*. 15: 41-44.
- Dujardin J.P., Panzera P. y Schofield C.J. (1999). Triatominae as a model of morphological plasticity under ecological pressure. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 94: 223-228.
- Dujardin J.P., Steindel M., Chavez T., Machane M. & Schofield C.J. (1999). Changes in the sexual dimorphism of Triatominae in the transition from natural to artificial habitats. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 94: 565-569.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Emmanuelle-Machado P., Koerich L.B., De Boni Joukoski D., Carvalho-Pinto C.J., Grisard E.C. & Steindel M. (2002). Biology of *Triatoma klugi* Carcavallo, Jurberg, Lent and Galvao 2001 (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions: Effects of distinct blood sources and susceptibility to *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. **97**: 583-587.
- Feder D., Mello C.B. & Azambuja P. (1996). Immune response in *Rhodnius prolixus*: influence of nutrition and ecdysone. *Journal of Insect Physiology*. **43**: 513-519.
- Flores A., Magallón Gastélum E., Bosseno M.F., Ordoñez R., Lozano Kasten F., Espinoza B., Ramsey J. & Breniere F. (2001). Isoenzyme variability of five principal triatomine vector species of Chagas disease in México, *Genetics and Evolution*. **1**: 21-28.
- Flores P.A. (2001). Tesis de Maestría. Principales vectores de la enfermedad de Chagas en el occidente mexicano: estudios epidemiológicos y genéticos de poblaciones peridomésticas y domésticas. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Galvao C., Jurber J., Conha V. & Pinto R. (1995). Biología do *Triatoma nitida* (usinger 1939) em laboratorio (Hemiptera: Reduviidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. **90**: 657-663.
- García L.A., Carrasco J.H., Schofield J.C., Russel Stothard J., Frame A.I., Sebastiao A.S. V. & Miles A. M. (1998). Random amplification of polymorphic DNA as a tool for taxonomic studies of Triatomine bugs (Hemiptera: Reduviidae). *Entomological Society of America*. **35**: 38-45.
- Goldsmith R.S., Kagan I.G. & Zárate C.R. (1978). Epidemiological studies of Chagas disease in Oaxaca, México. *Boletín de la Oficina Panamericana*. **12**: 236-250.
- Goldsmith R.S., Kagan I.G. Zárate C.R., Reyes-Gonzalez M. & Cedeño J. (1979). Estudios epidemiológicos de la enfermedad de Chagas en Oaxaca, México. *Boletín Sanitario Panamericano*. **87**:1-17.
- Graur D. & Li W.H. (1999). Fundamentals of Molecular Evolution. Ed Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts USA pp. 20-41.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

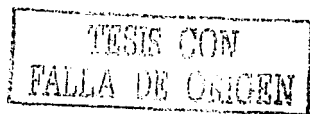
- Guhl F. & Vallejo G.A. (1999). Interruption of Chagas disease transmission in the andean countries: Colombia. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. **94**: 413-415.
- Guzmán-Bracho C. (2001). Epidemiology of Chagas disease in México: an update. *Trends in Parasitology*. **17**: 372-376.
- Guzmán-Bracho C., García I., Floriani J., Guerrero S., Torres M., Ramírez C. & Velasco-Castrejón O. (1998). Riesgo de transmisión de *Trypanosoma cruzi* por transfusión de sangre en México. *Revista Panamericana de Salud Pública*. **4**: 94-99.
- Guzmán-Marín E.S., Barrera-Pérez M. A., Rodríguez-Felix E. & Zavala-Velázquez J.E. (1992). Hábitos biológicos de *Triatoma dimidiata* en el estado de Yucatán, México. *Revista de Biomedicina*. **3**: 125-131.
- Hartl D.L. & Clark A.G. (1997). Principles of population genetics 3ra ed, Ed. Sinauer. Massachusetts U.S.A. pp. 1-109.
- Hillis D.M., Moritz C. & Mable B.K. (1996). Molecular Systematics Ed., Sinauer Associates, INC., U.S.A. pp.41-69.
- Hlysa V., Tietz D.F., Zrzavý J., Rego R.O. M., Galvao C. & Jurberg J. (2002). Phylogeny and biogeography of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): Molecular evidence of a new world of the asiatic clade. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. **23**: 447-457.
- Ibañez S., Bernal R. & Paz-Rodríguez M. (1998). Los Complejos de Especies de *Triatoma* en México y centro América. II Taller Internacional sobre genética poblacional y control de Triatominos, Tegusigalpa, Honduras.
- Jiménez M.L., Lilitas J., & Palacios C. (2003). Infection rates in *Dipetalogaster maximus* (Reduviidae: Triatominae) by *Trypanosoma cruzi* in the Cape region, Baja California Sur, México. *Journal of Medical Entomology*: **40**: 18-21.
- Katz M., Despommier D.D. & Gwadz R. (1989). Parasitic Diseases. Ed. Springer-Verlag. New York. pp 141.
- Kollien A.H. & Schaub G.A. (2000). The development of *Tripanosoma cruzi* in *Triatominae*. *Parasitology Today*. **16**: 381-387.
- Leedale G.F. & Vickerman K. (2000). An illustrated guide to the protozoa. Organisms Traditionally referred to a protozoa, or newly discovered groups. Society of Protozoologists. USA. Lawrence. 1432 pp.

- Lent H. & Wygodzinsky P. (1979). Revision of de Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) and their significance as vector of Chagas disease. *Bolletín of the American Museum of Natural History*. 163: 142-520
- Lima M. & Pinto T.Z. (1998). Life cycle and reproductive patterns of *Triatoma rufrofaciata* (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 93: 539-542.
- Lyman F.D., Monteiro A.F., Escalante A.A., Cordon-Rosales C., Wesson M.D., Dujardin J.P. & Beard B.C. (1999). Mitochondrial DNA sequence variation among Triatomine vectors of Chagas' disease. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 60: 377-386.
- Magallón-Gastélum E., Magdaleno-Peñaloza N.C. Kathain-Duchateau G., Trujillo-Contreras, Lozano-Kasten F.J. & Hernández-Gutiérrez R.J. (1998). Distribución de los vectores de la enfermedad de Chagas (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). en el estado de Jalisco, México. *Revista de Biomedicina*. 9: 151-157.
- Manguin S., Wilkerson R.C., Conn J.E., Rubio-Palis Y., Danoff-Burg A. & Roberts D.R. (1999). Population structure of the primary Malaria vector in south America. *Anopheles darlingi* using isoenzyme, random amplified polymorphic DNA, internal transcribed spacer 2 and morphologic markers. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 60: 364-376.
- Marcella A., BARGUES M.D., Ramsey J.M., Magallon-Gastelum E., Salazar-Shettino P.M., Abad-Franch F., Dujardin J.P., Schofield C.J. & Mas-coma S. (2001). The ITS-2 of the nuclear rDNA as a molecular marker for populations, species, and phylogenetic relationships in Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), vector of Chagas Disease. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 18: 136-142.
- Martínez A., Carcavallo R.U. & Pelaez D. (1984). *Triatoma brailovskyi*, nueva especie de Triatominae de México. *Chagas*. 1: 72-75.
- Martínez-Ibarra J.A. (1992). Distribución de los Triatóminos asociados al domicilio humano en el municipio general de Terán, Nuevo León y México. *Southwestern Entomologist*. 17: 261-265.
- Martínez-Ibarra J.A., Bárcenas-Ortega N.M., Noguera-Torres B., Alejandro-Aguilar R., Lino Rodríguez M. Magallón-Gastélum E. López-Martínez V., Romero-Nápoles

- J. (2001). Role of two *Triatoma* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) species in the transmission of *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) to man in the west coast of Mexico. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. **96**:141-144.
- Martínez Ibarra J.A., Novelo López M., Hernández Robles M. R. & Grant Guillén Y. (2003). Influence of the blood meal source on the biology of *Meccus picturatus* Usinger 1939 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) under laboratory conditions. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. **98**: 227-232.
 - Maya J.D., Repetto Y., Agosin M., Ojeda J.M., Téllez R., Gaule C. & Morillo A. (1997). Effects of Nifurtimox and Benznidazole upon Glutathione and Trypanothione content in epimastigote, tripomastigote and amastigote forms of *Trypanosoma cruzi* *Molecular and Biochemical Parasitology*. **86**:101-106.
 - Mazariego-Arana M.A., Monteón V.M., Vallinas-Berdugo M.A., Hernández Becerril N. Alejandre-Aguilar R. & Reyes P. A. (2001) Seroprevalence of human *Trypanosoma cruzi* infection in different geographic zones of Chiapas, Mexico. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* **34**: 453-458.
 - Mazzotti L. & Osorio M.T. (1940). Cruzamientos experimentales entre varias especies de Triatomas. *Revista de Medicina Mexicana*. **22**:215-222.
 - Monteiro F.A., Pérez R., Panzera F., Dujardin J.P., Galvao C., Rocha D., Noireau F., Schofield C. & Beard C.B. (1999). Mitochondrial DNA variation of *Triatoma infestans* populations and its implication on the specific status Of *T. melanosoma*, *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. **94**:229-238.
 - Monteiro F.A., Wesson D.M., Dotson E.M., Schofield C.J. & Beard C.B. (2000). Phylogeny and molecular taxonomy of the Rhodnini derived from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. **62**:460-465.
 - Monteiro F.A., Escalante A.A. & Beard C.B. (2001). Molecular tools and Triatomine systematics: a public health perspective. *Trends in parasitology*. **17**:344-347.
 - Nei M. (1996). Phylogenetic analysis in molecular evolutionary genetics. *Annual Reviews of Genetics*. **30**:371-403.

- Noireau F., Gutiérrez T., Zegarra M., Flores R., Breniere F., Cardozo L., & Dujardin J.P. (1998). Cryptic speciation in *Triatoma sordida* (Hemiptera: Reduviidae) from the Bolivia Chaco. *Tropical Medicine and International Health*. 3:364-372.
- Noireau F., Gutierrez T., Flores R., Breniere F., Bosseno M. F. & Wisnivesky-Colli C. (1999a). Ecogenetics of *Triatoma sordida* and *Triatoma guasayana* (Hemiptera:Reduviidae) in Bolivian Chaco. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 94:451-457.
- Noireau F., Zegarra M., Ordoñez J., Gutiérrez T. & Dujardin J.P. (1999b). Genetic structure of *Triatoma sordida* (Hemiptera: Reduviidae) domestic populations from Bolivia: Application on control interventions. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 94: 347-351.
- Paredes G.F.A., Valdéz Miranda J., Nogueta Torres B., Alejandro Aguilar R. & Canett Romero R. (2001). Vectorial importante of Triatominae bugs (Hemiptera: Reduviidae) in Guaymas, México. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 43: 119-122.
- Peña Briceño A.L. (1999). Tesis de licenciatura: Enfermedad de Chagas: una revisión Monográfica sobre su Tratamiento, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Rangel-Flores H., Sanchez B., Mendoza-Duarte J., Barnabé C., Brenière F., Ramos C. & Espinoza B. (2001) Serological and parasitology demonstration of *Trypanosoma cruzi* infections in an urban area of central Mexico: correlation with electrocardiographic alterations. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 65:887-895.
- Rocha Pires H.H., Barbosa S.E. & Diotaiuti L. (2000). Comparative developmental and suseptibility to insecticide of Bolivian and Brazilian population of *Triatoma infestans*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 95:883-888.
- Rodríguez-Carranza R. (1995). Vademécum académico de medicamentos McGraw Hill Interamericana. México.
- Rojas de Arias A. & Fournet A. (2002). Fipronil insectoicide: Novel aplicación against Triatomine insect vectors of Chagas disease. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 97 :535-539.

- Rozas-Dennis G.S., Cazniga J.N.M.A. & Guérin D. (2002). *Triatoma patagonica* (Hemiptera: Reduviidae), a new host for *Triatoma virus*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. **97**: 427-429.
- Ryckman R.E. (1984). The Triatominae of northn and central America and west indies: A checklist with synonymy (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Bolletín Society Vector Ecology*. **11**:209-220.
- Salazar-Schettino P.M., De Haro Arteaga I., Jiménez Martínez J. & García Carrera E. (1983). Dos nuevas localidades de transmisores de la enfermedad de Chagas en la República Mexicana. *Salud Pública de México*. **25**: 77-82.
- Schaefer A.W., & Coscaron M.C. (2001). The status of *Linschosteus* in the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). *Journal Medical Entomology*. **38**:862-867.
- Schaneider S., Roessli D., y Exepffre L., (2000) ARLEQUIN Version 2.000. A software for population Genetics data analysis. University of Genova Switzerland.
- Schenone H. & Rojas A. (1989). Algunos datos y observaciones en relación a la epidemiología de la enfermedad de Chagas. *Boletín Chileno de Parasitología*. **44**:66-86.
- Schofield C.J. (1985). Control of Chagas disease vectors. *Br. Medical Bulletin*. **41**: 187-194.
- Schofield C.J. (1994). Triatominae: Biología y control. Euromunica Publications. Uruguay. Montevideo.
- Schofield C.J. & Dujardin J. (1997). Chagas disease vector control in central America. *Parasitology Today*. **13**:141-145.
- Selender R.K., Gaugant D.A., Ochman H., Musser J.M., Gilmour M.N. & Whittam T.S. (1986). Methods of multilocus enzyme electrophoresis for bacterial population genetics and systematics. *Applied and Enviromental Microbiology*. **51**: 873-884.
- Stothard J.R., Yamamoto Y., Cherehi A., García A.L., Valente S. A. S., Schofield C.J. & Miles M.A. (1998). A preliminary survey of mitochondrial sequence variation in Tristominae (Hemiptera: Reduviidae) using polimerase chain reaction-based single strand conformational polymorphism (SSCP) analysis and direct sequencing. *Bulletin of Entomological Research*. **88**: 553-560.



 TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

- Swofford D.L. & Selander R.B. (1989). BIOSYS-1 version 1.7. A computer program for the analysis of allelic variation in populations genetics and biochemical. Natural History Survey and University of Illinois at Urban-Champaign. Illinois U.S.A.
- Trujillo F.C., Villanueva M.A.Y., Soto M. G., Raygoza M.A. & Jiménez A. C. (2000) Seguimiento sexológico de infección por *Trypanosoma cruzi* en individuos estudiados de 50 municipios del estado de Jalisco México de 1987 a 1994. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. **33**:591-596.
- Tyler K.M. & Engman D.M. (2001). The life cycle of *Trypanosoma cruzi* revisited. *International Journal for Parasitology*. **31**: 472-481.
- Velasco-Castrejón O. (1991). La enfermedad de Chagas: Una revisión histórica suscita y parcial de lo que ocurre en México y en el mundo. *Publicaciones Técnicas del INDRE*. **8**:1-55.
- Velasco-Castrejón O. & Guzmán-Bracho C. (1986). Importance of Chagas disease in México. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. **28**: 275-283.
- Velasco-Castrejón O. Valdespino J.L., Tapia-Conyer R., Salvatierra B., Guzmán-Bracho C., Magos C., Llausás A., Gutiérrez G. & Sepúlveda J. (1992). Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en México. *Salud Pública de México*. **34**:186-196.
- Vidal-Acosta V., Ibáñez S., Bernal R. & Martínez-Campos C. (2000). Infección natural de chinches Triatominae con *Trypanosoma cruzi* asociada a la vivienda humana en México. *Salud Pública de México*, **42**: 496-503.
- Villegas-García J.C. (2001). *Triatoma dimidiata* Latreille, 1811 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) In central México: First record for the state of Morelos. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. **95**: 729- 731.
- World Health Organization. (1991). Control of Chagas disease. Report of a WHO Expert Committee. Geneva: World Health Organization, Technical report series. No. 811.
- World Health Organization. (2000). Weekly epidemiological record Relevé épidémiologique hebdomadaire, Geneva: weekly epidemiological record. **75**: 9-16.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

- Zárate L.G. & Zárate R.J. (1980). The biology and behaviour of *Triatoma barberi* (Hemiptera: Reduviidae) in México. I blood sources and infection with *Trypanosoma cruzi*. *Journal of Medical Entomology*. **17**: 103-116.
- Zárate L.G. & Zárate R.J. (1985). A checklist of the Triatomine (Hemiptera: Reduviidae) of México. *International Journal of Entomology*. **27**: 102-127.
- Zeledón R. & Rabinovich J. (1981). Chagas disease: An ecological appraisal with special emphasis on it's insect vector. *Annual Reviews Entomology*. **25**: 101-133.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

XI. ANEXOS

Anexo I. Extracción

Volúmenes de solución del estabilizador isoenzimático empleado para las extracciones proteicas de los diferentes vectores con relación a su tamaño.

Especie	Tamaño		Pronoto		Volúmenes de Solución
	Macho*	Hembra*	Macho*	Hembra*	
<i>T. lenticularia</i>	16 / 22 mm	18 / 25 mm	3.7 / 5.5 mm	4.2 / 6.0 mm	50 µl
<i>T. mazzottii</i>	33 mm	34 mm	7 mm	7 mm	80 µl
<i>T. bassolsae</i>	30 / 32 mm	33 / 35 mm	6 mm	7 mm	80 µl
<i>T. pallidipennis</i>	31 / 34 mm	32 / 35 mm	6 / 7 mm	6 / 7 mm	80 µl
<i>T. longipennis</i>	29 / 34 mm	30 / 37 mm	6.5 / 7 mm	6.5 / 8 mm	80 µl
<i>T. infestans</i>	21 / 26 mm	26 / 29 mm	5.5 / 6.5 mm	6.0 / 6.5 mm	50 µl
<i>T. rubida</i>	15.5 / 20 mm	19.5 / 23 mm	4.0 / 4.5 mm	5.0 / 5.5 mm	50 µl

* - Fuente Lent y Widonszinky 1979.

Estabilizador enzimático

Reactivo	Numero de Catalogo*	Concentración	Peso Molecular (gramos/mol)	Gramos Por 50 ml
Ditriothreitol	D-0632	2mM	154.3	0.0154
Acido amino caproico	A-2504	2mM	131.2	0.0131
EDTA	808270	2mM	372.24	0.037

* Proveedor SIGMA

Disolver los reactivos en Búfer PBS 1x- D-glucosa al 0.55 M y ajustar a pH 7.00. Hacer alícuotas de 1ml y conservar a 0°C.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Anexo 2. Nombre, Abreviación y código de los sistemas isoenzimáticos

Nombre	Abreviación	Código
Aspartato amino transferasa	GOT	EC 2.6.1.1
Glucosa fosfato deshidrogenasa	G6PD	EC 1.1.1.49
Glucosa fosfato isomerasa	GPI	EC 5.3.1.9
Leucina amino peptidasa	LAP	EC 3.4.11.0.13
Malato deshidrogenasa	MDH	EC 1.1.1.37
Enzima malica	ME	EC 1.1.1.40
Peptidasa 1	PEP1	EC 3.4.11
Peptidasa 2	PEP2	EC 3.4.13
6-fosfo gluconato deshidrogenasa	6PGD	EC 1.1.1.44
Fosfoglicosa mutasa	PGM	EC 2.7.5.1

Reacciones enzimáticas para cada uno de los sistemas

Nombre	Abreviación	Reacción
Aspartato amino transferasa	GOT	aspartato + 2-oxaglutarato → oxaloacetato + L-glutamato
Glucosa fosfato deshidrogenasa	G6PD	D-glucosa-6-fosfato + NADP ⁺ → D-glucano-1,5 lactona 6-fosfato + NADPH
Glutamato deshidrogenasa	GDH	L-glutamato + NADP ⁺ → 2-Oxaglutarato + NH ₄ ⁺ + NADPH
Leucina amino peptidasa	LAP	Liberación de aa N-Terminal principalmente de leucina
Malato deshidrogenasa	MDH	Malato + NAD ⁺ → Oxaloacetato + NADH
Enzima malica	ME	Malato + NADP ⁺ → Piruvato + CO ₂ + NADPH
Peptidasa 1	PEP1	Liberación de aa N-Terminal principalmente de leucina
Peptidasa 2	PEP2	Dipeptidasa citoplásmica no específica
6-fosfogluconato deshidrogenasa	6PGD	6-fosfato-D-gluconato + NADP ⁺ → D-ribulosa-5-fosfato + CO ₂ + NADPH
Fosfoglicosa mutasa	PGM	D-glucosa-1-fosfato → a-D-glucosa-6-fosfato

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Anejo 3. Condiciones electroforéticas para cada sistema isoenzimático.

Enzima	Búfer	Búfer de Migración (% de disolución)*	Búfer de Embición (% de disolución)*	Voltaje (Volts)	Tiempo (Min.)	Tipo De Migración	Num. De Placas Por Cámara	Hielo	Numero de Loci
GOT	III Shaw	0	50	160	30	central	1	Si	1
G6PDH	HR	0	50	200	30	catódica	1	Si	1
6PGD	I Shaw	80	20	200	30	catódica	1	Si	1
GPI	I Shaw	0	20	200	20	catódica	1	Si	1
LAP	I Shaw	0	50	200	20	catódica	1	Si	1
MDH	I Shaw	0	50	200	20	central	1	Si	2
ME	I Shaw	0	20	200	20	catódica	1	Si	2
PGM	III Krietzer	50	20	200	25	catódica	1	Si	2
PEP1	HR	0	50	200	20	catódica	2	Si	2
PEP2	HR	0	50	200	20	catódica	2	Si	1

* Porcentaje de disolución del búfer en agua destilada empleado para corrimiento electroforéticos.

Búfer III Shaw

Reactivo	Numero de Catalogo*	Concentración	Peso Molecular (gramos mol)	Gramos por Litro
Trizma Base	T-1503	0.5M	121.1	60.55
Ácido Bórico	B-0252	0.65M	61.83	40.189
EDTA	808270	0.016M	372.24	5.956

* Proveedor SIGMA

Disolver los reactivos en agua destilada y ajustar a pH 8.0.

Búfer I Shaw

Reactivos	Numero de Catalogo*	Concentración	Peso Molecular (gramos mol)	Gramos por Litro
Trizma Base	T-1503	0.135M	121.1	16.35
Ácido cítrico monohidratado	0084	0.043M	210.14	9.036

* Proveedor SIGMA

Disolver los reactivos en agua destilada y ajustar a pH 7.0.

TESIS CON
FALLA DE JUREN

Búfer III Kreutzer

Reactivos	Numero de Catalogo*	Concentracion	Peso Molecular (gramos/mol)	Gramos Por Litro
Trizma Base	T-1503	0.1M	121.1	12.11
Ácido Maléico	M-0375	0.1M	116.1	11.61
MgCl ₂	M-0250	0.01M	203.3	2.033
EDTA	808270	0.01M	372.2	3.72

* Proveedor SIGMA

Disolver los reactivos en agua destilada y ajustar el pH 7.8.

Búfer HR

Reactivos	Numero de Catalogo*	Gramos Por Litro
Solucion Helena	5805	12

* Proveedor SIGMA

Disolver los reactivos en agua destilada y ajustar a pH 9.0.

TESIS CON
FALLA EN
EL TITULO

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Anexo 4: Reactivos sólidos para el revelado de la actividad isoenzimática.

PRODUCTO	Numero de Catalogo*	MDH	ME	PEP1	PEP2	6PGD	PGM	GOT	G6PD	GPI	LAP
Nad	N-7004	10mg									
Nadp	N-3886		5mg			5mg	5mg		5mg	5mg	
Acido α -ketoglutarico	A-7626							25mg			
Acido aspartico	A-9256							30mg			
5 fosfato de Piridoxal	P-9256							5mg			
Fast Blue BB	F-3378							20mg			
Glucosa 6-fosfato	G-7250								10mg		
Fructosa 6-fosfato	F-3627									10mg	
Elecnina α -naphthylamida	L-0376										15mg
Sil Fast Black	F-7253										20mg
L-leuco-L-leucina-leucina	L-0879			5mg	5mg						
L-leuco-L-leucina	L-9250				5mg						
L-Aminoacido oxidasa	A-9253			2mg	2mg						
Pentosaasa	P-8000			**	**						
Vanilino-9 Carbazol	A-5754			10mg	10mg						
Acido 6-fosfogluconico	P-7877					10mg					
Glucosa 1-6 Fosfato	G-1259						20mg				
Revelado en papel		no	no	si	si	no	no	no	no	no	no
Visualizacion		37°C	37°C	37°C	37°C	37°C	37°C	37°C	37°C	37°C	37°C

* Proveedor SIGMA

** :Punta de una espátula chica

Los reactivos para PEP1, PEP2 y LAP diluirlos en 400 μ l de etanol puro y agitar en un vortex por 5 minutos, incubar a 55 C por espacios de 1 minuto y agitar.

Las enzimas 6PGD y G6PD se procesan en el mismo instante de extraer el extracto proteico.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Soluciones líquidas para empleadas para el revelado de los sistemas isoenzimáticos.

LÍQUIDO	Número de Catalogo*	MDH	ME	PEP1	PEP2	G6PDH	PGM	GOT	G6PDH	GPI	LAP
H ₂ O		9 ml	7.5 ml	9 ml	9 ml	7.5 ml	7.5 ml	9 ml	9 ml	7.5 ml	
MgCl ₂ 6H ₂ O 1M	M-0250		250 µl	150 µl	150 µl	250 µl	250 µl		250 µl	250 µl	
MnCl ₂ 0.1M	M-3634			150 µl	150 µl						
TRIS-HCT 1M pH8	T-1503	1 ml		1 ml	1 ml	2.5 ml	2.5 ml	1 ml			
TRIS-HCT 1M pH7	T-1503		2.5 ml						5 ml	2.5 ml	
Trizma Base 0.2M, Ac Maleico 0.2 M pH6	T-1503 y M-0325										10 ml
Acido Malico 1M pH7	M-0875	0.9 ml	0.6 ml								
Glicosa 6 fosfato	G-8878						8 U/l			5 U/l	
NBT 10 mg/ml	N-5514	500 µl	500 µl			500 µl	500 µl		500 µl	500 µl	
PMS 10 mg/ml	P-9625	300 µl	300 µl			300 µl	300 µl		300 µl	300 µl	

* Proveedor SIGMA

NBT - Tetrasolium de azul nítrico

PMS - Metilsulfato de Fenazina

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Anexo 5: Lecturas de genotipos para cada especie analizada

T. pallidipennis

	ME1	ME2	PEP1	PEP2	PEP3	GOT	GPI	MDH1	MHD2	PGM1	PGM2	LAP	G6PDH	6PGDH
RAA023	2/2	1/1	2/2	3/3	2/2	4/4	3/3	2/2	1/1	2/2	3/4	1/1	3/3	2/2
RAA024	2/2	1/1	2/2	3/3	2/2	4/4	3/3	2/2	1/1	2/2	3/4	1/1	3/3	2/2
RAA081	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	1/1	2/2	3/4	1/1	2/2	2/2
RAA082	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	1/1	2/2	3/4	1/1	2/2	2/2
RAA083	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	1/1	2/2	3/3	1/1	2/2	2/2
RAA084	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	1/1	2/2	3/4	1/1	2/2	2/2
RAA110	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	2/2
RAA111	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	2/2
RAA112	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	2/2
RAA113	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/3	1/1	2/2	2/2
RAA114	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	2/2

T. longipennis

	ME1	ME2	PEP1	PEP2	PEP3	GOT	GPI	MDH1	MHD2	PGM1	PGM2	LAP	G6PDH	6PGDH
RAA029	2/2	1/1	2/2	3/3	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	2/2	3/3	3/3
RAA031	2/2	1/1	2/2	3/3	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	4/4	1/1	2/2	2/2
RAA065	2/2	1/1	2/2	1/2	2/2	4/4	3/3	2/2	1/1	2/2	3/4	1/1	2/2	3/3
RAA066	2/2	1/1	2/2	1/2	2/2	4/4	3/3	3/3	1/1	2/2	3/4	1/1	2/2	3/3
RAA068	2/2	1/1	2/2	1/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/3	1/4	2/2	3/3
RAA069	2/2	1/1	2/2	1/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/3	1/4	2/2	3/3
RAA070	2/2	1/1	2/2	1/2	2/2	4/4	3/3	2/2	1/1	2/2	3/4	1/4	2/2	3/3
RAA071	2/2	1/1	2/2	1/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/4	2/2	3/3

T. mazzottii

	ME1	ME2	PEP1	PEP2	PEP3	GOT	GPI	MDH1	MHD2	PGM1	PGM2	LAP	G6PDH	6PGDH
RAA085	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	1/1	2/2	2/4	2/2	2/2	1/1
RAA086	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	1/1	2/2	2/4	2/2	2/2	1/1
RAA087	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	1/1	2/2	2/4	2/2	2/2	1/1
RAA088	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	1/1	2/2	2/4	2/2	2/2	1/1
RAA090	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	2/2	2/2	1/1
RAA094	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	2/4	2/2	3/3	1/1
RAA095	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	2/4	2/2	3/3	1/1
RAA096	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	2/4	2/2	3/3	1/1
RAA097	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	2/4	2/2	3/3	1/1
RAA098	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	2/4	2/2	2/2	1/1
RAA099	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	1/1	2/2	2/4	2/2	2/2	1/1

TESIS CON
FALLA DE CUBIEN

T. lenticularis

	ME1	ME2	PEP1	PEP2	PEP3	GOT	GPI	MDH1	MHD2	PGM1	PGM2	LAP	G6PDH	6PGDH
RAA055	2/2	2/2	1/1	3/3	2/2	2/2	2/2	1/1	1/1	2/2	3/4	2/2	2/2	3/3
RAA057	2/2	2/2	1/1	3/3	2/2	3/3	2/2	2/2	2/2	2/2	3/4	2/2	2/2	3/3
RAA058	2/2	2/2	1/1	3/3	2/2	3/3	2/2	2/2	2/2	2/2	3/4	2/2	2/2	3/3
RAA059	2/2	2/2	1/1	3/3	2/2	3/3	2/2	2/2	2/2	2/3	3/4	2/2	2/2	3/3
RAA060	2/2	2/2	1/1	3/3	2/2	3/3	2/2	2/2	2/2	2/3	3/4	2/2	2/2	3/3
RAA061	2/2	2/2	1/1	3/3	2/2	3/3	2/2	2/2	2/2	2/3	3/3	2/2	2/2	3/3
RAA062	2/2	2/2	1/1	3/3	2/2	3/3	2/2	2/2	1/1	2/3	3/4	2/2	2/2	3/3
RAA063	2/2	2/2	1/1	3/3	2/3	3/3	2/2	2/2	1/1	2/3	3/4	2/2	2/2	3/3
RAA064	2/2	1/1	1/1	3/3	2/2	3/3	2/2	2/2	1/1	2/3	3/4	2/2	2/2	3/3
RAA115	2/2	2/2	1/1	3/3	2/2	3/3	2/2	1/1	1/1	2/2	3/4	2/2	2/2	3/3
RAA116	2/2	2/2	1/1	3/3	2/2	3/3	2/2	1/1	1/1	2/2	3/3	2/2	2/2	3/3
RAA117	2/2	2/2	1/1	3/3	2/2	3/3	2/2	1/1	1/1	2/2	3/4	2/2	2/2	3/3
RAA118	2/2	2/2	1/1	3/3	2/2	3/3	2/2	1/1	1/1	2/2	3/3	2/2	2/2	3/3
RAA119	2/2	2/2	1/1	3/3	2/2	3/3	2/2	1/1	1/1	2/2	3/4	2/2	2/2	3/3
RAA120	2/2	2/2	1/1	3/3	2/2	3/3	2/2	1/1	1/1	2/2	3/3	2/2	2/2	3/3
RAA121	2/2	2/2	1/1	3/3	2/2	3/3	2/2	1/1	1/1	2/2	3/3	2/2	2/2	3/3
RAA122	2/2	2/2	1/1	3/3	2/2	3/3	2/2	1/1	1/1	2/2	3/3	2/2	2/2	3/3
RAA123	2/2	2/2	1/1	3/3	2/2	3/3	2/2	1/1	1/1	2/2	3/3	2/2	2/2	3/3
RAA124	2/2	2/2	1/1	3/3	2/2	3/3	2/2	1/1	1/1	2/2	3/3	2/2	2/2	3/3

T. infestans

	ME1	ME2	PEP1	PEP2	PEP3	GOT	GPI	MDH1	MHD2	PGM1	PGM2	LAP	G6PDH	6PGDH
RAA072	1/1	2/2	2/2	3/3	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	2/4	1/1	3/3
RAA073	1/1	2/2	2/2	3/3	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	2/4	2/2	3/3
RAA074	1/1	2/2	2/2	3/3	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	2/4	1/1	3/3
RAA075	1/1	2/2	2/2	3/3	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	3/4	2/4	1/1	3/3
RAA076	1/1	2/2	2/2	3/3	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	2/4	1/1	3/3
RAA077	1/1	2/2	2/2	3/3	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	2/4	1/1	3/3
RAA078	1/1	2/2	2/2	3/3	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	2/4	1/1	3/3
RAA079	1/1	2/2	2/2	3/3	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	2/4	1/1	3/3
RAA080	1/1	2/2	2/2	3/3	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	2/4	1/1	3/3
RAA125	1/1	2/2	2/2	4/4	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	2/4	1/1	3/3
RAA126	1/1	2/2	2/2	4/4	1/1	1/1	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	2/4	1/1	3/3
RAA127	1/1	2/2	2/2	4/4	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	2/4	1/1	3/3
RAA128	1/1	2/2	2/2	4/4	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	3/4	1/1	3/3
RAA129	1/1	2/2	2/2	4/4	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	3/4	1/1	3/3
RAA130	1/1	2/2	2/2	4/4	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	3/4	1/1	3/3
RAA131	1/1	2/2	2/2	4/4	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	3/4	1/1	3/3
RAA132	1/1	2/2	2/2	4/4	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	3/4	1/1	3/3
RAA133	1/1	2/2	2/2	4/4	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	3/4	1/1	3/3
RAA134	1/1	2/2	2/2	4/4	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	3/4	1/1	3/3
RAA135	1/1	2/2	2/2	4/4	1/1	2/2	2/2	3/3	2/2	1/1	1/4	3/4	1/1	3/3

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

T. bassolsae

	ME1	ME2	PEP1	PEP2	PEP3	GOT	GPI	MDH1	MHD2	PGM1	PGM2	LAP	G6PDH	6PGDH
RAA136	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	0/0
RAA137	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	3/3
RAA138	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	3/3
RAA139	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	3/3
RAA140	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	3/3
RAA158	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	3/3
RAA159	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	3/3
RAA160	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	3/3
RAA161	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	3/3
RAA162	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	1/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	3/3
RAA163	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	1/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	3/3
RAA164	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	3/3
RAA165	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	3/3
RAA166	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	3/3
RAA167	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	3/3
RAA168	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	3/3
RAA169	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	4/4	3/3	2/2	2/2	2/2	3/4	1/1	2/2	3/3

T. rubida

	ME1	ME2	PEP1	PEP2	PEP3	GOT	GP	MDH1	MHD2	PGM1	PGM2	LAP	G6PDH	6PGDH
RAA091	3/3	1/1	2/2	3/3	2/2	1/3	1/1	1/1	1/1	3/3	3/4	3/3	1/1	4/4
RAA092	3/3	1/1	2/2	3/3	2/2	3/3	1/1	1/1	1/1	3/3	3/4	3/3	1/1	4/4
RAA093	3/3	1/1	2/2	3/3	2/2	1/3	1/1	1/1	1/1	3/3	3/4	3/3	1/1	4/4
RAA141	3/3	1/1	2/2	2/2	2/2	3/3	1/1	1/1	1/1	3/3	3/3	3/3	2/2	3/3
RAA142	3/3	1/1	2/2	2/2	2/2	3/3	1/1	1/1	1/1	3/3	3/3	3/2	2/2	3/3
RAA143	3/3	1/1	2/2	2/2	2/2	3/3	1/1	1/1	1/1	3/3	3/3	3/3	2/2	3/3
RAA144	3/3	1/1	2/2	2/2	2/2	3/3	1/1	1/1	1/1	3/3	3/3	3/3	2/2	3/3
RAA145	3/3	1/1	2/2	2/2	2/2	3/3	1/1	1/1	1/1	3/3	3/3	3/3	2/2	3/3
RAA146	3/3	1/1	2/2	2/2	2/2	3/3	1/1	1/1	1/1	3/3	3/3	3/3	2/2	3/3
RAA147	3/3	1/1	2/2	2/2	2/2	3/3	1/1	1/1	1/1	3/3	3/3	3/3	2/2	3/3
RAA148	3/3	1/1	2/2	2/2	2/2	3/3	1/1	1/1	1/1	3/3	3/3	3/3	2/2	3/3
RAA149	3/3	1/1	2/2	2/2	2/2	3/3	1/1	1/1	1/1	3/3	3/3	3/3	2/2	3/3
RAA150	3/3	1/1	2/2	2/2	2/2	3/3	1/1	1/1	2/2	3/3	3/3	3/3	2/2	3/3
RAA151	3/3	1/1	2-2	2/2	2/2	3/3	1/1	1/1	2/2	3/3	3/3	3/3	2/2	3/3
RAA152	3/3	1/1	2/2	2/2	2/2	3/3	1/1	1/1	1/1	3/3	3/3	3/3	2/2	3/3
RAA153	3/3	1/1	2/2	2/2	2/2	3/3	1/1	1/1	1/1	3/3	3/3	3/3	2/2	3/3
RAA154	3/3	1/1	2/2	2/2	2/2	3/3	1/1	1/1	1/1	3/3	3/3	3/3	2/2	3/3
RAA155	3/3	1/1	2/2	2/2	2/2	3/3	1/1	1/1	1/1	3/3	3/3	3/3	2/2	3/3
RAA156	3/3	1/1	2/2	2/2	2/2	3/3	1/1	1/1	1/1	3/3	3/3	3/3	1/1	3/3
RAA157	3/3	1/1	2/2	2/2	2/2	3/3	1/1	1/1	1/1	3/3	3/3	3/3	1/1	3/3

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

XII. GLOSARIO

Alelos: una particularidad de un gen en un determinado locus

Apnea: detención involuntaria de la respiración

Cromátides: Forma del cromosoma eucariote después de la replicación, o una de las dos extremidades de las subunidades de un cromosoma después de la replicación

Complejo: En taxonomía, es un término que se utiliza para cada grupo o reunión de taxones relacionados; con frecuencia se emplean como la separación verdadera o el estado de las unidades individuales.

Dendograma: Diagrama de ramas en forma de árbol que se utilizan para representar grados de relación o semejanza.

Delélfidos: Orden de mamíferos cuyas hembras tienen una bolsa donde se encuentran las mamas y donde permanecen encerradas las crías durante algún tiempo (sinónimo de marsupiales).

Diploides: Organismos cuya constitución alélica se encuentra en duplicado, información genética dotada por los padres.

Endogamia: Cruce entre individuos de una población pequeña. Teniendo como resultado la disminución de la variación alélica.

Filogenético: Estudio genético para determinar organismos ancestrales y descendientes

Hematofagos: Organismos que se alimentan de sangre.

Heterocigoto: Organismos que poseen alelos distintos en un locus específicos.

Hiperbilirubinaemia: Exceso de bilirubina en sangre.

Hipotonía: Disminución del tono muscular.

Homocigoto: Organismos que poseen alelos idénticos en locus específicos del par de cromosomas.

Ninfa: Estado juvenil en el desarrollo de lo insectos, se parece al adulto en el tipo de piezas bucales y en la presencia de ojos compuestos.