

00377



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO 6

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRINCIPALES VECTORES DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN EL OCCIDENTE MEXICANO: ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO Y GENETICO DE POBLACIONES PERIDOMESTICAS Y DOMESTICAS

287584

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA EXPERIMENTAL) PRESENTA: BIOL. ANGELICA FLORES PEREZ

MEXICO, D.F.

2001





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.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Frédérique Brénière, con mi mas profundo respeto y cariño por haber dirigido mi tesis. A su paciencia, apoyo, por compartir sus conocimientos y por la confianza que siempre me brindo.

A la Dra Marie France, por su apoyo constante, por compartir sus conocimientos, tiempo y amistad.

Al Dr. Felipe Lozano que colaboro junto con su equipo de trabajo en el proyecto. Con su apoyo en el campo y sus conocimientos gran parte de este trabajo fue posible.

Al M. en C. Ezequiel Magallón quien fue parte importante en este proyecto, en la colecta de ejemplares, en la identificación taxonómica, en compartir sus conocimientos y en sus valiosas aportaciones en la revisión del presente trabajo.

A la M. en C. Margarita Soto por su ayuda en la colecta de triatominos, por sus valiosos comentarios y sugerencias.

Al Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM donde fue realizado este trabajo.

A la Universidad de Guadalajara que colaboro en este proyecto.

Al IRD por su apoyo académico y economico.

Al Dr. Harry Brailovsky, del Instituto de Biología, UNAM. Por sus valiosas críticas e inagotable interés a lo largo de la elaboración de este trabajo.

A los investigadores que revisaron el manuscrito y que hicieron valiosas aportaciones para mejorar el presente trabajo: a la Dra. Teresa Tusié y al Dr. Roberto Hernández.

INDICE

RESUMEN.....	3
INTRODUCCIÓN.....	5
I - ENFERMEDAD DE CHAGAS.....	5
II - VECTORES.....	7
1. Sistemática y morfología.....	7
2. Biología.....	7
2. 1. Condiciones de desarrollo.....	11
2. 2. Comportamiento alimenticio.....	11
2. 3. Hábitat.....	11
3. Distribución.....	12
4. Criterios para definir un vector eficiente.....	13
III - GENÉTICA DE POBLACIONES.....	15
1. Análisis isoenzimático.....	16
1. 1. Definición.....	16
1. 2. Aportes de los análisis isoenzimáticos en poblaciones de triatominos.....	17
1. 3. Especiación.....	17
1. 4. Estructura intra-específica.....	18
1. 5. Dinámica interpoblacional.....	19
2. Otros marcadores genéticos.....	20
2. 1. Citogenética.....	20
2. 2. Morfometría.....	21
2. 3. RAPD.....	22
OBJETIVOS.....	24
OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	24
MATERIAL Y METODOS.....	25
I - ESTUDIO ENTOMOLÓGICO.....	25
1. Búsqueda y colecta de triatominos.....	25
2. Índices entomológicos.....	26
2. 1. Índice de infección.....	26
IIN =	26
2. 2. Índices de infestación, colonización y densidad.....	27
2. 3. Análisis estadísticos.....	27
II - ESTUDIO ISOENZIMÁTICO.....	27
1. Electroforesis de isoenzimas.....	28
1. 1. Preparación de extracto de triatominos.....	28
1. 2. Preparación de soluciones de revelado en agarosa.....	28
1.3. Condiciones electroforéticas.....	29
2. Análisis isoenzimático.....	30
2. 1. Interpretación alélica de los zimogramas.....	30
2. 2. Medidas de la variabilidad genética.....	31
2. 3. Filogenia.....	33
2. 4. Diferenciación intrapoblaciones e interpoblaciones.....	34
2. 5 Análisis AFC.....	35
RESULTADOS.....	36

I. ESTUDIO ENTOMOLÓGICO EN COMUNIDADES DE CUATRO ESTADOS DE LA REPÚBLICA MEXICANA: JALISCO, NAYARIT, ZACATECAS Y OAXACA.....	36
1. Análisis de infestación de las comunidades por triatominos.....	36
2. Densidades vectoriales.....	37
3. Colonización.....	38
4. Distribución de las especies.....	39
5. Índices de infección.....	39
II - ESTUDIO ISOENZIMÁTICO.....	40
1. Muestreo.....	40
2. Genótipos observados e índices de polimorfismo en las diferentes especies.....	40
2. 1. <i>Triatoma barberi</i>	40
2. 2. <i>Triatoma dimidiata</i>	41
2. 3. <i>Triatoma longipennis</i>	41
2. 4. <i>Triatoma pallidipennis</i>	42
2. 5. <i>Triatoma picturata</i>	42
3. Análisis de agrupamientos inter especies.....	42
3. 1. Loci diagnósticos entre especies.....	42
3. 2. Análisis filogenético.....	43
3. 3. Análisis AFC (Análisis factorial de correspondencias).....	44
4. Variabilidad intra especies.....	44
4. 1. Valores del Fis intra especies.....	44
4. 2. <i>Triatoma barberi</i>	45
4. 3. <i>Triatoma dimidiata</i>	45
4. 4. <i>Triatoma longipennis</i>	45
4. 5. <i>Triatoma pallidipennis</i>	46
4. 6. <i>Triatoma picturata</i>	46
DISCUSION.....	48
I - PERFILES ENTOMOLÓGICOS DE LAS ÁREAS ESTUDIADAS.....	48
1. Altas tasas de Infecciones de los vectores.....	49
2. Variaciones de los índices de infestación y densidades de vectores.....	49
3. Comparaciones de los índices de colonización y densidades.....	49
4. Comparación de las dos poblaciones de Oaxaca.....	50
II - ESTUDIO ISOENZIMÁTICO.....	51
1. Variabilidad.....	51
2. Loci diagnósticos.....	52
3. Alelos diagnósticos.....	52
4. Distancias genéticas y filogenia.....	52
5. Variabilidad intrapoblaciones e interpoblaciones.....	53
5. 1. <i>Triatoma barberi</i>	54
5. 2. <i>Triatoma longipennis</i>	54
5. 3. <i>Triatoma picturata</i>	55
CONCLUSIONES.....	56
ANEXOS.....	57
ANEXO 1: NOMBRE Y CÓDIGO DE LOS SISTEMAS ENZIMÁTICOS.....	57
ANEXO 2: SOLUCIONES AMOTIGUADORAS.....	58
ANEXO 3: PREPARACIÓN DE SOLUCIONES DE REVELADO EN AGAROSA.....	59
ANEXO 4: PREPARACIÓN DE SOLUCIONES DE REVELADO EN AGAROSA.....	60
ANEXO 5: CONDICIONES ELECTROFORÉTICAS.....	61
ANEXO 6: GENOTIPOS OBSERVADOS EN CADA COMUNIDAD Y ESPECIE.....	62
ANEXO 7: DETERMINACIÓN TAXONÓMICA.....	64
GLOSARIO.....	67
BIBLIOGRAFIA.....	69

RESUMEN

El estudio entomológico básico de cinco comunidades en 4 estados de México permitió la descripción de dos perfiles epidemiológicos: 1) invasión casi exclusiva de las áreas peridomiciliarias con penetración ocasional dentro de las casas de los triatomíneos dando lugar a contactos hombre-vector. 2) invasión de las áreas peridomiciliarias e intradomiciliarias. Se capturaron 2 especies del complejo *Triatoma phyllosoma* (Jalisco, Zacatecas y Nayarit), encontradas en simpatria en la comunidad de Carrillo Puerto (Nayarit). La especie *T. barberi* se capturó en dos comunidades de Oaxaca donde fue la única especie y en Jalisco se capturaron algunos ejemplares en simpatria con la especie del complejo *T. phyllosoma*. Se observaron diferencias en los índices de colonización, densidad e infestación según las áreas de estudio pero las tasas de infección fueron similares entre las especies.

Cinco especies de triatomíneos importantes epidemiológicamente (*Triatoma barberi*, *Triatoma dimidiata*, *Triatoma longipennis*, *Triatoma pallidipennis* y *Triatoma picturata*) fueron examinadas por electroforesis de isoenzimas. Se analizaron 12 sistemas enzimáticos que involucran 17 loci. El polimorfismo en estas especies a excepción de *T. barberi* fue muy elevado comparado con reportes de otras especies de triatomíneos. Entre las especies del complejo *T. phyllosoma* (*T. longipennis*, *T. pallidipennis* y *T. picturata*) no se encontraron loci diagnósticos. *T. dimidiata* presentó dos loci diagnóstico con las especies del complejo. En cambio, se detectaron de 8 a 11 loci diagnósticos entre *T. barberi* y las otras especies. El análisis de distancias genéticas de Nei mostró que las especies del complejo *T. phyllosoma* presentan distancias entre ellas similares en otros estudios a distancias entre poblaciones. La distancia de *T. dimidiata* con las especies del complejo *T. phyllosoma* es grande por lo que no justifica la

introducción de esta especie al complejo. *T. barberi* presenta una distancia muy grande con respecto a las demás.

Se definieron poblaciones agrupando insectos capturados en una misma comunidad. Los índices Fis mostraron déficit significativos de heterocigotos en todas las poblaciones posiblemente debido a la existencia de unidades panmícticas más pequeñas que la comunidad y/o emigración e inmigración de individuos.

La estructuración geográfica de las poblaciones fue investigada por los índices de Fis, Fit, Fst y mostró una ausencia de diferenciación geográfica entre poblaciones de *T. longipennis* cuando están muy cercanas (< 10 km) y entre poblaciones peridomiciliarias y silvestres de *T. picturata* en la comunidad de Carrillo Puerto (Nayarit).

INTRODUCCIÓN

Los reduvidos de la subfamilia Triatominae se agrupan en numerosas especies que son vectores potenciales de la enfermedad de Chagas. Todas las especies de triatominos son hematófagas y la mayoría de ellas se alimentan de la sangre de mamíferos y aves, excepto algunas que se alimentan de reptiles (Bautista, 1993).

Los triatominos se infectan al ingerir la sangre de un mamífero infectado con *Trypanosoma cruzi* (agente causal de la enfermedad de Chagas). Las formas tripomastigote ingeridas se transforman en epimastigotes en el intestino medio donde se multiplican y permanecen durante toda la vida del insecto. En el intestino posterior, los epimastigotes se transforman en tripomastigotes metacíclicos infecciosos. El hombre contrae la infección al entrar en contacto con las heces contaminadas.

Según la Organización Mundial de la Salud, la enfermedad de Chagas es la parasitosis más común de América Latina. Existen alrededor de 100 millones de personas expuestas al riesgo de padecer la infección por habitar zonas endémicas en convivencia con los triatominos. Se calcula que 16 millones de personas están parasitadas por *T. cruzi*. Teniendo en cuenta que el 25% de personas desarrollará algún tipo de trastorno cardíaco, la OMS calculó que existen 6.2 millones de individuos con afecciones cardíacas en riesgo de complicaciones y muerte por esta causa (WHO, 1991).

I - Enfermedad de Chagas

T. cruzi es un parásito protozoario hemoflagelado que causa la enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana, enfermedad con amplia distribución en

el continente Americano. En algunas zonas tropicales y subtropicales la prevalencia de esta enfermedad es muy alta (WHO, 1991).

La enfermedad evoluciona en tres fases: fase aguda, fase indeterminada y fase crónica. La primera dura de 1 a 3 meses y puede ser asintomática o presentar síntomas inespecíficos, como fiebre intermitente, anorexia, vómito, diarreas, náuseas, linfadenopatías y hepatomegalia. Se pueden presentar también cardiopatías, y los casos graves de miocarditis chagásica aguda pueden evolucionar hacia una insuficiencia y conducir a la muerte del individuo en menos del 10% de los casos en niños (WHO, 1991). La fase indeterminada puede durar de 10 a 20 años, tiempo en el cual no se presenta sintomatología, pero la infección sigue latente con serología positiva. Finalmente, la fase crónica puede presentar patologías severas caracterizadas por trastornos cardíacos y gastrointestinales como por ejemplo, miocarditis, insuficiencia cardíaca progresiva y la formación de megaórganos, generalmente de esófago y colon (Moncayo, 1992).

En las zonas rurales de América Latina la principal vía de transmisión es vectorial. En las ciudades generalmente libres de vectores, la transmisión es esencialmente por transfusión de sangre. Existen otras formas de transmisión menos frecuentes: por vía oral, por la leche materna, trasplante de órgano y por accidente de laboratorio (WHO, 1991).

En México, hasta 1990 se identificaron alrededor de 300 casos agudos de la enfermedad de Chagas. Una encuesta Nacional, mostró un promedio de 0.2% de seroprevalencia, determinado por pruebas de hemaglutinación e inmunofluorescencia (Velasco *et al.*, 1992). En 1994 se determinó en 18 bancos de sangre de la Secretaría de Salud una seroprevalencia de 1.5% (Guzmán *et al.*, 1998).

Sin embargo, estudios seroepidemiológicos y encuestas en bancos de sangre citan índices de seropositividad muy altos en regiones centrales del país como en los estados de Puebla y Morelos (Rangel *et al.*, 1998; Tay *et al.*, 1992).

En Jalisco se han citado casos de enfermedad cardiaca y digestiva y algunos casos fatales de la enfermedad de Chagas (Trujillo *et al.*, 1993; Hernandez *et al.*, 1987). Además en diferentes poblaciones de Oaxaca se han detectado seroprevalencias de: 42% en Chila (Goldsmith *et al.*, 1992), 88% (niños) y 78% (adultos) en Miahuatlán de Porfirio Díaz (Tay *et al.*, 1986) y en 4 poblaciones a distancia menor de 30 km de la ciudad de Oaxaca se encontró 86.9% (Salazar *et al.*, 1984).

II - Vectores

1. Sistemática y morfología

Los triatominos están clasificados en los taxones siguientes (Ryckman, 1984):

Reino **Animalia**

Phyllum **Arthropoda**

Subphyllum **Mandibulata**

Clase **Insecta**

Subclase **Pterygota**

Orden **Hemiptera**

Suborden **Heteroptera**

Familia **Reduviidae**

Subfamilia **Triatominae**

Tribu **I. Triatomini**

Género **Triatoma**

Se han identificado más de 100 especies sinantrópicas o silvestres. Alrededor de 53 especies de triatominos han sido encontradas infectadas en forma natural con *T. cruzi*, 36 de estas están asociadas con la vivienda humana, de las cuales 12 son epidemiológicamente importantes en la transmisión del parásito al hombre (Schenone y Rojas, 1989).

Son insectos con metamorfosis incompleta pasando por cinco estadios ninfales antes de llegar al estado adulto. Los adultos difieren de las ninfas, por la presencia de ocelos, genitales bien desarrollados y un desarrollo completo de las alas anteriores y posteriores. Todos los estadios son hematófagos y pueden transmitir a *T. cruzi*.

Los triatominos son aplanados dorsoventralmente y con patas caminadoras. Presentan una cabeza pequeña proyectada hacia el frente. La cabeza es libre, cilíndrica y tiene un cuello distinguible. Poseen dorsalmente ojos 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 un labium. El labium forma una envoltura protectora que contiene los estiletes (maxilas y las mandíbulas) adaptados para la hematofagia. Generalmente, la hembra es mas grande que el macho y posee genitales externas de forma puntiaguda (Lent y Wygodzinsky, 1979).

Los principales criterios para la determinación de las especies son la estructura general y coloración del cuerpo, el tamaño de las antenas y su posición, las alas, los ojos y las genitales. El tamaño es característico de ciertas especies y varía de 5 - 45 mm. El color fluctúa según la especie de amarillo claro hasta negro, con diferentes patrones de manchas anaranjadas, amarillas, blancas, rojas, grises o verdes principalmente en el conexivo (Lent y Wygodzinsky, 1979).

Las características morfológicas han ayudado a la diferenciación de las especies de triatominos e identificarlas como riesgo en la transmisión de la enfermedad de Chagas. Sin embargo, hay numerosos problemas de diferenciación taxonómica en las diferentes especies de triatominos:

- *Triatoma guasayana* y *Triatoma sordida* son morfológicamente similares y la identificación específica de estas dos especies en las ninfas es muy

problemática. Además, presentan variabilidad cromática entre ellas (García *et al.*, 1995; Panzera *et al.*, 1992).

- Recientemente se ha cuestionado el estado taxonómico de *Triatoma patagónica* por su estrecha similitud con *T. guasayana* y *T. sordida* (Gorla *et al.*, 1993)
- *Triatoma platensis* y *Triatoma delpontei* tienen características morfológicas muy parecidas aunque pueden distinguirse entre sí, además en el comportamiento son similares. Se propone que dichas especies están muy relacionadas (Pereira *et al.*, 1996).
- Dentro de la especie *T. sordida* se han reconocido dos poblaciones correspondientes a especies distintas, aunque morfológicamente son similares entre ellas (Noireau *et al.*, 1998).
- Las especies del género *Rhodnius* (*Rhodnius prolixus*, *Rhodnius robustus*, *Rhodnius neglectus* y *Rhodnius nasutus*) tienden a ser muy similares. Pueden ser identificadas por ciertas características morfológicas aunque existe confusión. Además la identificación por genitales tiene que ser muy cuidadosa (Pérez *et al.*, 1992; Solano *et al.*, 1996).

Algunas especies fueron agrupadas en complejos debido a su gran similitud morfológica y los estadios ninfales generalmente no diferenciables.

- *Triatoma protracta* es una especie sumamente polimórfica. Ryckman la dividió en 5 subespecies basándose en experimentos de hibridación: *Triatoma protracta navajoensis*, *Triatoma protracta nahuatlae*, *Triatoma protracta protracta*, *Triatoma protracta woodi* y *Triatoma protracta zacatecensis*. Las diferencias morfológicas entre ellas son muy pequeñas. Hay una estrecha relación de este complejo con *Triatoma barberi*, *Triatoma pennisularis* y

Triatoma sinaloensis. Los estadios ninfales de todas estas especies anteriores son difíciles de clasificar.

- El complejo *T. phyllosoma* comprende varias especies de triatomíneos estrechamente relacionadas: *Triatoma bassolsae* (Alejandre *et al.*, 1999), *Triatoma longipennis* (Usinger, 1939), *Triatoma mazzottii* (Usinger, 1941), *Triatoma pallidipennis* (Stål, 1872), *Triatoma phyllosoma* (Burmeister, 1835) y *Triatoma picturata* (Usinger, 1939). Dichas especies tienen una amplia distribución en México. Osorio, Mazzottii y Usinger redujeron el complejo a subespecies de acuerdo a estudios de hibridación (Lent y Wygodzinsky, 1979). Sin embargo Wygodzinsky y Ryckman agrupan estas especies politípicas en un mismo complejo, debido a que no existen en la naturaleza diferencias morfológicas graduales (Lent y Wygodzinsky, 1979). La interfertilidad entre ellas bajo condiciones de laboratorio no es un indicador suficiente de especiación. Probablemente las especies del complejo comparten un antepasado reciente no compartido por otras especies y constituye entonces un grupo monofilético (Lent y Wygodzinsky, 1979). Dujardin *et al.* (1999) sugiere la incorporación en este grupo de otras 6 especies: *Triatoma bolivari*, *Triatoma brailovskyi*, *Triatoma dimidiata*, *Triatoma hegneri*, *Triatoma mexicana* y *Triatoma ryckmani*.

- Otras especies reunidas en complejos son: *Triatoma arthurneivai*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma circummaculata*, *Triatoma delpontei*, *Triatoma guasayana*, *Triatoma infestans*, *Triatoma lenti*, *Triatoma maculata*, *Triatoma matogrossensis*, *Triatoma patagonica*, *Triatoma platensis*, *Triatoma pseudomaculata*, *Triatoma rubida*, *Triatoma rubrovaria*, *Triatoma sordida*, *Triatoma tibiamaculata*, *Triatoma vitticeps* y *Triatoma williamsi*.

2. Biología

2. 1. Condiciones de desarrollo

Los triatomíneos son ovíparos. La ovoposición se inicia de 10 a 30 días después de la copula. El número de huevos varía según la especie (*Triatoma dimidiata* 2054, *R. prolixus* 701, *T. patagonica* 169, *T. pallidipennis* 290 y *Triatoma barberi* 150). La eclosión sucede en promedio un mes después de la ovoposición. La longevidad de los insectos varía de 2 a 12 meses pero en algunas especies puede ser de dos años (*T. dimidiata* de 20 a 26 meses, *T. infestans* de 8 a 16 meses, *Dipetalogaster maximus* 14 meses, *T. barberi* de 112 a 455 días, *T. dimidiata* 8 meses, *Triatoma pallidipennis* 6 meses) (Zeledón y Rabinovich, 1981; Zárate, 1983; Zeledón, 1983). Generalmente las hembras llegan al estadio adulto antes que los machos.

La ovoposición, el número de huevos y el ciclo de vida de los triatomíneos no solo son características de cada especie también dependen de los factores externos: disponibilidad de comida, temperatura y humedad. En condiciones de laboratorio se ha observado que la temperatura óptima de crianza de los triatomíneos es de 27°C - 28°C. Muchas especies no sobreviven a temperaturas por arriba de 37°C y por debajo de 10°C (Lima *et al.*, 1998). Diferentes especies requieren cierta humedad, *Panstrongylus geniculatus* requiere 100% de humedad. En experimentos de laboratorio con diferentes especies de triatomíneos se determinó que el promedio de requerimiento de humedad de los triatomíneos es de 70% a 80% (Galvao *et al.*, 1995).

2. 2. Comportamiento alimenticio

Todas las especies de triatomíneos son hematófagas y más de 150 especies de mamíferos silvestres se han encontrado infectadas por *T. cruzi*.

En la naturaleza los estadios ninfales y los adultos se alimentan de noche. Schofield (1980) determinó que la actividad nocturna de los triatomíneos varía de acuerdo a la especie. Por ejemplo *T. infestans* es activo entre las 17:00-07:00 hrs y *R. prolixus* y *Panstrongylus megistus* de 17:00 a 01:00 hrs. La especie *D. maximus* es excepción, ya que sale a picar durante el día (Zeledón y Rabinovich, 1981; Zarate, 1983). Lazzari *et. al.* (1998), demostró que la actividad de los triatomíneos está determinada por los lóbulos ópticos y los ocelos.

Para obtener el alimento, los triatomíneos son atraídos por la temperatura radiante, la producción de bióxido de carbono del mamífero y otros elementos poco estudiados como el olor (Bautista, 1993).

Una sola comida completa o pequeñas ingestas sucesivas pueden iniciar la muda de los triatomíneos.

2. 3. Hábitat

Según el hábitat se agrupan en:

- Especies con gran adaptación a los ecotopos artificiales: *T. infestans*, *R. prolixus* y *T. rubrofaciata*. Esta última especie fue citada como endémica en ciudades en Uruguay. *T. infestans* y *R. prolixus* son vectores mayores de América del Sur.
- Especies con una relativa y estable adaptación al hábitat humano pero también conservan ecotopos silvestres. En este grupo *T. dimidiata*, *T. brasiliensis* y *P. megistus* son vectores importantes de *T. cruzi*. Estas especies pueden ser consideradas como especies secundarias.
- Especies que habitan principalmente el medio silvestre y que ocasionalmente invaden ecotopos artificiales donde establecen colonias pequeñas.

- Especies básicamente silvestres. Aunque ocasionalmente los adultos son capturados en las viviendas pero jamás las colonizan. Otras se capturan excepcionalmente en las áreas peridomiciliarias pero nunca en viviendas.

Excepto *T. barberi* (Zárate y Zárate, 1985), todas las especies de México son silvestres. La importancia epidemiológica de ellas no está bien establecida por falta de estudios entomológicos sistemáticos. Los datos actuales muestran que las especies *T. dimidiata*, *T. barberi* y varias especies del complejo *T. phyllosoma* invaden principalmente las áreas peridomiciliarias.

3. Distribución

La distribución geográfica de los triatominos se extiende del sur de los Estados Unidos hasta la Patagonia (40° latitud norte y 45° latitud sur). Además se han encontrado entre los 0 y 3400 msnm en Bolivia (Brenière *et al.*, 1998; Dorante de Isola y González, 1994). Generalmente se encuentran en climas templados y tropicales (Schofield *et al.*, 1995).

Las especies más importantes epidemiológicamente y que tienen una distribución muy amplia son: *T. infestans* (Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay, el Sur de Perú y Uruguay), *T. dimidiata* (América Central y México), *R. prolixus* (América Central, Colombia y Venezuela). Existen otras especies con importancia epidemiológica por su extensa distribución: *P. megistus*, *Rhodnius pallescens* y *T. sordida* y especies del complejo *T. phyllosoma* en México (Dorante de Isola y González, 1994).

En México se han descrito 28 especies de vectores y 17 se encuentran infectadas por *T. cruzi* (Magallón *et. al.*, 1998; Zárate y Zárate, 1985). Los triatominos de mayor importancia epidemiológica por su amplia distribución y por sus hábitos domésticos marcados son: *T. barberi*, *T. dimidiata* y las especies del complejo *T. phyllosoma* (Tay, 1992; Zárate y Zárate, 1985). En general los triatominos se encuentran distribuidos en casi todo el territorio mexicano, y existe

más de una especie por estado. En Baja California existe *D. maximus*, especies del complejo *T. rubida* y otras especies del complejo *T. protracta*.

A continuación enumeramos las especies descritas en los estados que forman parte del presente estudio.

- En Colima: *T. barberi*, *T. brailovskyi*, *T. longipennis*, *T. pallidipennis* y *T. picturata* (Zárate y Zárate, 1985).
- En Jalisco: *T. barberi*, *T. brailovsky*, *T. dimidiata* y todas las especies del complejo *T. phyllosoma* (Magallón *et al.*, 1998).
- En Morelos: *T. barberi* y *T. pallidipennis* (Bautista, 1993).
- En Nayarit: *T. brailovskyi*, *T. dimidiata*, *T. longipennis*, *T. mazzottii*, *T. picturata*, *Triatoma recurva*, *Triatoma rubida rubida*, *Triatoma rubida sonoriانا* (Zárate y Zárate, 1985).
- En Oaxaca existen 4 especies principales, *T. barberi*, *T. dimidiata*, *T. mazzottii*, *T. phyllosoma* y especies de menor importancia *T. pallidipennis*, *T. nitida* (Ramsey, 1999).
- En Zacatecas: *T. longipennis*, *T. pallidipennis*, *T. protracta zacatecensis* (Zárate y Zárate, 1985).

Varias especies pueden ser simpátricas: *T. longipennis* y *T. mazzottii*. *T. pallidipennis* tiene una distribución amplia y es simpátrica con *T. mazzottii*, *T. longipennis* y *T. picturata*. En Nayarit y Jalisco *T. picturata* se ha encontrado en simpátria con *T. longipennis*, *T. pallidipennis* y *T. mazzottii* (Zárate y Zárate, 1985).

4. Criterios para definir un vector eficiente

Infección: Las especies vectoriales tienen que ser susceptibles a *T. cruzi*, presentar altas tasas de infección e inducir una buena metacicloogénesis. Se ha encontrado en *T. infestans* una tasa de infección de 12% hasta 67% en Paraguay y Brasil respectivamente (Zeledón y Rabinovich, 1981). En *T. dimidiata* el rango de infección que se ha encontrado es de 30% a 38% y en México todas las especies estudiadas presentan tasas de infección elevadas como: *T. barberi* con un índice de infección de 96% (Schenone y Rojas 1989); *T. dimidiata* 18.7 % (Zeledón y Rabinovich, 1981); *T. phyllosoma* 50% en Aguascalientes (Gómez et al., 1983); *T. pallidipennis* 88% y *T. barberi* 70% en Cuernavaca Morelos (Cortés et al., 1996); *T. barberi* 33%, *T. longipennis* 18.4%, *T. mazzotti* 50%, *T. pallidipennis* 14% y *T. picturata* 7.4% en municipios de Jalisco (Magallón et al., 1998).

Domiciliación: Los insectos tienen que ser domiciliados (presencia en el hábitat de todos los estadios ninfales) y presentar colonias importantes. *T. infestans* está muy domiciliada y se ha encontrado hasta un índice de infestación del 86% (Wisnivesky, 1987); *T. dimidiata* y *T. barberi* se dispersan entre el domicilio y el peridomicilio (Zeledón y Rabinovich, 1981). *T. dimidiata* en Costa Rica presenta una infestación de 34.6% y densidad de 21.5 por casa (Zeledón et al., 1975). *T. phyllosoma* se encontró domiciliada en el estado de Aguascalientes (Gómez et al., 1983) y en otros estados en peridomicilio junto con especies de su complejo.

Antropofagia: Las especies tienen que ser antropofílicas (alimentación importante sobre el hombre). El 99% de las fuentes de sangre en *T. infestans* son humanas y el resto de perros, gatos y gallinas. *T. dimidiata* por su movilidad en el hábitat humano tiene una gran variedad de fuentes alimenticias (Quintal y Polanco, 1977). En *T. barberi* se ha encontrado hasta 6 tipos diferentes de sangre entre ellos sangre humana (Zárate et al., 1985).

Tiempo de defecación, durante o después de la alimentación del triatomino: *T. infestans* defeca durante la alimentación, lo que favorece la infección del huésped. *T. barberi* defeca de 5 a 10 minutos después de ingerir su alimento, tiempo suficiente para acabar la ingesta de sangre y desplazarse a otro lugar (De Haro *et. al*, 1999). En este último caso la frecuencia del contacto hombre/parásito disminuye y el insecto resulta ser un vector menos eficiente.

III - Genética de poblaciones

1. Análisis isoenzimático

1. 1. Definición

Los estudios de genética poblacional, con el apoyo de marcadores isoenzimáticos, tienen un papel importante en la biosistemática de las especies de triatominos y para el estudio de dinámica poblacional. Además, estos análisis proporcionan datos importantes para la vigilancia epidemiológica después de las intervenciones de control (Schofield, 1995).

Las isoenzimas son proteínas que presentan una misma función enzimática pero migraciones diferentes en un campo eléctrico. La diferencia de movilidad electroforética entre isoenzimas se debe a una diferencia de carga eléctrica global de las moléculas, reflejo de la variabilidad de la estructura primaria de estas. Las isoenzimas corresponden a los productos de expresión de diferentes alelos de un gen situado en un solo locus o a los productos de varios genes situados en diferentes loci. Generalmente los genes que codifican las proteínas enzimáticas son en gran parte polimorfos, es decir, que existen bajo la forma de dos o varios alelos, traduciéndose por migraciones electroforéticas diferentes (Bosseno y Brenière, 1998).

1. 2. Aportes de los análisis isoenzimáticos en poblaciones de triatomínos

Análisis isoenzimáticos han permitido la detección de especies crípticas y establecer la estructura de poblaciones de una misma especie.

1. 3. Especiación

Noireau *et. al.* (1999 y 1998), estudiando poblaciones de *T. sordida* en el Chaco Boliviano, sugiere la existencia de dos poblaciones separadas que fueron reconocidas por 2 loci (*Idh2* y *Mdh2*). La distancia genética de Nei (1972) fue elevada (0.271) y compatible con la hipótesis de especies distintas y de origen reciente.

R. robustus y *R. prolixus*, son dos especies que tienen diferencias morfológicas y *R. robustus* es una especie silvestre. Por análisis isoenzimático se detectó frecuencias idénticas y distancias genéticas de Nei de 0.07 (Harry *et al.*, 1992b). Esta distancia está dentro del rango de distancias observadas entre poblaciones geográficas, por lo tanto *R. prolixus* y *R. robustus* serían una sola especie. *R. robustus* puede ser una forma silvestre de *R. prolixus*, aunque hay patrones morfológicos diferentes o distinguibles. Se hizo este mismo análisis incluyendo la especie *R. pictipes* y se encontró que el 75% de los loci son diagnósticos con las otras dos especies (*R. prolixus* y *R. robustus*) (Harry *et al.*, 1992a).

Un trabajo similar se hizo con cuatro especies: *T. platensis*, *T. infestans*, *T. guasayana* y *T. sordida*; estas dos últimas especies presentan una morfología similar y dificultad en la clasificación de los estadios ninfales. Se encontraron alelos fijos que distinguen a cada especie y el polimorfismo para las cuatro especies reunidas fue de 0.56. La distancia genética de Nei, entre *T. guasayana* y *T. sordida* fue de 0.77, esta distancia elevada es compatible con especies

distintas. Se observó una distancia similar entre *T. platensis* y *T. infestans* (0.45) (García *et al.*, 1995).

Costa *et al.* (1997), desarrolló un análisis con 4 subespecies de *T. brasiliensis* (*T. brasiliensis*, *T. brasiliensis brasiliensis*, *T. b. melanica* y *T. b. macromelasoma*) que difieren por patrones cromáticos. Se encontraron distancias genéticas muy elevadas *T. b. brasiliensis* - *T. b. melanica* = 1.128, *T. b. brasiliensis* - *T. b. macromelasoma* = 0.295, *T. b. macromelasoma* - *T. brasiliensis* = 0.418 confirmando que son especies diferentes.

1. 4. Estructura intra-específica

Dujardin y Tibayrenc (1985), estudiaron las poblaciones locales de *T. infestans* en Bolivia donde encontró un polimorfismo de $P = 0.157$ y una heterocigocidad observada de $H_o = 0.04$. Se observaron diferencias de frecuencias alélicas entre poblaciones geográficas y estas diferencias son probablemente el reflejo de barreras geográficas que hay entre ellas (alopatria). También se analizaron poblaciones de *T. infestans* en Perú que presentan una variabilidad menor ($P = 0.05$ y $H_o = 0.015$). Las diferencias alélicas entre poblaciones de Perú y Bolivia, fueron compatibles con las frecuencias observadas de poblaciones locales de una misma especie. Los autores concluyen que hay una ausencia de especies gemelas en *T. infestans* a pesar de su extensa dispersión y sugieren la migración reciente de *T. infestans* en Perú debido al bajo polimorfismo que presenta. Las diferencias genéticas encontradas en las diferentes localidades no sugieren fenómenos de especiación pero refleja diferencias climáticas de las regiones, débil poder de migración del triatomino y el efecto de la deriva génica. *T. infestans* silvestre no es una especie gemela, probablemente fue un ecotipo que recientemente invadió hábitats domésticos. En Bolivia se encontraron focos silvestres de *T. infestans* pero el estudio isoenzimático comparativo con insectos domiciliados no evidenció diferencias poblacionales (Dujardin *et al.*, 1996).

García *et al.* (1995), observaron entre poblaciones de *T. infestans* domiciliadas en regiones de un clima tropical a un clima templado de Argentina, Bolivia, Brasil y Perú, frecuencias alelicas muy similares. Por lo tanto, las distancias genéticas de Nei fueron bajas (0.002-0.013) y los autores detectaron un flujo génico importante entre las poblaciones. Acordando con la hipótesis de Schofield en que la distribución actual de *T. infestans* puede ser el resultado de las migraciones humanas que hubo en América del Sur en los últimos 100 años.

Brenière *et al.* (1998), analizando poblaciones de *T. infestans* en Bolivia encontraron un $P = 0.20$ y una baja distancia genética entre poblaciones locales. Sin embargo se notó una correlación significativa entre las distancias genéticas y geográficas. Por otra parte, los análisis de poblaciones totales de comunidades y subpoblaciones (sitios de captura) sugieren unidades panmicticas más pequeñas que la comunidad.

Harry *et al.* (1992), analizaron 5 poblaciones domésticas de *R. prolixus* de Venezuela, encontrando un $P = 0.12$ y $H_o = 0.025$. Esta baja variabilidad puede ser explicada por la estabilidad medioambiental en las viviendas humanas. Para algunos autores, la variabilidad genética reflejada por la heterozigocidad esta correlacionada con la variabilidad del medio ambiente.

1. 5. Dinámica interpoblacional

Dujardin *et al.* (1996), analizaron poblaciones de triatominos antes y después de un rociado con insecticida. Compararon las poblaciones reinfestantes con triatominos de localidades cercanas. Las frecuencias alelicas eran muy similares entre las diferentes poblaciones. Sin embargo, pudieron determinar que la reinfestación se debía a pequeñas poblaciones sobrevivientes.

2. Otros marcadores genéticos

Los estudios sobre biosistemática y tendencias adaptativas en triatomíneos constituyen un valioso aporte en la genética de poblaciones contribuyendo al mejoramiento de la vigilancia epidemiológica y el monitoreo de los programas de control. Aparte de las isoenzimas, para estudios biosistemáticos encontramos: la citogenética, la morfometría, la amplificación al azar de polimorfismos del DNA (RAPD's). La utilización combinada de las técnicas tradicionales y de otras más recientes, es actualmente factible y constituye una herramienta más poderosa que la aplicación aislada de una sola de estas técnicas.

2. 1. Citogenética

La aplicación de técnicas de bandeo, particularmente el bandeo C, y el análisis detallado del comportamiento cromosómico durante la meiosis han demostrado que la citogenética es una herramienta útil para caracterizar y diferenciar especies, detectar variaciones poblacionales e incluso establecer relaciones evolutivas.

Los triatomíneos poseen cromosomas holocéntricos, es decir no poseen un centrómero morfológicamente diferenciado.

Todas las especies de *Rhodnius* poseen el mismo número cromosómico: $2n = 22 (20A + XY / XX)$, con poca o ninguna diferenciación longitudinal en sus autosomas (A). Los únicos caracteres citogenéticos diferenciables de algunas especies de *Rhodnius* son: el comportamiento meiótico y el tamaño de los cromosomas sexuales (Pérez *et al.*, 1992).

Los géneros *Rhodnius* y *Triatoma* presentan cromosomas de diferente tamaño, los cromosomas del primero son más pequeños que el segundo (Pérez *et al.*, 1992).

Cromosómicamente, las especies del complejo *T. phyllosoma* ha sido poco estudiado, existen citas contradictorias acerca del mecanismo de determinación sexual encontrado en *T. dimidiata* y *T. pallidipennis*. Un análisis cromosómico realizado sobre cuatro especies del complejo *T. phyllosoma*, identificaron el mismo número cromosómico en 3 de ellas ($2n = 20A + X1X2Y$) (Schofield *et al.*, 1995).

En *T. infestans* la aplicación de la técnica de bandeo C permitió detectar una extensa variación en la cantidad y posición de regiones heterocromáticas, capaces de diferenciar poblaciones naturales de Uruguay con distintos hábitats (Panzera *et al.*, 1992). Además la comparación de las frecuencias de los distintos patrones de bandeo C permiten inferir el origen de los individuos en los procesos de reinfestación (Hiral *et al.*, 1991).

2. 2. Morfometría

Está técnica se basa en caracteres morfológicos diagnósticos que requieren análisis cuantitativo. Por ejemplo, anchura y longitud del pronotum, longitud y anchura del escutelo, caracteres relacionados a la cabeza como (anchura transversal de la cabeza, porción anteocular y postocular, etc.), caracteres en alas, pigoforo del macho, patrones de las sensilas, etc. (Gorla *et al.*, 1993). La morfometría ha permitido el uso de variables métricas para estudiar modelos de reinfestación (Dujardin *et al.*, 1995).

En un estudio que se llevó a cabo en Uruguay se usaron 10 caracteres morfométricos (cabeza y tórax) de machos de *T. infestans*. Diferenciaron dos poblaciones geográficas, Sección Norteña de Rivera y el otro de la Sección Sur de Soriano (Casini *et al.*, 1995).

Dujardin *et al.* (1995), comparó especímenes de *T. infestans* domésticos y silvestres en Bolivia. El análisis numérico mostró que las chinches silvestres y domésticas, no diferenciadas por isoenzimas, eran consistentemente diferentes

por morfometría de la cabeza. La diferencia era particularmente marcada en la longitud de la región del postocular que era más grande en especímenes silvestres. Pudiera implicar alguna separación evolutiva que no ha sido evidenciada por el estudio isoenzimático. Sobre la base de estos estudios analizaron la reinfestación de triatominos en casas tratadas con insecticidas y confirmaron que se debía a triatominos sobrevivientes de poblaciones domésticas originales y no a triatominos inmigrantes de focos silvestres (Dujardin *et al.*, 1997).

Un análisis morfométrico entre *T. sordida*, *T. guasayana* y *T. patagonica* mostró que las tres especies forman un grupo estrechamente relacionado. Los resultados confirman la clasificación temprana de *T. sordida* y *T. guasayana* como especies separadas, pero levantan dudas sobre el estado taxonómico de *T. patagonica* ya que los genitales son muy similares a *T. sordida* (Gorla *et al.*, 1993).

Para la identificación de *Rhodnius nasutus*, *R. neglectus*, *R. prolixus* y *R. robustus* se comparó el pigoforo de los machos (Harry *et al.*, 1992b).

2. 3. RAPD

Los métodos biológicos moleculares pueden proporcionar marcadores discriminatorios para la clasificación taxonómica y la genética de poblaciones de los triatominos. El uso de RAPD "Randomly Amplified Polymorphic DNA" ha sido desarrollado recientemente (García *et al.*, 1998). El RAPD es el polimorfismo de fragmentos de ADN evidenciado por la reacción de la polimerasa en cadena (PCR) usando cebadores de secuencias arbitrarias.

Los perfiles electroforéticos encontrados en *T. infestans* y *T. sordida* permitieron la separación de las dos especies revelando alta variabilidad en *T. sordida*. Además la comparación con ocho primers, de poblaciones geográficas de *T. infestans* permitieron diferenciarlas. De un total de 45 bandas, el 69% eran compartidas por las poblaciones (Schofield *et al.*, 1995).

García *et al.* (1998), encuentran perfiles de RAPD específicos de las especies *P. megistus*, *R. prolixus* y *T. infestans*, además los perfiles de los individuos de una especie a otra no son idénticos. También pudieron distinguir especies morfológicamente similares y estrechamente relacionadas como: *R. ecuadorensis* y *R. pictipes*; *R. nasutus* y *R. neglectus*; *R. prolixus* y *R. robustus*.

En conclusión el análisis de RAPD es muy eficiente para la taxonomía de los triatomíneos, la diferenciación de especies cercanas y posiblemente el análisis de poblaciones de una misma especie.

OBJETIVOS

Incrementar a través de estudios entomológicos y de marcadores genéticos el conocimiento del papel vectorial de 5 principales especies de México.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Determinar las especies vectoriales principales analizando tasas de infestación e índice de colonización, índice de densidad poblacional y tasa de infección por *Trypanosoma cruzi* y/o *Trypanosoma rangeli*.

Desarrollar marcadores isoenzimáticos para especies pertenecientes al complejo *T. phyllosoma*, y de otras especies encontradas en la zona de estudio.

Identificar posibles especies crípticas e identificar a que taxon pertenecen las ninfas recolectadas, particularmente las del complejo *T. phyllosoma* que son morfológicamente muy similares entre sí.

MATERIAL Y METODOS

La metodología consta de dos partes:

- a) Estudio entomológico: las colectas de triatominos fueron hechas por los colaboradores del proyecto y el análisis entomológico de estas colectas esta presentado en este trabajo.
- b) Estudio isoenzimático: las migraciones electroforéticas y el análisis isoenzimático fueron realizados en el IIB.

I - Estudio entomológico

1. Búsqueda y colecta de triatominos

Se efectuaron colectas de triatominos en 3 municipios (San Martín de Hidalgo, Jal.; Moyahua, Zac.; Compostela, Nay.) situados en el occidente Mexicano y 2 en el estado de Oaxaca (San Bartolo de Coyotepec y San Felipe Tejalapa). En cada municipio se muestrearon varias localidades cercanas. Estas localidades son comunidades rurales compuestas de 370 a 600 casas con aproximadamente 2000 habitantes por localidad. La captura de los triatominos fue peridomiciliaria abarcando corrales, gallineros, tiliches, pilas de ladrillos, etc. y domiciliaria incluyendo habitaciones, muebles, cuadros, grietas de paredes, colchones, etc. La captura se realizó durante el día por búsqueda activa utilizando pinzas entomológicas. Los ejemplares colectados fueron transferidos en frascos de plástico etiquetados con códigos separando los insectos por vivienda y lugar de captura.

Los triatominos como *T. pallidipennis* capturados en el estado de Morelos y ejemplares de *T. dimidiata* capturados en San Luis Potosi y Oaxaca fueron donados por la Dra. J. Ramsey (Instituto Nacional de Salud Pública de Cuernavaca, Morelos). Otros ejemplares de *T. pallidipennis* fueron capturados en el municipio de Cuauhtémoc en el estado de Colima, por los colaboradores del proyecto.

Entomólogos que forman parte del proyecto identificaron cada especie siguiendo las claves de Lent y Wigodzensky (1979). Las ninfas fueron identificadas por marcadores isoenzimáticos.

2. Indices entomológicos

2. 1. Indice de infección

Se hicieron preparaciones frescas de deyecciones de cada triatomo en solución salina isotónica para determinar la infección por *Trypanosoma cruzi* y se examinaron las glándulas salivales de los insectos adultos y de las ninfas de quinto estadio para la búsqueda específica de *Trypanosoma rangeli*. Todas las cepas aisladas (51) de las heces de estos vectores fueron caracterizadas (en otro estudio) como pertenecientes a *T. cruzi*. El índice de infección natural se expresa de la manera siguiente:

$$\text{IIN} = \frac{\text{No. de triatominos con flagelados} \times 100}{\text{No. de triatominos examinados}}$$

Después del control de la infección, cada ejemplar vivo de triatomo se colocó en un microtubo adecuadamente rotulado y congelado a -70°C .

2. 2. Índices de infestación, colonización y densidad

Por comunidades y municipios se determinaron índices de infestación, colonización y densidad poblacional.

- Índice de infestación = (No. de casas infectadas por triatominos adultos y ninfas / No. de casas examinadas) X 100
- Índice de densidad poblacional = No. de triatominos capturados/ No. de casas con triatominos.
- Índice de colonización = (No. de casas con ninfas de triatominos / No. de casas con adultos y/o ninfas) X 100.

2. 3. Análisis estadísticos

La comparación estadística de las densidades de triatominos capturados en diferentes estados fue efectuada por la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Walpote y Myers, 1989) usando el programa Statix. Esta prueba permite comparar promedios de valores entre dos series.

La prueba de chi cuadrada (X^2) fue utilizada para comparar la distribución entre varias categorías.

II - Estudio isoenzimático

Se escogieron 12 sistemas enzimáticos (anexo 1) anteriormente utilizados en varios estudios de análisis isoenzimáticos de triatominos (Noireau *et al.*, 1999; Brenière *et al.*, 1998; Dujardin *et al.*, 1985).

1. Electroforesis de isoenzimas

1. 1. Preparación de extracto de triatominos

El triatomino descongelado se colocó dorsalmente en una caja de petri puesta sobre hielo. Se retiraron las patas y la cabeza guardándolas en otro tubo rotulado a -70°C para otros estudios. Con cuidado se cortó longitudinalmente la cutícula de la región ventral del tórax y se retiró el músculo con pinzas¹. Seguidamente se colocó el músculo en un microtubo de 1.5 ml limpio (procurando tener el tubo frío antes de colocar el músculo).

Luego se adiciono al tubo nitrógeno líquido para que el músculo se congelara. Inmediatamente se maceró el músculo hasta obtener un polvo. Posteriormente, se agregaron volúmenes variables de estabilizador de enzima (anexo 2) según el tamaño de los insectos: para adultos del complejo *T. phyllosoma* y *T. dimidiata* 80 μl y para *T. barberi* y ninfas 60 μl de la solución. Finalmente se homogeneizó la solución con el músculo por agitación con un vortex.

Luego se centrifugó la solución durante 10 min a 12000 rpm en una centrífuga refrigerada. El sobrenadante (enzimas hidrosolubles) se distribuyó en alicuotas de 10 μl que se conservaron a -70°C hasta su uso².

1. 2. Preparación de soluciones de revelado en agarosa

La visualización de las enzimas sobre el acetato de celulosa, después de la electroforesis, se efectúa por procesos físico-químicos: las proteínas enzimáticas reaccionan con su substrato específico y diversos compuestos químicos dando un precipitado coloreado en el sitio de migración.

¹ Enjuagar la región torácica con PBS antes de sacar el músculo si hay sangre.

² Los sistemas G6PD y 6PGDH deben procesarse justo después de la extracción de las enzimas

Se preparó una solución de agarosa (tipo II electroforesis SIGMA) a 1.5% en agua destilada calentándola en una parrilla eléctrica hasta que estuvo completamente disuelta. Se preparó 10 ml de la solución por sistema enzimático. La agarosa caliente se distribuyó en alicuotas de 10 ml en tubos tapados para evitar su evaporación y los tubos se mantuvieron en baño María a 55°C hasta el momento de su uso.

En tubos de 50 ml se pesaron los productos (anexo 3) y se adicionaron los líquidos correspondientes a cada sistema estudiado (anexo 4). Después de la disolución completa de los productos, los tubos se mantuvieron a 4°C (sobre hielo)³. Luego, se añadió 10 ml de agarosa caliente en cada tubo y se vació rápidamente la mezcla homogeneizada en una caja petri previamente rotulada evitando burbujas. Las cajas preparadas se conservaron a temperatura ambiente y en la obscuridad hasta su uso (máximo 1-2 hrs).

1.3. Condiciones electroforéticas

Basadas en lo descrito por Noireau *et al.* (1999), las condiciones de migración fueron modificadas para mejorar los perfiles obtenidos con las especies de México. Las condiciones para cada sistema se presentan en el anexo 5.

Antes de la electroforesis se embibieron las placas de acetato de celulosa durante 10 min en las soluciones amortiguadoras preparadas de acuerdo a cada sistema enzimático (anexo 5).

En cada compartimento de las cámaras de electroforesis (HELENA, Laboratories Beaumont, Texas, USA) se colocaron 50 ml de solución amortiguadora de migración (anexo 5) y en estos se embebieron tiras de papel

³ Los productos para las peptidasas son difíciles de disolver, se puede incubar el tubo a 55° C por espacio de 1 minuto y agitar

filtro usadas como puentes de corriente entre las placas de acetato y la solución amortiguadora.

Se enfrió previamente el soporte de muestras (Helena) y se colocó en cada pozo 10 μ l de extracto de músculo de triatomino.

Después de su imbibición, la placa de celulosa se secó suavemente entre 2 hojas de papel filtro para quitar el exceso de solución amortiguadora. Se colocó la placa sobre el soporte de sembrado (Helena) con la capa de celulosa hacia arriba y se efectuó el depósito de las muestras con el aplicador (Helena) de acuerdo a cada sistema (origen de la migración catódico o central). Se hicieron 3 depósitos sucesivos de las muestras sin mover la placa de acetato de celulosa entre las aplicaciones. Después, la placa se colocó en la cámara de migración con la capa de celulosa en contacto con el papel. El sentido de la migración es del cátodo al ánodo. El tiempo y el voltaje fueron regulados de acuerdo a cada sistema enzimático (anexo 5).

Después de la migración, se cortó la corriente y se retiraron las placas sin tocar la celulosa. Se secó la zona de contacto con los puentes de papel y se depositó la placa sobre la agarosa de revelado del sistema correspondiente.

Se procuró no mover la placa una vez que estaba sobre la agarosa. Se incubaron las placas a 37°C hasta que las bandas de todas las muestras fueron visibles. Luego, se sumergieron las placas en una solución de ácido acético al 5% durante 5 min para fijar la reacción. Por último, se enjuagaron las placas con agua corriente y se secaron a temperatura ambiente.

2. Análisis isoenzimático

2. 1. Interpretación alélica de los zimogramas

Los patrones de bandeo requieren que los fenotipos expresados por las proteínas sean traducidos a genotipos en el loci que los codifica. La interpretación

de las bandas se realizó según la velocidad de migración. A la más rápida se le asignó el valor 1. La siguiente en orden descendente 2 y así sucesivamente. Para cada muestra y cada sistema enzimático se anotaron los números de las bandas observadas.

La estructura cuaternaria de las proteínas (número de componentes en el polipéptido) afecta al patrón de bandeo. Las enzimas monoméricas consisten de un único polipéptido y los individuos homocigotos que tienen un mismo estado alélico producen una banda única. En los individuos heterocigotos (diferentes estados alélicos) se producirán dos bandas. Las enzimas dimericas compuestas por dos polipéptidos producen en individuos homocigotos una banda pero en individuos heterocigotos tres bandas. En este último caso la posición electroforética de los dos alelos corresponde a las bandas menos y más rápida.

Para algunos sistemas se observaron dos series de bandas bien separadas y se consideró que corresponden a la actividad de 2 loci para la misma enzima.

2. 2. Medidas de la variabilidad genética

La variabilidad genética observada en un muestreo se midió por diferentes parámetros:

- Tasa de polimorfismo

Es el porcentaje de loci polimórficos sobre el número de loci estudiados. Existen dos criterios para definir un loci polimorfo: el alelo más frecuente no sobrepasa la frecuencia de 0.95 ó de 0.99. La diferencia entre los dos índices da una estimación de los alelos con una frecuencia < 0.05 (Bosseno y Breniere, 1998).

- Promedio del número de alelos por locus:

$$A = \sum a_r / r$$

a_r = no. de alelos para cada locus.
 r = número de loci estudiados.

- Heterocigocidad observada :

$$H_o = \sum h_o / r$$

r = número de loci.
 h_o = frecuencia de los heterocigotos en cada locus.

- Heterocigocidad esperada :

Es la heterocigocidad esperada bajo la hipótesis del equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W). La ley de H-W establece que los individuos de una misma población se cruzan al azar lo que equivale a la unión al azar de los gametos. Así, las frecuencias alélicas a la nueva generación son exactamente las mismas que a la generación anterior.

$$H_e = \sum \frac{h}{r}$$

r = Número de loci

h = Índice de diversidad genética en cada loci que se expresa:

$$h = 1 - \sum q_i^2$$

q_i = frecuencia de cada alelo

El conjunto de índices de variabilidad fueron calculados con el programa GENETIX (K. Belkir, laboratorio "Genome, Populations, Interactions"; CNRS UPR 9060, Montpellier Francia).

2. 3. Filogenia

2.3.1. Distancia genética de Nei

Ampliamente utilizada en los estudios de genética de poblaciones, es una medida directa de las diferencias génicas entre dos poblaciones. Es una estimación del número medio de codones diferentes por gen entre dos taxones.

Cuantifica las divergencias genéticas entre unidades taxonómicas, a partir de frecuencias alélicas.

$$D = -\ln \left(\frac{\sum_m \sum_i p_{1mi} p_{2mi}}{\sqrt{\sum_m \sum_i p_{1mi}^2} * \sqrt{\sum_m \sum_i p_{2mi}^2}} \right)$$

m = número de locus

p_{1mi} = frecuencia del alelo i del locus m para la población 1

\sum_m = suma de los locus

\sum_i = suma de los alelos

Las distancias genéticas entre pares de especies fueron calculadas gracias al programa GENETIX. Dos distancias han sido propuestas por Nei (1972 y 1978) y la segunda introduce una modificación para biai de muestreo. La segunda fue escogida para este estudio donde algunas poblaciones presentan números reducidos de individuos.

2.3.2. Dendrograma

A partir de la matriz de distancia de Nei se construyó un dendrograma tipo UPGMA ("Unweighted pair-group method") por clasificación jerárquica ascendente. Este dendrograma ilustra las relaciones evolutivas entre las poblaciones estudiadas. La construcción se hizo con el programa Mac Dendro y la transformación en gráfico por el programa Mac Graph.

2. 4. Diferenciación intrapoblaciones e interpoblaciones

Tres índices fueron calculados (Nei, 1987):

- El índice F_{it} estima la desviación que existe entre todos los individuos (población total) al equilibrio de Hardy Weinberg.
- El índice F_{is} estima la desviación que existe al equilibrio de Hardy Weinberg en las subpoblaciones.

$$F_{is} = 1 - \frac{H_o^k}{H_e^k}$$

K = locus

H_o = promedio heterocigotos observados

H_e = promedio heterocigotos esperados

- El índice F_{st} mide la diferenciación inter poblacional.

El programa GENETIX y FSTAT proponen pruebas de permutación al azar para establecer la significancia de cada uno de estos índices.

Para el F_{it} el programa realiza permutaciones globales de los alelos. Este procedimiento permite realizar pruebas de significancia de los valores estimados de F_{it} , efectuando un cierto número de permutaciones sobre los datos. La idea es de obtener la distribución del estimado sobre la hipótesis nula (reproducción al azar entre individuos). La comparación del valor estimado con la distribución obtenida, dará la probabilidad de tener un valor mayor ó igual al valor observado sobre la hipótesis nula.

Para el F_{is} se efectúan también permutaciones de alelos adentro de cada población.

Finalmente para el índice F_{st} , el programa GENETIX efectúa permutaciones globales de los individuos.

2. 5 Análisis AFC

El análisis factorial de correspondencia, es un tipo de análisis que describe la asociación entre variables cualitativas. Permite visualizar cada individuo en un hiperespacio que tiene tantas dimensiones como alelos observados en todo el muestreo para todos los loci. Los tres ejes principales explican el mayor porcentaje de la variabilidad global.

Este análisis fue realizado gracias al programa de GENETIX.

Tabla 1: Índice de infestación

Estado	Localidad	Total de domicilios visitados	Domicilios visitados al azar	Domicilios con triatominos	Índice de infestación		
					Intra	Peri	*Total
Jalisco	Crucero de Santa María	2	0	2	(-)	(-)	(-)
	Ipasolitic	4	4	4	0/4 (-)	4/4 (-)	4/4 (-)
	San Martín	2	2	2	0/2 (-)	2/2 (-)	2/2 (-)
	Tepehuaje	23	23	22	0/23 (-)	22/23 (95.6%)	22/23 (95.6%)
	Total	31	29	30	0/29 (0%)	28/29 (96.5%)	28/29 (96.5%)
Nayarit	Carrillo Puerto	22	22	8	2/22 (9.1%)	7/22 (31.8%)	8/22 (36.4%)
	Chacala	2	2	0	(-)	(-)	(-)
	Compostela	8	8	0	(-)	(-)	(-)
	Platanitos	1	0	1	(-)	(-)	(-)
	Puga	1	1	1	1/1 (-)	1/1 (-)	1/1 (-)
	Total	34	33	10	3/33 (9.0%)	8/33 (24.2%)	9/33 (27.3%)
Zacatecas	Atexca	2	2	0	(-)	(-)	(-)
	Palo verde	5	5	4	1/5 (-)	3/5 (-)	4/5 (-)
	Moyahua	8	8	2	0 (-)	2/8 (-)	2/8 (-)
	Cuxpala	25	24	22	13/24 (54.2%)	11/24 (45.8%)	22/24 (91.7%)
	Total	40	39	28	14/39 (35.9%)	16/39 (41.0%)	28/39 (71.8%)
Oaxaca	Jalapa del Valle	58	58	8	8/58 (13.8%)	0%	8/58 (13.8%)
	San Bartolo de Covotepec	34	34	8	4/34 (11.8%)	5/34 (14.7%)	8/34 (23.5%)
	Total	92	92	16	12/92 (13.0%)	5/92 (5.4%)	16/92 (17.4%)

Intra: área intradomiciliar; Peri: área peridomiciliar; (-) = no calculado porque se visitaron pocas casas

* Índice de infestación calculado por domicilio (intra + peri)

RESULTADOS

I. Estudio entomológico en comunidades de cuatro estados de la República Mexicana: Jalisco, Nayarit, Zacatecas y Oaxaca

1. Análisis de infestación de las comunidades por triatominos

En cada domicilio se visitó la casa (área intradomiciliaria) y alrededor de la propiedad que incluye patios, establos, corrales, gallineros, etc. (área peridomiciliaria). La presencia de triatominos en las áreas intradomiciliaria como peridomiciliaria, representan factores de riesgos de la transmisión de la enfermedad de Chagas.

En la tabla 1, se resume el estado de infestación de los lugares investigados. En cada estado, por lo menos una comunidad fue muestreada para poder establecer el índice de infestación (buena representatividad de domicilios visitados sobre el número de domicilios en la comunidad, programa Epinfo). En otras comunidades el muestreo es muy reducido para este propósito. Se considera como infestado cada domicilio (área intradomiciliaria y/o peridomiciliaria) con presencia de triatominos.

En las comunidades de los estados de Jalisco y Zacatecas los índices de infestación son particularmente más elevados que en los otros estados (Nayarit y Oaxaca).

De acuerdo al lugar de captura, podemos distinguir 3 situaciones diferentes:

- a) Infestación casi exclusiva en el área peridomiciliaria que ocurre en los municipios del estado de Jalisco y en Carrillo Puerto (Nay.) donde

solamente 3 insectos de 150 fueron encontrados dentro de casas. La gente de estos lugares reporta la penetración ocasional de los triatominos a las casas y picaduras en diferentes partes del cuerpo (ronchas muy características por estos insectos). Además, parte de la actividad de las comunidades es la crianza de animales domésticos que permanecen en la propiedad humana.

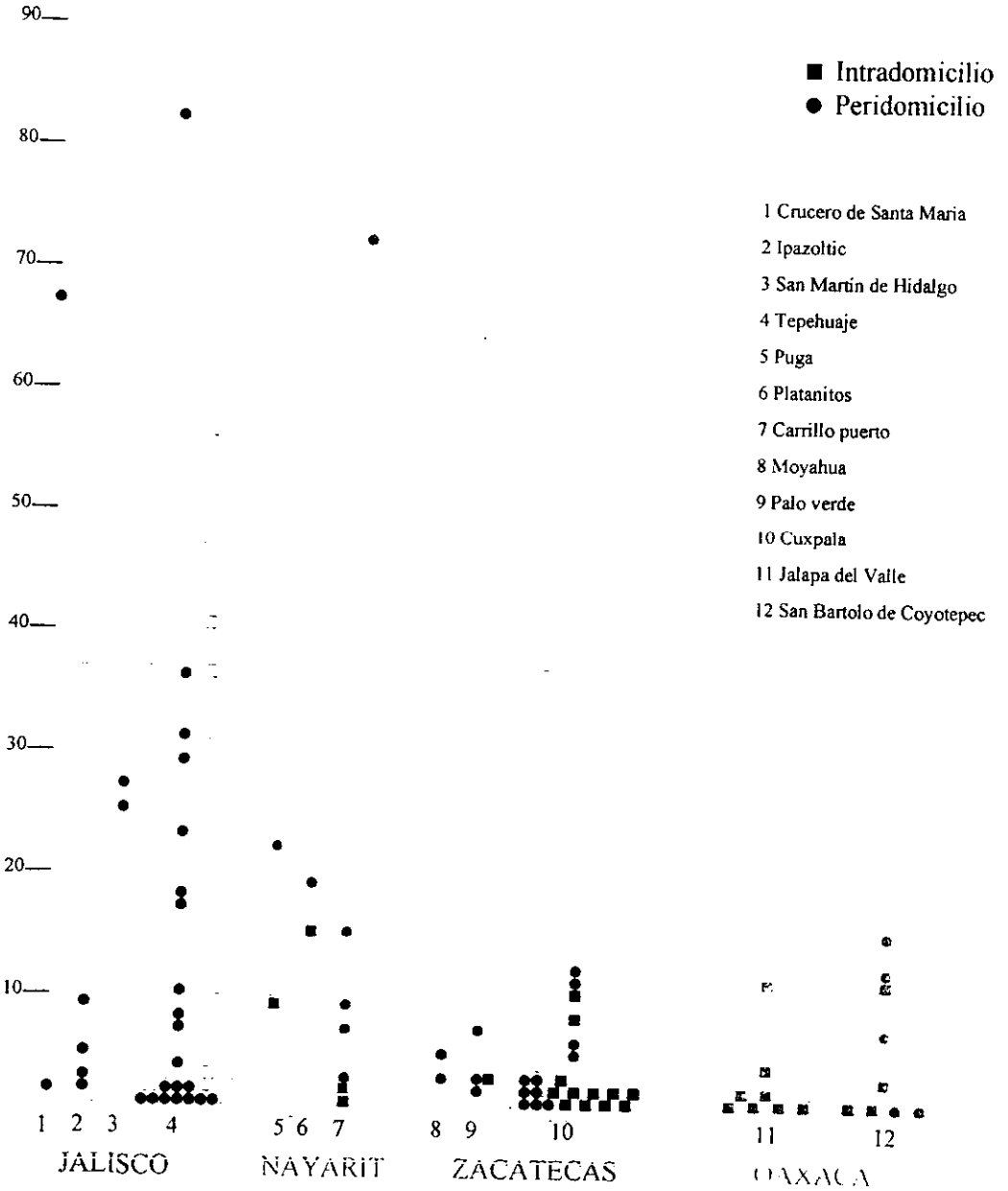
b) En las comunidades de Zacatecas y en San Bartolo de Coyotepec (Oax.), los insectos se encontraron en intradomicilio y peridomicilio. Las características del municipio de San Bartolo Coyotepec son muy parecidas a las anteriormente mencionadas en cuanto a la crianza de animales domésticos. Sin embargo, en las comunidades de Zacatecas es muy raro encontrar crianza de animales domésticos en la propiedad humana. También en la comunidad de Cuxpala (Zac.), la gente menciona haber sido picada por triatominos.

c) En el pueblo de Jalapa del Valle del municipio de San Felipe Tejalapa (Oax.), la captura de triatominos fue solamente en la área intradomiciliaria, siendo la infestación muy baja. Esta comunidad es muy pobre, las casas son pequeñas y hay ausencia de crianza de animales domésticos. Cabe destacar, que en el segundo año de colecta, no hubo ninguna captura de triatominos. Se observó un mejoramiento en la construcción de las viviendas debido posiblemente a las consecuencias del sismo de octubre de 1999.

2. Densidades vectoriales

La figura 1 presenta los números de triatominos capturados en cada área. Se puede observar que en las comunidades de Jalisco y Nayarit, el número de triatominos en el peridomicilio puede ser muy elevado. Sorprendentemente, en la única casa visitada en la comunidad de Platanitos, se encontraron un buen

Fig. 1: Número de Triatominos por domicilio y localidad



número de triatominos dentro de la casa (presencia de todo los estadios ninfales). En las comunidades de Zacatecas y Oaxaca un máximo de 15 triatominos se capturaron en un mismo sitio, intradomiciliar o peridomiciliar y 1 a 2 triatominos fueron encontrados en un porcentaje elevado de lugares visitados. La tabla 2 presenta los índices de densidad de triatominos por comunidades y estados. Las cifras confirman que las densidades de triatominos en las comunidades de Zacatecas y Oaxaca son netamente inferiores a las de Jalisco y Nayarit ($p = 0.001$, Kruskal-Wallis). Por otra parte, las densidades de triatominos en áreas domiciliarias y peridomiciliarias, en los estados de Zacatecas y Oaxaca no fueron significativamente diferentes ($p = 0.26$ en los dos casos, Kruskal-Wallis).

3. Colonización

Un sitio intradomiciliar o peridomiciliar se considera colonizado cuando se capturan estadios ninfales los cuales indican la reproducción y desarrollo de insectos en el lugar (Tabla 3).

Se observa que las áreas peridomiciliarias de las comunidades de Jalisco y Nayarit, está muy colonizada. Por otra parte, los índices de colonización en las comunidades de Oaxaca son igualmente elevados. En la comunidad de Cuxpala (Zac.), las áreas domiciliarias y peridomiciliarias son colonizadas, pero con menores índices. Además observamos que las proporciones de los insectos adultos y de los estadios ninfales, en los diferentes estados son diferentes ($X^2 = 46.83$, $p < 0.001$). Cabe resaltar que en la comunidad de Cuxpala, la proporción de adultos (53.5%) es significativamente mayor a las encontradas en las otras comunidades, Carrillo Puerto ($X^2 = 39$, $p < 10^{-4}$), Tepehuaje ($X^2 = 47$, $p < 10^{-4}$), Jalapa del Valle ($X^2 = 19$, $p < 10^{-4}$), San Bartolo de Coyotepec ($X^2 = 4.2$, $p < 0.05$).

Tabla 2: Índice de densidad de triatominos

Estado	Localidad	Índice de densidad		
		Intra	Peri	*Total
Jalisco	Crucero de Santa María		34.5 ± 46	34.5 ± 46
	Ipazoltic		4.75 ± 3.1	4.75 ± 3.1
	San Martín		2.6 ± 1.4	2.6 ± 1.4
	Tepehuaje		13.7 ± 19.1	13.7 ± 19.1
	Total			14.7 ± 19.7
Nayarit	Carrillo Puerto	1.5 ± 0.7	16.8 ± 24.7	13.4 ± 22.4
	Platanitos	15	19	17 ± 2.8
	Puga	9	22	15.5 ± 9.2
	Total			14.5 ± 17.9
Zacatecas	Palo verde	3	4 ± 2.6	3.7 ± 2.2
	Moyahua		4 ± 1.4	4 ± 1.4
	Cuxpala	2.9 ± 2.9	4.3 ± 4.0	3.6 ± 3.4
	Total			3.6 ± 3.1
Oaxaca	Jalapa del Valle	2.9 ± 3.4		2.9 ± 3.4
	San Bartolo de Covotepec	4 ± 4.8	7.2 ± 6.3	5.8 ± 5.6
	Total			4.4 ± 4.8

Intra: área intradomiciliar; Peri: área peridomiciliar

* No. de triatominos /domicilios con triatominos (peri y o intra)

Tabla 3: Índice de colonización

Estado	Localidad	No. Adultos	No. Ninfas	Índice de colonización		
				Intra	peri	*Total
Jalisco	Crucero de Santa Maria	4	65		2/2 (-)	2/2 (-)
	Ipazoltic	4	15		3/4 (75%)	3/4 (75%)
	San Martin	24	28		2/2 (-)	2/2 (-)
	Tepehuaje	75	226		14/22 (63.6%)	14/22 (63.6%)
	Total	107	334		21/30 (70%)	21/30 (70%)
Nayarit	Carrillo Puerto	28	93	0/2 (-)	6/7 (85.6%)	6/8 (75%)
	Platanitos	8	26	1/1 (-)	1/1 (-)	1/1 (-)
	Puga	2	29	1/1 (-)	1/1 (-)	1/1 (-)
	Total	38	148	2/4 (-)	8/9 (88.9%)	8/10 (80%)
Zacatecas	Palo verde	3	12	1/1 (20%)	2/3 (-)	3/4 (60%)
	Moyahua		8		2/2 (-)	2/2 (-)
	Cuxpala	58	33	4/13 (30.7%)	6/11 (54.5%)	10/22 (45.4%)
	Total	61	53	5/14 (35.7%)	10/16 (62.5%)	15/28 (53.6%)
Oaxaca	Jalapa del Valle	3	20		6/8 (75%)	6/8 (75%)
	San Bartolo de Coyotepec	24	28	4/4 (-)	4/5 (80%)	7/8 (87.5%)
	Total	27	48	10/12 (83.3%)	4/5 (80%)	13/16 (81.2%)

* Índice de colonización por domicilio (intra + peri)

(-) = no calculado porque incluye pocas casas

Tabla 4: Especies capturadas en los diferentes municipios

Estado	Municipio	Especie	Triatominos capturados	
			No.	%
Jalisco	San Martín de Hidalgo	<i>T. longipennis</i>	100	93.4
		<i>T. picturata</i>	1	1.0
		<i>C. phyllosoma (ninfas)</i>	304	
		<i>T. barberi</i>	6	5.6
		<i>T. barberi (ninfas)</i>	4	
Nayarit	Compostela	<i>T. longipennis</i>	6	21.4
		<i>T. picturata</i>	22	78.6
	Platanitos	<i>C. phyllosoma (ninfas)</i>	137	
		<i>T. picturata</i>	8	100
		<i>C. phyllosoma (ninfas)</i>	26	
	Tepic	<i>T. longipennis</i>	2	100
		<i>C. phyllosoma (ninfas)</i>	29	
Zacatecas	Moyahua de Estrada	<i>T. longipennis</i>	61	100
		<i>C. phyllosoma (ninfas)</i>	53	
Oaxaca	San Felipe Tejalapa	<i>T. barberi</i>	3	100
		<i>T. barberi (ninfas)</i>	20	
	San Bartolo de Coyotepec	<i>T. barberi</i>	24	100
		<i>T. barberi (ninfas)</i>	28	

Tabla 5: Índice de infección por localidad

Estado	Localidad	Índice de infección		Índice de infección total
		Intra	Peri	
Jalisco	Crucero de Santa María		27/68 (39.7%)	27/68 (39.7%)
	Ípasoltic		4/16 (25%)	4/16 (25%)
	San Martín		10/51 (19.6%)	10/51 (19.6%)
	Tepehuaje		154/294 (52.4%)	154/294 (52.4%)
	Total		195/429 (45.5%)	195/429 (45.5%)
Nayarit	Carrillo Puerto	0/3 (-)	70/112 (62.5%)	70/115 (60.9)
	Platanitos	no determinado	no determinado	7/29 (24%)
	Puga	1/8 (12.5%)	1/20 (5.0%)	2/28 (7%)
	Total	1/11 (9%)	71/132 (53.8%)	79/172 (45.9%)
Zacatecas	Palo verde	0/3 (-)	3/11 (27.3%)	3/14 (21%)
	Moyahua		0/4 (-)	0/4 (-)
	Cuxpala	12/31 (38.7%)	18/43 (41.9%)	30/74 (40.5%)
	Total	12/34 (35.3%)	21/58 (36.2%)	33/92 (35.9%)
Oaxaca	Jalapa del Valle	2/20 (10%)		3/21 (14.3%)
	San Bartolo de Coyotepec	1/9 (11.1%)	21/33 (63.6%)	22/42 (52%)
	Total	3/29 (10.3%)	21/33 (63.6%)	25/63 (40%)

Intra: área intradomiciliar; Peri: área peridomiciliar
 (-) = no calculado porque se visitaron pocas casas

Tabla 6: Índices de infección por especie y estadios de los triatomos

	JALISCO	NAYARIT	ZACATECAS	OAXACA
<i>T. longipennis</i>	50/100 (50%)	3/8 (37.5%)	26/47 (55%)	
Macho	21/50 (42%)	2/6 (33.3%)	11/17 (64.7%)	
Hembra	29/50 (58%)	1/2 (-)	15/30 (50%)	
<i>T. picturata</i>	0/1 (-)	12/23 (52%)		
Macho	0/1 (-)	5/12 (41.7%)		
Hembra		7/11 (63.6%)		
<i>C. Phyllosoma</i>				
N1	0/2 (-)	0/1 (-)	0/3 (-)	
N2	7/16 (43.7)	1/3 (-)	0/7 (-)	
N3	34/80 (42.5%)	12/22 (54.5%)	0/2 (-)	
N4	36/84 (42.9%)	16/39 (41%)	2/14 (14.3%)	
N5	66/140 (47%)	36/76 (47.4%)	3/18 (16.7%)	
<i>T. barberi</i>	1/3 (-)			12.18 (66.7%)
Macho	0/1 (-)			6/10 (60%)
Hembra	1/2 (-)			6/8 (75%)
N1				0/2 (-)
N2				0/10 (-)
N3				1/16 (6%)
N4	0/2 (-)			4/7 (57%)
N5	1/2 (-)			6/7 (86%)

(-) = no calculado por el número reducido de triatomos analizados

4. Distribución de las especies

La tabla 4 indica las especies colectadas en cada región y el número de individuos colectados de cada especie identificadas por clave (Anexo 7). En Jalisco se identificaron 3 especies siendo *T. longipennis* la más abundante. Además se observó que estas tres especies se encontraron en un mismo hábitat. En Nayarit, también se encontró más de una especie: *T. longipennis* y *T. picturata*, pero en este caso, *T. picturata* se encontró con mayor frecuencia. En Zacatecas se colectó solo a *T. longipennis* y en Oaxaca a *T. barberi*. Varias ninfas, colectadas en Oaxaca, fueron analizadas por isoenzimas y presentaron perfiles que identifican a *T. barberi*.

5. Índices de infección

En la tabla 5, se observa que los índices de infección en cada comunidad investigada son elevados excepto en Jalapa del Valle (10%) pero, en esta localidad, pocos adultos y quinto estadios fueron examinados (ver también tabla 6). En general, los triatominos del área peridomiciliada presentan una infección alta. En la localidad de Cuxpala (Zac.), se observó que los índices de infección son similares entre las áreas peridomiciliarias y domiciliarias.

La tabla 6 presenta en detalle las infecciones según los Estados, las especies, los estadios y sexo de los insectos. Las tres especies presentan tasas comparables por arriba del 50%.

En cuanto al índice de infección por sexo, no se observó ninguna diferencia significativa para los estados de Oaxaca (*T. barberi*, $X^2 = 0.09$, $p > 0.05$), Jalisco (*T. longipennis*, $X^2 = 0.86$, $p > 0.05$) y Nayarit (*T. picturata*, $X^2 = 0.12$, $p > 0.05$).

En Tepehuaje y Carrillo Puerto se observaron tasas de infecciones elevadas desde los primeros estadios ninfales (N2-N3) y tasas de infección

parecidas se mantienen hasta los estados adultos en Tepehuaje. En las otras dos comunidades, se observó un incremento regular de la tasa de infección hasta los estados adultos.

II - Estudio isoenzimático

1. Muestreo

Se analizaron 5 especies, 3 del complejo *T. phyllosoma* [*T. longipennis* (Jalisco, Nayarit y Zacatecas), *T. picturata* (Jalisco y Nayarit), y *T. pallidipennis* (Morelos y Colima)], *T. barberi* (Jalisco y Oaxaca) y *T. dimidiata* (San Luis Potosí y Oaxaca). También se analizaron ninfas de quinto estadio del complejo *T. phyllosoma* capturadas en el municipio de San Martín Hidalgo (Jal.), así como ninfas de *T. barberi* (Jalisco y Oaxaca). La tabla 7 presenta el número de individuos analizados por región y por especie.

2. Genótipos observados e índices de polimorfismo en las diferentes especies

La interpretación de los zimogramas fue clásica: una banda única indica individuos homocigotos y dos bandas indican individuos heterocigotos. La interpretación de las bandas se realizó según la velocidad de migración. La banda más rápida corresponde al alelo 1, la siguiente en orden descendente 2 y así sucesivamente (fig. 2). El anexo 6 presenta los genotipos observados para las diferentes especies y localidades. De esta tabla derivamos las frecuencias alélicas, las tasas de polimorfismo, las heterocigosidades observadas y esperadas para cada especie (parte inferior de la tabla 8).

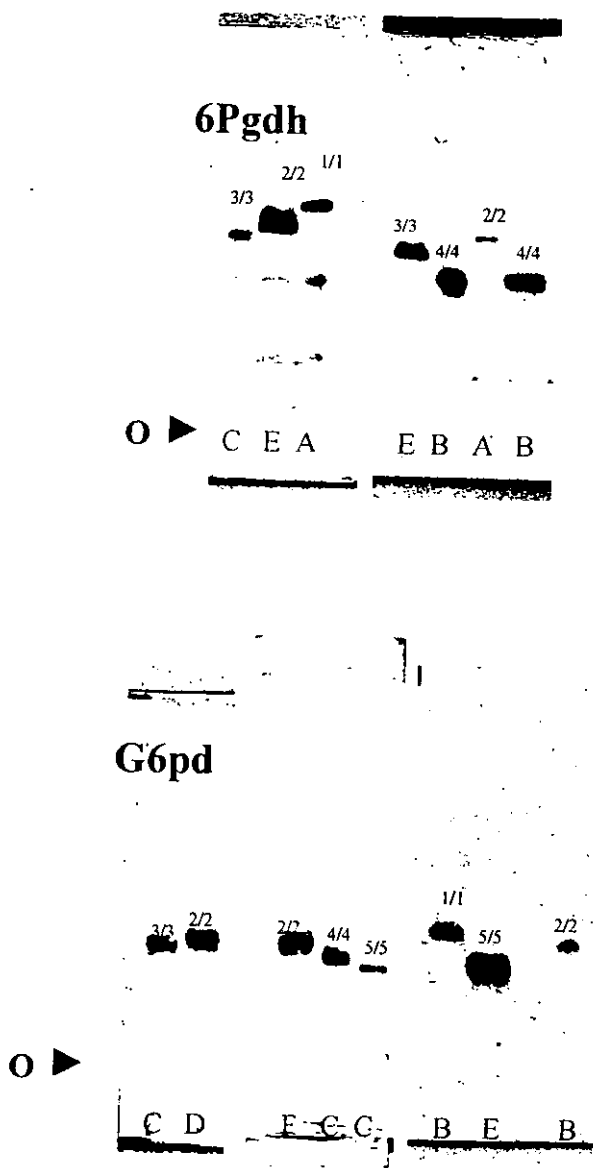
2. 1. *Triatoma barberi*

Los insectos procesados de *T. barberi* proceden de tres lugares: Jalapa del Valle (Oax.), San Bartolo de Coyotepec (Oax.) y Tepehuaje (Jal.). Observamos 13 loci monomorfos: *6Pgd*, *Got*, *Gpi*, *Idh₁*, *Idh₂*, *Lap*, *Me₁*, *Me₂*,

Tabla 7 : Muestreo

Especie	Estados	N/estado	No. total	No. localidades	Estadios
<i>T. barberi</i>	Oaxaca	33	35	2	adultos y
	Jalisco	2		1	ninfas
<i>T. dimidiata</i>	Oaxaca	5	18	1	adultos y ninfas
	San Luis Potosí	13		1	
<i>T. longipennis</i>	Nayarit	6	39	1	adultos
	Zacatecas	9		2	
	Jalisco	24		4	
<i>T. pallidipennis</i>	Colima	8	31	1	adultos
	Morelos	23		5	
<i>T. picturata</i>	Jalisco	1	28	1	adultos
	Nayarit	27		2	
<i>C. Phyllosoma</i>	Jalisco	43	43	2	ninfas

FIGURA 2a : Placas de electroforesis de triatominos



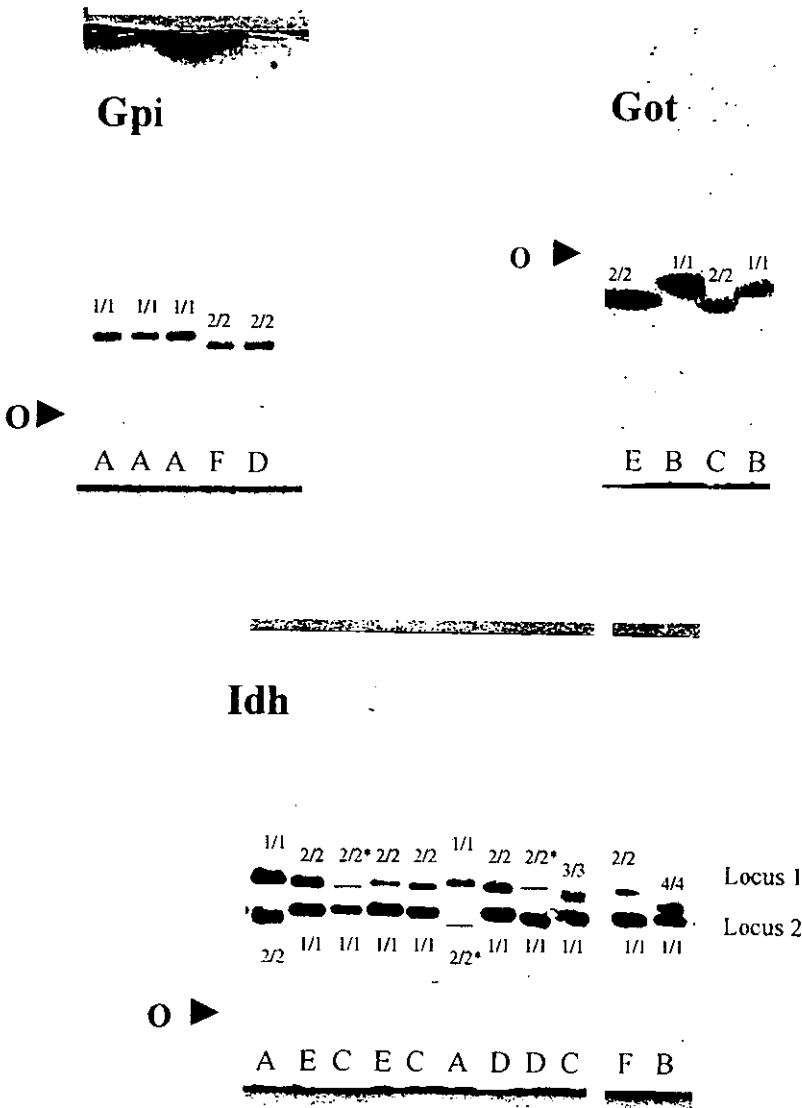
x/x = alelos en cada loci estudiado

A = *T. barberi*, B = *T. dimidiata*, C = *T. longipennis*, D = *T. pallidipennis*,

E = *T. picturata*, F = ninfas complejo *T. phyllosoma*

O = Origen

FIGURA 2b: Placas de electroforesis de triatominos



x/x = alelos en cada loci estudiado

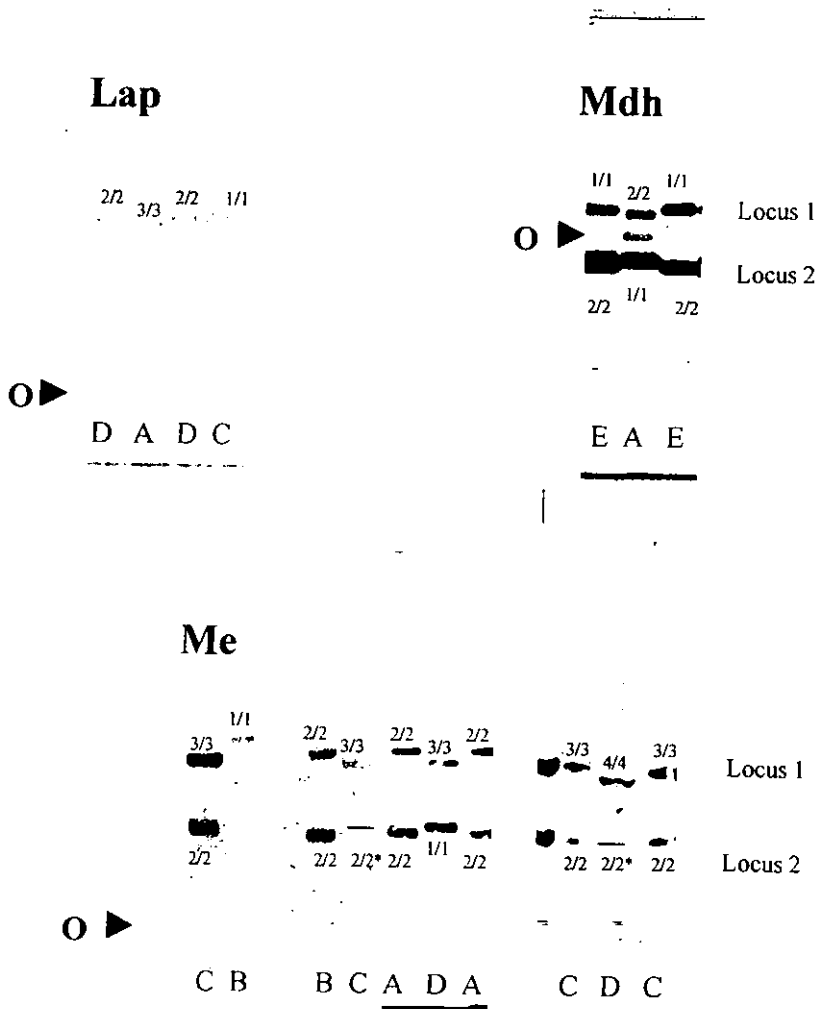
A = *T. barberi*, B = *T. dimidiata*, C = *T. longipennis*, D = *T. pallidipennis*,

E = *T. picturata*, F = ninfas complejo *T. phyllosoma*

* banda presente pero no distinguible

O = Origen

FIGURA 2c : Placas de electroforesis de triatominos



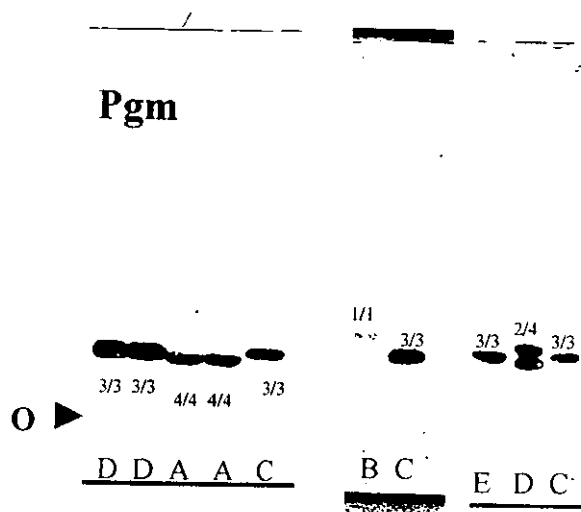
x/x = alelos en cada loci estudiado

A = *T. barberi*, B = *T. dimidiata*, C = *T. longipennis*, D = *T. pallidipennis*,

E = *T. picturata*, F = ninfas complejo *T. phyllosoma*

O = Origen

FIGURA 2d : Placas de electroforesis de triatominos



x/x = alelos en cada loci estudiado

A = *T. barberi*, B = *T. dimidiata*, C = *T. longipennis*, D = *T. pallidipennis*,

E = *T. picturata*, F = ninfas complejo *T. phyllosoma*

O = Origen

Tabla 8: Frecuencias alélicas y loci polimórficos entre 5 especies Mexicanas de Triatomíneos

Locus	Alelos	<i>T. barberi</i>	<i>T. dimidiata</i>	<i>T. longipennis</i>	<i>T. pallidipennis</i>	<i>T. picturata</i>
<i>61gd</i>		32	17	26	22	23
	1	1.00	0.000	0.000	0.000	0.000
	2	0.000	0.000	0.039	0.000	0.043
	3	0.000	0.412	0.923	1.000	0.957
<i>Dna</i>		26	13	38	30	28
	1	0.961	0.000	0.000	0.000	0.000
	2	0.000	0.000	0.158	0.067	0.089
	3	0.039	1.000	0.842	0.933	0.911
<i>G6pd</i>		19	14	34	20	24
	1	0.000	0.357	0.000	0.000	0.000
	2	0.053	0.643	0.839	0.825	0.625
	3	0.947	0.000	0.088	0.050	0.208
	4	0.000	0.000	0.044	0.000	0.042
<i>Grot</i>		9	12	34	21	22
	1	0.000	0.333	0.000	0.000	0.000
	2	0.000	0.667	1.000	1.000	1.000
<i>Gpi</i>		30	17	35	27	24
	1	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Idh1</i>		32	17	35	27	26
	1	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	2	0.000	0.412	0.914	1.000	1.000
	3	0.000	0.000	0.086	0.000	0.000
<i>Idh2</i>		32	17	35	27	26
	1	0.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Lap</i>		28	17	38	30	28
	1	0.000	0.000	0.026	0.033	0.000
	2	0.000	0.000	0.974	0.967	1.000
<i>Mad1</i>		22	17	29	29	28
	1	0.136	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Mad2</i>		24	13	30	28	28
	1	0.875	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Me1</i>		23	16	38	27	28
	1	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000
	2	1.000	0.875	0.000	0.000	0.000
	3	0.000	0.000	0.921	0.963	0.750
<i>Me2</i>		20	12	37	23	28
	1	0.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Pep1</i>		22	13	36	23	25
	1	1.000	0.462	0.194	0.174	0.120
<i>Pep2</i>		25	13	38	25	26
	1	0.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Pep3</i>		8	0	32	18	21
	1	0.000	nd	0.031	0.000	0.000
	2	1.000	nd	0.966	0.972	0.857
	3	0.000	nd	0.031	0.028	0.143
<i>Pgm1</i>		30	15	37	28	26
	1	1.000	0.933	0.000	0.037	0.000
	2	0.000	0.067	0.919	0.926	0.808
<i>Pgm2</i>		31	10	38	30	28
	1	0.000	0.900	0.000	0.000	0.000
	2	0.000	0.000	0.079	0.052	0.071
	3	0.000	0.100	0.922	0.914	0.929
P (0.95)		0.18	0.50	0.53	0.29	0.41
		0.23	0.50	0.59	0.47	0.47
	A	1.23	1.50	1.88	1.65	1.59
	Ho	0.00	0.00	0.02	0.02	0.02
	He	0.04	0.18	0.11	0.07	0.12

P = polimorfismo; A = promedio de alelos por loci; Ho = heterociguidad observada; He = heterociguidad esperada

*Pep*₁, *Pep*₂, *Pep*₃, *Pgm*₁ y *Pgm*₂. De los otros 4 loci solamente 1 presentó una frecuencia del alelo más común < 0.95. Consecuentemente, la tasa de polimorfismo (95%) es de solamente 0.18 y para 1 loci (*Dia*) detectamos un segundo alelo (frecuencias debajo de 0.05), en un individuo de San Bartolo de Coyotepec. Por otra parte no se detectó ningún individuo heterocigoto.

Comparada a las otras especies *T. barberi* presenta la tasa de polimorfismo mas baja (Tabla 8).

2. 2. *Triatoma dimidiata*

A pesar del análisis de un muestreo pequeño, observamos un mayor polimorfismo y solamente 8 loci son monomorfos: *Dia*, *Gpi*, *Idh*₂, *Lap*, *Mdh*₁, *Mdh*₂, *Me*₂ y *Pep*₂.

Todos los demás loci son polimorfos y el alelo más frecuente a cada locus es < 0.95. Consecuentemente, la tasa de polimorfismo es elevada: P = 0.50. Como en *T. barberi* no observamos individuos heterocigotos.

2. 3. *Triatoma longipennis*

Los insectos proceden de 3 estados del occidente de México y al igual que *T. dimidiata* presenta una tasa elevada de polimorfismo. Siete loci son monomórficos: *Got*, *Gpi*, *Idh*₂, *Mdh*₁, *Mdh*₂, *Me*₂ y *Pep*₂.

Lap presenta un bajo polimorfismo (alelo más frecuente $0.95 < x < 0.99$) corresponde a un segundo alelo detectado únicamente en un individuo de la población de San Martín de Hidalgo.

El número medio de alelos por locus es el más elevado entre las especies estudiadas y la heterocigosidad observada es de 0.017. Se observaron heterocigotos para los siguientes loci: *G6pd* y *Dia*

2. 4. *Triatoma pallidipennis*

Para esta especie se observan 9 enzimas monomorfas: *6pgd*, *Got*, *Gpi*, *Idh1*, *Idh2*, *Mdh1*, *Mdh2*, *Me2*, y *Pep2*. Tres loci son poco variables (alelos raros): *Lap*, *Me1* y *Pep3* solamente en el estado de Morelos.

Los otros loci polimorfos *Me1*, *Pep1*, *Pep3* y *Pgm2* se presentan en ejemplares de Morelos (procedentes de varios municipios).

Los loci variables que presenta Noguera son: *Pgm1* y *Dia*. La frecuencia del alelo más común en los dos loci esta de 0.87.

2. 5. *Triatoma picturata*

En el total del muestreo observamos 9 loci monomorfos (*Got*, *Gpi*, *Idh1*, *Idh2*, *Lap*, *Mdh1*, *Mdh2*, *Me2* y *Pep2*). En Tepehuaje (Jal.) y Platanitos (Nay.) solamente 1 y 2 ejemplares respectivamente fueron analizados; excepto para el locus *Pgm2* los alelos identificados corresponden a los más frecuentes de la población de Carrillo Puerto. La tasa global de heterocigotos es comparable a las de *T. longipennis* y *T. pallidipennis*.

3. Análisis de agrupamientos inter especies

3. 1. Loci diagnósticos entre especies

Ningún loci es monomorfo para las 5 especies a la vez y varios loci son diagnósticos entre las especies *T. barberi*, *T. dimidiata* y las del complejo *T.*

phyllosoma. La tabla 9 resume la lista de los loci diagnósticos entre las especies. Solamente dos locis (*Lap* y *Me1*) distinguen *T. dimidiata* de las especies del complejo *T. phyllosoma* y ningún loci es diagnóstico entre las 3 especies del complejo. La especie *T. barberi* presenta varios loci diagnósticos con las demás especies: 8 con *T. dimidiata*, 11 con *T. longipennis*, 9 con *T. pallidipennis* y 11 con *T. picturata*. Del total de los loci analizados para las 5 especies se identificaron 47 alelos diferentes, dentro de las especies del complejo *T. phyllosoma* hay alelos presentes en unas y ausentes en otras. La tabla 10 presenta los números y porcentajes de alelos diagnósticos entre las especies del complejo *T. phyllosoma*.

3. 2. Análisis filogenético

A partir de las diferentes frecuencias observadas se calculó las distancias de Nei (1978) entre pares de especies. La tabla 11 presenta las distancias obtenidas. Se procesó a permutaciones aleatorias de individuos entre cada par de especies lo que permite probar la hipótesis nula es decir una distancia nula entre cada par de especies comparadas (Programa GENETIX). Las distancias son significativamente diferentes de 0 entre *T. barberi* y las demás especies y entre *T. dimidiata* y las especies del complejo. Las distancias entre las especies del complejo *T. phyllosoma* son ≤ 0.005 , distancias netamente inferiores a las registradas entre estas especies y *T. dimidiata*. *T. barberi* presenta distancias mucho más elevadas (≥ 1.36) con respecto a las demás especies.

La relaciones filogenéticas entre las especies esta ilustrada en el dendrograma construido a partir de la matriz de distancias (Figura 3). Las especies del complejo son estrechamente relacionadas entre ellas, *T. dimidiata* es mas relacionada a ellas que a *T. barberi* y finalmente *T. barberi* es genéticamente muy alejada de todas.

Tabla 9: Loci diagnósticos entre 5 principales especies de México

	<i>T. barberi</i>	<i>T. dimidiata</i>	<i>T. longipennis</i>	<i>T. pallidipennis</i>
<i>T. dimidiata</i>	6Pgd, Got, Gpi, Idh ₁ , Idh ₂ , Me ₂ , Pgm ₂ , Pep ₂ , (50%)			
<i>T. longipennis</i>	6Pgd, Got, Gpi, Idh ₁ , Idh ₂ , Lap, Me ₁ , Me ₂ , Pgm ₁ , Pgm ₂ , Pep ₂ , (65%)	Lap, Me ₁ (12%)		
<i>T. pallidipennis</i>	6Pgd, Got, Gpi, Idh ₁ , Idh ₂ , Lap, Me ₁ , Me ₂ , Pep ₂ , (53%)	Lap, Me ₁ (12%)	Ninguno	
<i>T. picturata</i>	6Pgd, Idh ₁ , Idh ₂ , Got, Gpi, Lap, Me ₁ , Me ₂ , Pgm ₁ , Pgm ₂ , Pep ₂ , (63%)	Lap, Me ₁ (12%)	Ninguno	Ninguno

(%) = No. de loci diagnóstico / No. total de loci estudiado para las 2 especies

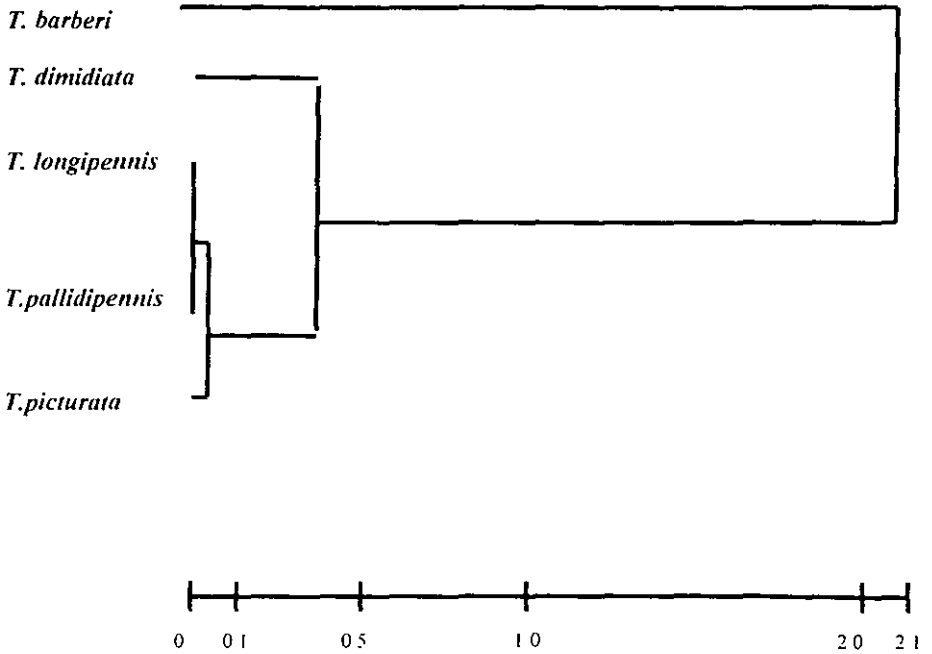
Tabla 10: Porcentajes de alelos diagnósticos entre especies

	<i>T. longipennis</i>	<i>T. pallidipennis</i>
<i>T. pallidipennis</i>	6/47 (13%)	
<i>T. picturata</i>	5/47 (11%)	5/47 (11%)

Tabla 11: Distancias genéticas de Nei entre especies

	<i>T. barberi</i>	<i>T. dimidiata</i>	<i>T. longipennis</i>	<i>T. pallidipennis</i>
<i>T. dimidiata</i>	1.366			
<i>T. longipennis</i>	2.336	0.362		
<i>T. pallidipennis</i>	2.303	0.362	$< 10^{-4}$	
<i>T. picturata</i>	2.34	0.36	0.005	0.005

FIGURA 3: Dendograma UPGMA construido a partir de la matriz de distancias de Nei (1978)



3. 3. Análisis AFC (Análisis factorial de correspondencias)

En el análisis AFC, se confirma la diferenciación de *T. barberi* de entre las demás especies y la posición intermedia de *T. dimidiata*. Los individuos de las especies del complejo están claramente aglomerados. En la figura 4 los 3 ejes principales (eje 1, 2 y 3) explican el 47.2% de la variabilidad global del muestreo, que incluye las 5 especies. De un total de 47 alelos identificados en las 5 especies reunidas, 16 presentan alta variabilidad con respecto a la variabilidad total observada sobre el eje 1.

4. Variabilidad intra especies

4. 1. Valores del Fis intra especies

Este índice permite evaluar si existe en una población una desviación significativa de la ley de Hardy-Weinberg (H-W). La tabla 12 presenta los valores del Fis obtenidos para cada locus y especie. El valor de los fis sobre el total de los locus es el promedio de los valores a cada locus. Para varios loci el valor del Fis es 1 y corresponde a la ausencia de heterocigotos observados en estos loci (ver fórmula del Fis en Material y Método). Valores del Fis < 1 corresponde a un déficit de heterocigotos y valores negativos a un exceso de heterocigotos. Los valores obtenidos sobre el total de los loci muestran un déficit de heterocigotos para cada especie a favor de un desequilibrio de H-W. La significancia de estos déficits fue analizada por un test al azar de permutaciones (10000) de los alelos a dentro de cada especie (ver Material y Métodos) y resultaron todos altamente significativos ($p = 10^{-4}$).

Los muestreos de cada especie, compuestos de insectos capturados en diferentes lugares geográficos, pueden determinar los desequilibrios de H-W observados (generalmente se observan diferencias de frecuencias alélicas entre poblaciones geográficas de una misma especie). A continuación se analizarán las poblaciones locales dentro de cada especie.

Figura 4: Análisis AFC de las 5 especies estudiadas

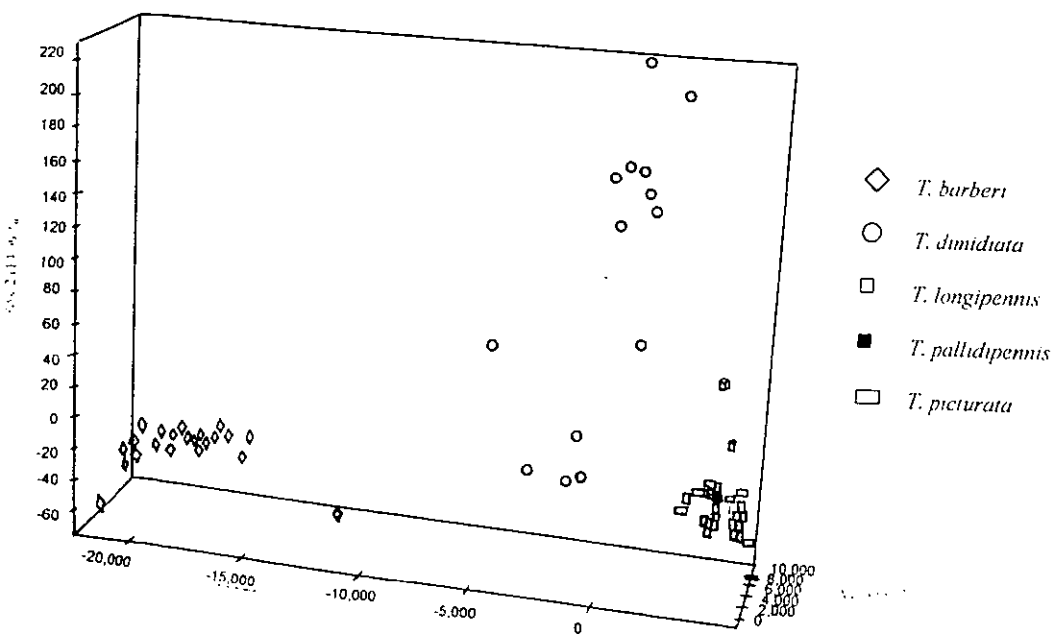


Tabla 12: valores de fis calculados para cada locus y especie

<i>Locus</i>	<i>T. barberi</i>	<i>T. dimidiata</i>	<i>T. longipennis</i>	<i>T. pallidipennis</i>	<i>T. picturata</i>
<i>Spgd</i>	mono	1.00	1.00	mono	1.00
<i>Dia</i>	1.00	mono	0.02	-0.05	-0.08
<i>G6pd</i>	1.00	1.00	0.90	0.84	1.00
<i>Got</i>	mono	1.00	mono	mono	mono
<i>Gpi</i>	mono	mono	mono	mono	mono
<i>Idh1</i>	mono	1.00	1.00	mono	mono
<i>Idh2</i>	mono	mono	mono	mono	mono
<i>Lap</i>	mono	mono	1.00	1.00	mono
<i>Mdh1</i>	1.00	mono	mono	mono	mono
<i>Mdh2</i>	1.00	mono	mono	mono	mono
<i>Me1</i>	mono	1.00	1.00	1.00	1.00
<i>Me2</i>	mono	mono	mono	mono	mono
<i>Pep1</i>	mono	1.00	1.00	1.00	1.00
<i>Pep2</i>	mono	mono	mono	mono	mono
<i>Pep3</i>	mono	nd	1.00	<10 ⁻⁴	0.62
<i>Pgm1</i>	mono	1.00	1.00	1.00	1.00
<i>Pgm2</i>	mono	1.00	1.00	0.58	1.00
Total	1.000	1.000	0.845	0.754	0.873
<i>p</i>	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴

Mono = monomorfico

4. 2. *Triatoma barberi*

De las poblaciones geográficas analizadas solamente la población de San Bartolo de Coyotepec presenta un número de individuos suficiente para el análisis de genética de poblaciones (alrededor de 20). La tabla 13 muestra la presencia de un alelo raro (en *Dia*) y solamente los dos loci de la *Mdh* son polimorfos para el criterio de $P(0.95)$. Para estos loci ningún heterocigoto fue identificado y el desequilibrio de H-W es significativo.

4. 3 *Triatoma dimidiata*

El muestreo actual no permite comparar frecuencias alélicas de subpoblaciones por falta de individuos. Solamente el análisis AFC en tres dimensiones permite evidenciar una alta variabilidad entre los individuos (Figura 5) y no indica agrupamiento geográfico (estados).

4. 4. *Triatoma longipennis*

En el muestreo de *T. longipennis* se pudieron comparar 4 subpoblaciones: Carrillo Puerto (Nay.) (6 individuos), Cuxpala (Zac.) (7 individuos), San Martín de Hidalgo (Jal.) (14 individuos) y Tepehuaje (Jal.) (7 individuos). La tabla 14 presenta los resultados. Solamente en San Martín de Hidalgo se encontró un alelo raro para un locus (Ver anexo 6). Cada población presenta un déficit significativo de heterocigotos (F_{is}) y el índice F_{st} indica una estructuración geográfica significativa entre estas poblaciones. El test de significancia utilizado para el F_{st} es un test de permutaciones que no asume un equilibrio de H-W en cada población. Esto permite establecer mejor que existe una estructuración geográfica.

Tabla 13: Índices de variabilidad en la localidad de San Bartolo de Coyotepec infestada por *T. barberi*

Locus	N	Alelos	Frecuencias alelicas	Ho	He	Fis
<i>Dia</i>	21	1	0.952	0.000	0.093	1.00
		2	0.048			
<i>Mdh1</i>	19	1	0.158	0.000	0.273	1.00
		2	0.842			
<i>Mdh2</i>	20	1	0.900	0.000	0.185	1.00
		2	0.100			
Total				0.000	0.033	1.00
Todos los loci						
<u>A</u>	<u>1.17</u>					
<u>P (0.95)</u>	<u>0.12</u>					
<u>P (0.99)</u>	<u>0.18</u>					
<u>p</u>	<u>10⁻⁴</u>					

P = polimorfismo; A = promedio de alelos por locus; p = significancia del índice Fis calculado para el muestreo total

Ho = Heterocigocidad observada

He = Heterocigocidad esperada

Figura 5: Análisis AFC de las poblaciones de *T. dimidiata* de Oaxaca y San Luis Potosí

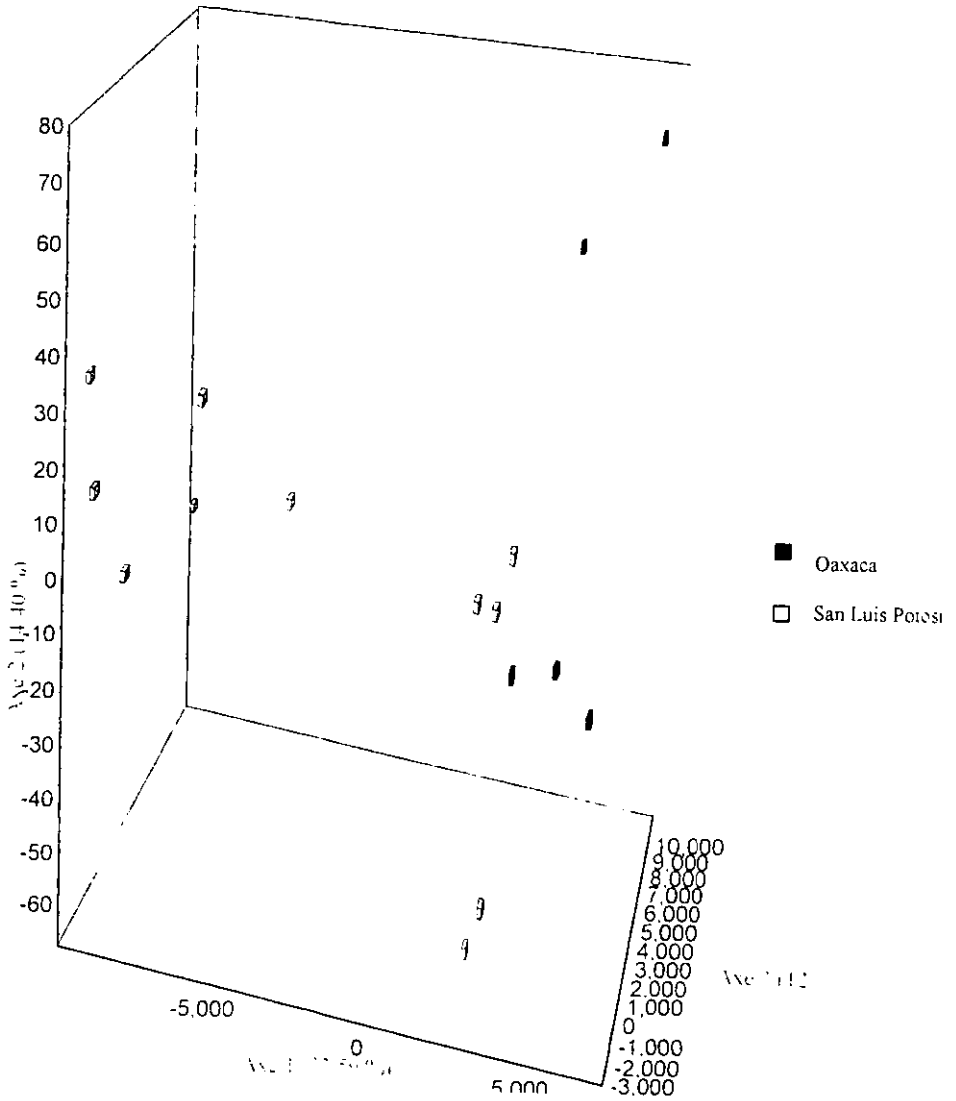


Tabla 14: Índices de variabilidad de 4 poblaciones geográficas de *T. longipennis* para el total de los loci

	Carrillo Puerto	Cuxpala	San Martín de Hidalgo	Tepehuaje
<i>P</i> (0.95)	0.29	0.353	0.35	0.18
<i>P</i> (0.99)	0.29	0.29	0.29	0.29
<i>A</i>	1.29	1.41	1.41	1.23
<i>H_o</i>	0.010	0.010	0.021	0.017
<i>H_e</i>	0.918	0.150	0.079	0.063
<i>F_{is}</i>	0.902	0.942	0.743	0.751
<i>p</i>	< 10 ⁻⁴	< 10 ⁻⁴	< 10 ⁻⁴	0.16
Total de las poblaciones				
<i>Fit</i>	0.697	<i>p</i> = 0.001		
<i>F_{is}</i>	0.689	<i>p</i> = 0.001		
<i>F_{st}</i>	0.025	<i>p</i> = 0.003		

También se analizaron poblaciones de ninfas de las localidades de Crucero de Santa María y Tepehuaje en el estado de Jalisco. Ninguna de estas ninfas presentaron perfiles específicos de *T. barberi*. Por otra parte en esta área la especie del complejo *T. phyllosoma* colectada es casi exclusivamente *T. longipennis* (solamente un *T. picturata* de 101 insectos del complejo fue colectado). Así, agrupando los insectos adultos y las ninfas definimos 3 subpoblaciones geográficas de *T. longipennis*: Crucero de Santa María (33 individuos), San Martín de Hidalgo (14 individuos) y Tepehuaje (18 individuos). Estas poblaciones tienen una distancia máxima entre ellas de 10 km. La tabla 15 proporciona los índices de variabilidad de las poblaciones. En dos poblaciones se observaron alelos raros pero las tasas de heterocigocidas son similares entre ellas. El análisis de la diferenciación inter poblacional por los índices F_{is} , F_{it} y F_{st} muestra un desequilibrio total significativo (F_{it}) explicado exclusivamente por desequilibrios dentro de las poblaciones (F_{is}) y no por diferenciación inter poblacional.

4. 5. *Triatoma pallidipennis*

El análisis de comparación de frecuencias alélicas de subpoblaciones no fue posible debido a la falta de un muestreo significativo. Sin embargo en el análisis AFC no se muestra diferenciación geográfica entre las poblaciones de los estados de Colima y Morelos (fig. 6).

4. 6. *Triatoma picturata*

La mayoría de los individuos de esta especie fue colectada en la comunidad de Carrillo Puerto en medios silvestre y peridomiciliar. La tabla 16 muestra que el polimorfismo de los insectos capturados en el peridomicilio es superior, posiblemente porque el número de insectos silvestres procesados es pequeño (8). También en cada población se nota un déficit de heterocigotos. Por

Tabla 15: Índices de variabilidad de 3 poblaciones geográficas cercanas de *T. longipennis* para el total de los loci

	Crucero de Santa Maria	San Martin de Hidalgo	Tepehuaje
<i>P</i> (0.95)	0.65	0.35	0.35
<i>P</i> (0.99)	0.71	0.35	0.35
<i>A</i>	2.12	1.41	1.47
<i>H_o</i>	0.049	0.021	0.047
<i>H_{exp}</i>	0.174	0.079	0.107
<i>F_{is}</i>	0.721	0.743	0.567
<i>p</i>	$< 10^{-4}$	$< 10^{-4}$	$< 10^{-4}$
Total de las poblaciones			
<i>F_{is}</i>	0.690	$p = < 10^{-4}$	
<i>F_{it}</i>	0.702	$p = < 10^{-4}$	
<i>F_{st}</i>	0.038	$p = 0.042$	

Figura: 6 Análisis AFC de las poblaciones de *T. pallidipennis* de Colima y Morelos

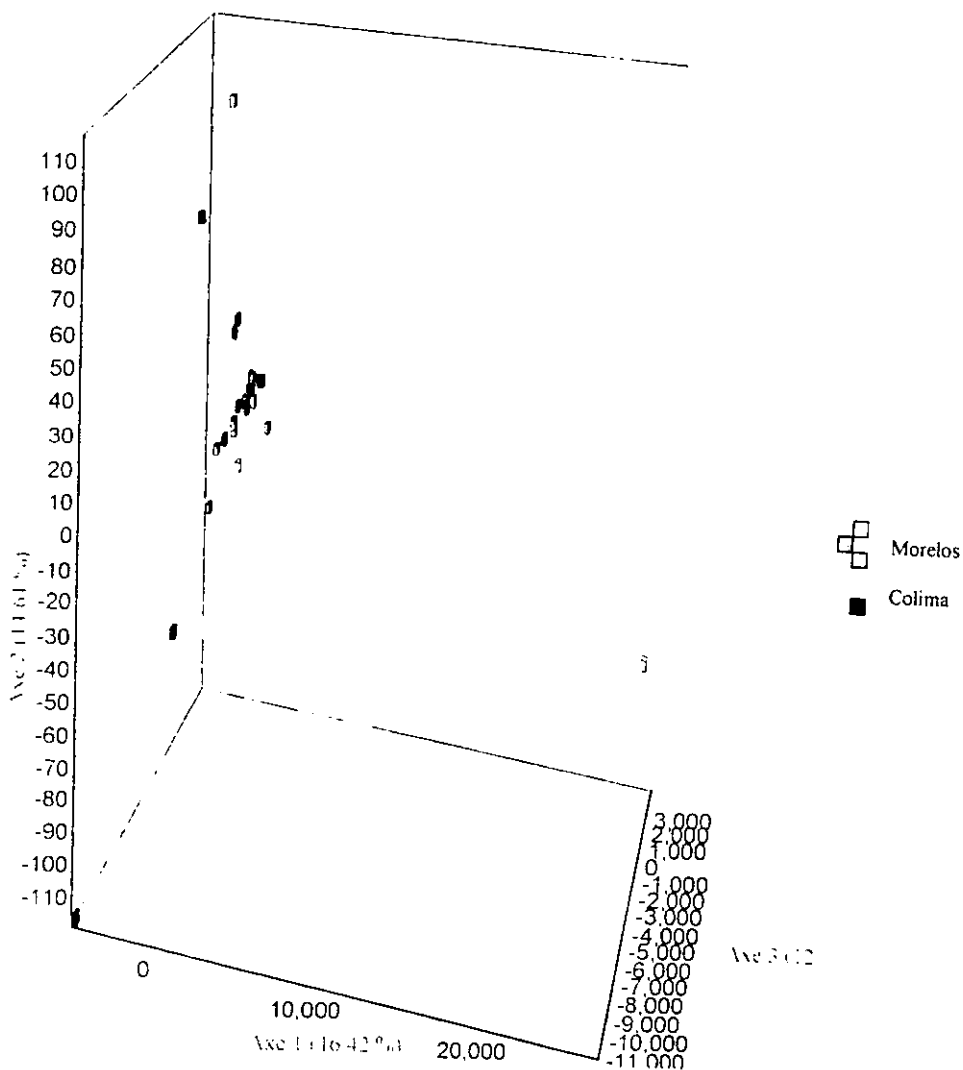


Tabla 16: Índices de variabilidad de 2 poblaciones de *T. picturata*

	Silvestre	Doméstico
<i>P</i> (0.95)	0.235	0.471
<i>P</i> (0.99)	0.235	0.471
<i>A</i>	1.235	1.588
<i>H_o</i>	0.01	0.021
<i>H_e</i>	0.077	0.139
<i>F_{is}</i>	0.884	0.850
<i>p</i>	$< 10^{-4}$	$< 10^{-4}$
Total de las poblaciones		
<i>F_{is}</i>	0.028	$p = 0.001$
<i>F_{it}</i>	0.863	$p = 0.001$
<i>F_{st}</i>	0.003	$p = 0.35$

DISCUSION

I - Perfiles entomológicos de las áreas estudiadas

El estudio entomológico de las áreas seleccionadas, a pesar de ser limitado a algunas comunidades del occidente de México y 2 comunidades del estado de Oaxaca, permite destacar perfiles entomológicos que pueden ser representativos de situaciones epidemiológicas en la República Mexicana. De hecho, las especies encontradas en estas áreas presentan una amplia distribución geográfica.

El primer perfil consiste en la invasión por triatominos exclusivamente de las áreas peridomiciliarias con penetración ocasional al interior de las casas lo que permite un contacto hombre-vector. Esta situación epidemiológica se encontró en Jalisco asociada a densidades y colonización altas por la especie *T. longipennis*. Se observó una situación análoga en Carrillo Puerto (Nay.) con índices menores de infestación por *T. picturata*.

El segundo perfil se caracteriza por la colonización de las áreas domiciliarias y peridomiciliarias por triatominos. Dicho perfil lo encontramos en Zacatecas y Oaxaca por dos especies (*T. longipennis* y *T. barberi*) pertenecientes a dos complejos. Este perfil representa un riesgo mayor de transmisión al hombre.

Para evaluar los riesgos de transmisión de la infección por *T. cruzi* al hombre, los factores de infestación, de densidades de vectores y las tasas de infección de los triatominos juegan un papel importante.

1. Altas tasas de infecciones de los vectores

En todas las áreas estudiadas las tasas de infección son muy altas y comparables entre las especies. Igualmente, otros trabajos en México registran tasas similares en las mismas especies (Magallón *et al.*, 1998) y otras especies como *T. pallidipennis* (Cortes *et al.*, 1996), *T. dimidiata* (Zeledon y Rabinovich, 1981) y *T. phyllosoma* (Gomez *et al.*, 1983). Además estas tasas son comparables a las citadas en *T. infestans*, vector principal y muy eficiente en los países del Cono Sur (Valencia, 1990).

2. Variaciones de los índices de infestación y densidades de vectores

Estos índices son variables según las áreas de colecta, no están necesariamente correlacionados entre ellos y no parecen depender de las especies. En general las densidades de los vectores son bajas dentro de las casas, situación diferente a la de la infestación intradomiciliaria por *T. infestans* (Valencia, 1990). El hábitat es un factor importante para el desarrollo de colonias abundantes dentro de las casas. En efecto, en las zonas de alta endemicidad por *T. infestans* las casas son más propicias a la colonización debido al material tradicional de construcción: paredes de adobe, ausencia de rebocado y techos de pajas. En general, en las zonas estudiadas quedan pocas casas de adobe, las paredes no presentan muchas grietas y los techos generalmente son de cemento. En consecuencia estas características propician un mejor saneamiento de las habitaciones impidiendo posiblemente la colonización frecuente de triatomíneos. Por otra parte, los habitantes tienen la costumbre de usar insecticidas dentro de la habitación para combatir principalmente a los alacranes.

3. Comparaciones de los índices de colonización y densidades

Convencionalmente, un sitio de captura se considera colonizado si se encuentra por lo menos una ninfa. En los estados de Jalisco, Nayarit y Oaxaca observamos índices de colonización muy elevados y comparables aunque 3

especies se encuentran en estas zonas (*T. barberi* en Oaxaca y dos del complejo *T. phyllosoma* en Jalisco y Nayarit). Pero en Oaxaca la densidad de triatominos es mucho más baja. Este resultado puede ser debido a diferencias de capacidad reproductiva inter especie, en efecto *T. barberi* tiene una tasa de oviposición menor a otras especies de triatominos (Zeledon y Rabinovich, 1983; Zárate, 1983). Además se menciona que *T. barberi* presenta una longevidad mas reducida que otras especies (Zárate, 1983). Notamos también que la proporción de ninfas de *T. barberi* es menor que las de *T. longipennis* y *T. picturata* en Jalisco y Nayarit.

En Zacatecas el índice de colonización es más bajo y se encuentran pequeñas colonias de *T. longipennis*. En estas pequeñas colonias todos los estadios ninfales están presentes, pero la proporción de adultos es mas elevada. El conjunto de estas observaciones se puede interpretar como un proceso actual de colonización de las áreas intradomiciliarias y peridomiciliarias a partir de los focos silvestres. Cabe resaltar que sin búsqueda activa se encontró a proximidad de la comunidad un ejemplar silvestre de *T. longipennis* y la gente observa frecuentemente de noche la llegada de insectos atraídos por la luz. Esta situación es diferente a Jalisco donde *T. longipennis* esta bien establecido en el peridomicilio. Estas diferencias podrían deberse a la existencia de especies gemelas en Jalisco y Zacatecas con biología diferente. Sin embargo, los resultados del análisis isoenzimático no apoyan esta hipótesis.

4. Comparación de las dos poblaciones de Oaxaca

En el municipio de San Bartolo de Coyotepec encontramos infestación tanto en el área intradomiciliar como peridomiciliar pero en esta última área la densidad y la infestación es más alta. En este municipio las viviendas son firmes, cuentan con paredes repelladas y con ganadería cerca a los domicilios.

En el pueblo de Jalapa del Valle, se encontraron triatominos exclusivamente intradomiciliados sobre paredes de adobes. En esta comunidad no hay ganaderia, varias casas son de lodo y adobe sin repellido. En la segunda colecta (un año después) no se encontró ningún triatolino, pero la mayor parte de las casas de adobe dañadas por el terremoto fueron reconstruidas.

Por lo tanto el tipo de hábitat es un factor muy importante para la colonización por *T. barberi* así como, la presencia de animales domésticos favorece su instalación en el peridomicilio.

II - Estudio isoenzimático

No existen datos de análisis genético comparativo de especies de triatominos en México. Pero, varios grupos en América Latina han desarrollado el análisis isoenzimático en otras especies y complejos de especies y mostraron la importancia taxonómica de este tipo de análisis. El análisis isoenzimático realizado en el presente trabajo abarco 12 sistemas que corresponden al estudio de 17 loci. Se analizaron 5 especies: *T. barberi*, *T. dimidiata*, *T. longipennis*, *T. pallidipennis* y *T. picturata* vectores importantes en México debido a su extensa distribución y presencia en las comunidades humanas.

1. Variabilidad

El rango de polimorfismo [P (0.95)] de las 5 especies estudiadas fué de 0.18 para *T. barberi* a 0.53 para *T. longipennis*. Estas tasas son superiores a las de *T. infestans*, especie poco polimórfica. El polimorfismo de *T. barberi* es comparable a especies del genero *Rhodnius* (Harry *et al.*, 1992) y a varias especies del genero *Triatoma* (Dujardin *et al.*, 1985; Brenière *et al.*, 1998; García *et al.*, 1995). Las otras 4 especies presentan un polimorfismo más elevado que los citados anteriormente en otros triatominos. La extensa distribución geográfica y la

diversidad de los ciclos (silvestres y domésticos) pueden explicar este alto polimorfismo.

2. Loci diagnósticos

Triatoma barberi pertenece al complejo *T. protracta* mientras *T. longipennis*, *T. picturata* y *T. pallidipennis* pertenecen al complejo *T. phyllosoma* traduciendo diferencias taxonómicas importantes. Lent y Wygotzinsky (1979) señala similitudes morfológicas entre *T. dimidiata* y las especies del complejo *T. phyllosoma* y Dujardin *et al.* (1999), propusieron la introducción de *T. dimidiata* en el complejo *T. phyllosoma*. En este estudio detectamos por lo menos 8 loci diagnósticos entre *T. barberi* y las otras especies. Este resultado muestra que *T. barberi* es una especie genéticamente muy diferente de las demás. Al contrario la ausencia de loci diagnósticos entre las 3 especies del complejo *T. phyllosoma* muestra similitudes genéticas muy importantes entre estas especies y justifica plenamente su agrupamiento en un mismo complejo. *Triatoma dimidiata* presenta dos loci diagnósticos con las especies del complejo *T. phyllosoma* lo que apoya su mayor relación genética al complejo. Las ninfas del complejo *T. phyllosoma* y de *T. dimidiata* son morfológicamente indistinguibles y los loci diagnósticos podrían ser utilizado para distinguirlos si el análisis suplementario de otras poblaciones confirma nuestro resultado.

3. Alelos diagnósticos

Dentro de las especies del complejo *T. phyllosoma* fue posible identificar alelos presentes en una especie y ausente en otra, pero las frecuencias de estos alelos son bajas en estas especies.

4. Distancias genéticas y filogenia

Las distancias genéticas se calculan entre dos taxones para medir diferencias evolutivas. La distancia de Nei evalúa el número medio de codones diferentes por gen entre dos taxones y esta directamente relacionada al tiempo evolutivo que los separan. En el presente trabajo medimos distancias entre

especies para evaluar sus parentescos. Generalmente entre poblaciones pertenecientes a una misma especie las distancias genéticas son muy reducidas. No existe un rango determinado de valores de distancias que pueda asegurar que las poblaciones pertenecen a una misma especie. Entre las especies del complejo *T. phyllosoma* las distancias son muy similares y < 0.005 . Son distancias similares a las observadas entre poblaciones geográficas de *T. infestans* (Harry *et al.*, 1992). Este resultados pone en evidencia la alta similitud genética entre estas especies. Se pueden proponer dos hipótesis: 1) las especies se separaron recientemente una de las otras o de un ancestro común y diferencias morfológicas se fijaron rápidamente (Lent y Wygodzinsky, 1979), 2) persiste en la naturaleza un pequeño flujo genético que minimiza las distancias entre las especies. Cabe destacar que ciertos autores mencionan la interfecundidad en el laboratorio de especies del complejo *T. phyllosoma* (Zárate y Zárate, 1985; Lent y Wigonzinsky, 1979) lo que confirma la similitud genética entre estas especies. La distancia genética de *T. dimidiata* a las demás especies del complejo es de 0.36 y es \geq a las observadas entre otras especies de triatominos (Costa *et al.*, 1997; García *et al.*, 1995). Esta distancia no apoya la propuesta de incluir esta especie en el complejo *T. phyllosoma*. Las distancias de *T. barberi* con las especies del complejo son > 2.0 , distancia de Nei muy elevada superior a la observada anteriormente entre dos géneros *Rhodnius* y *Triatoma* (García *et al.*, 1995; Harry *et al.*, 1992). El árbol evolutivo ilustra las relaciones genéticas entre las especies confirmando las observaciones anteriormente hechas a partir del análisis de las distancias genéticas.

5. Variabilidad intrapoblaciones e interpoblaciones

El análisis intrapoblacional por el cálculo del índice Fis permite determinar si existe un equilibrio de H-W a dentro de cada población formada arbitrariamente por individuos capturados en una misma localidad.

5. 1. *Triatoma barberi*

Solamente una población de *T. barberi* pudo ser analizada (San Bartolo de Coyotepec). El polimorfismo es más reducido que en la población total; la diversificación del origen geográfico aumenta el polimorfismo. No se observaron ningún heterocigoto y observamos un déficit significativo de heterocigotos. El origen de este déficit puede ser explicado de diferentes maneras sin que podamos presumir la validez de una de ellas:

- Presencia de especies crípticas.
- La unidad panmíctica es más reducida que una comunidad lo que implica escasas migraciones interdomicilio.
- Emigraciones o inmigraciones de individuos al exterior de la comunidad.
- Uso de insecticida que provoca reducciones de las poblaciones en diferentes sitios de la comunidad (cuello de botella) provocando diferencias alélicas entre los sitios cuando cada población vuelve a desarrollarse.

5. 2. *Triatoma longipennis*

Varias poblaciones de diferentes comunidades fueron analizadas. Los índices de F_{is} , F_{it} y F_{st} obtenidos para 4 poblaciones de 3 estados diferentes son significativos. El desequilibrio total (F_{it}) se explica tanto por déficit de heterocigotos intra poblacional ($F_{is} > 0$) como diferenciación genética interpoblacional (F_{st}). Los déficit intra poblacionales pueden ser explicados por las diferentes hipótesis previamente descritas. Además la diferenciación interpoblacional no es sorprendente siendo estas poblaciones muy alejadas una de las otras. Al contrario, no hubo diferenciación geográfica entre 3 poblaciones (F_{st} en el límite de significancia) con distancias menores de 10 km.

5. 3. *Triatoma picturata*

Dos poblaciones de *T. picturata* fueron capturadas en la comunidad de Carrillo Puerto (población doméstica) y en la proximidad de esta comunidad (triatominos silvestres). El desequilibrio en la población total (doméstica + silvestre) se explica por déficit de heterocigotos dentro de las poblaciones (F_{is} significativo) y no por diferenciación genética entre las dos poblaciones (F_{st} no significativo, $p = 0.37$). Este resultado favorece la hipótesis de un estrecho contacto entre los insectos de las áreas peridomiciliarias de la comunidad con los focos silvestres. El conocimiento de los ciclos silvestres es sumamente importante para poner medidas adecuadas de vigilancia epidemiológica después del control vectorial de comunidades para evitar reinvasiones y desarrollo de grandes colonias a partir de poblaciones silvestres.

CONCLUSIONES

Describimos en la primera parte del estudio varias comunidades rurales donde la invasión peridomiliar por triatomíneos es muy elevada. Esto representa sin duda un riesgo de transmisión de la enfermedad de Chagas en estas poblaciones. Además estuvieron involucradas varias especies de vectores que presentaron altas tasas de infección (*T. barberi*, *T. longipennis*, *T. picturata*). En base a los datos se propusieron modelos de transmisión que podrían corresponder a varios contextos epidemiológicos en México.

El análisis isoenzimático de 5 especies principales de vectores en México (*T. barberi*, *T. dimidiata*, *T. longipennis*, *T. pallidipennis*, *T. picturata*), apoya la clasificación taxonómica actual de estas especies. Se presentó un primer árbol evolutivo y se identificaron varios loci diagnósticos de especies. Solo las tres especies estudiadas del complejo *T. phyllosoma* no se diferenciaron (distancias genéticas de Nei < 0.005), lo que hace suponer un grupo monofilético (mismo ancestro común). Estas especies se separaron probablemente hace muy poco tiempo. La especie *T. dimidiata* se diferenció de ellas y los resultados no favorecen su agrupación en el complejo como ha sido propuesto por algunos autores.

Observamos en *T. longipennis* una estructuración geográfica, cuando las poblaciones están alejadas unas de las otras. Esta diferenciación geográfica podría corresponder al modelo de aislamiento por distancias geográficas como se ha propuesto para poblaciones de *T. infestans*.

El análisis de poblaciones de ciclo silvestre y doméstico de *T. picturata* colectadas en el Estado de Nayarit permite proponer que existen importantes contactos entre los dos ciclos. También se encontraron dos especies silvestres en la misma proporción (*T. longipennis* y *T. picturata*), pero el análisis isoenzimático no detectó una diferenciación genética entre ellas.

ANEXOS

Anexo 1: Nombre y código de los sistemas enzimáticos

Nombre	Enzima (abreviación)	Código
Diaforasa	<i>DIA</i>	E.C.1.6.-.-.
Aspartato amino transferasa	GOT	E.C.2.6.1.1.
Glucosa fosfato dehidrogenasa	G6PD	E.C.1.1.1.49.
Glucosa fosfato isomerasa	GPI	E.C.5.31.9.
Isocitrato dehidrogenasa	IDH	E.C.1.1.1.42.
Leucina amino peptidasa	LAP	E.C.3.4.11. o 13.
Malato dehidrogenasa	MDH	E.C.1.1.1.37.
Enzima málica	ME	E.C.1.1.1.40.
Peptidasa	PEP1	E.C.3.4.11.11.
Peptidasa	PEP2	E.C.3.4.11.13.
6-Fosfo gluconato dehidrogenasa	6PGD	E.C.1.1.1.44.
Fosfo gluco mutasa	PGM	E.C.2.7.5.1.

Anexo 2: Soluciones amortiguadoras

Solución estabilizadora de enzimas

Ditriotreitol 2 mM

Acido aminocaprionico 2 mM

EDTA 2 mM

Hacer alicuotas de 1 ml y conservar a 0°C

HR

Helena ref. 5805 seguir las instrucciones, el pH 9.0 es espontáneo

III Shaw

0.5 M Trizma base

0.65 ácido bórico

0.016 M EDTA

Ajustar a pH 8.0 con HCl, se aclara la solución llegando al pH.

I SHAW

Trizma base 0.135 M

Acido cítrico monohidratado 0.043 M

Ajustar pH 7.0 con HCl

III KREUTZER

Trizma base 0.1 M

Acido maléico 0.1 M

MgCl₂ 0.01 M

Ajustar el pH 7.4 con HCl

Anexo 3: Preparación de soluciones de revelado en agarosa

Productos para pesar

Productos	Lugar de almacenamiento	Sistemas enzimáticos											
		MDH	ME	PEP1	PEP1 + PEP2	6PGD	PGM	DIA	GOT	G6PD	GPI	IDH	LAP
Nad	Congelación	10 mg								5 mg	5 mg	5 mg	
Nadp+	Congelación		5 mg			5 mg	5 mg	5 mg					
α-ketoglutaric acid	Refrigeración								25 mg				
L-aspartic acid	T° ambiente								30 mg				
Pyridoxal-5-phosphate	Congelación								5 mg				
Fast blue BB	Congelación								30 mg				
Glucose-6-phosphate	Congelación									10 mg			
Fructose-6-phosphate	Congelación										10 mg		
DL-isocitric acid	T° ambiente											10 mg	
L-leucine b naphthylamide	Congelación												15 mg
Fast black k salt	T° ambiente												20 mg
L-leucyl-leucine-leucine	Congelación			5 mg	5 mg								
L-leucyl-L-alanine	Refrigeración				5 mg								
L-amino-9-carbazole	Congelación			2 mg	2 mg								
Peroxidasa	Congelación			Punta de espátula	Punta de espátula								
3-amino-9 carbazole	Refrigeración			10 mg	10 mg*								
EDTA	T° ambiente												
Yodo-nitro-tetrazolum (INT)	Refrigeración												
6-phospho gluconic acid	Congelación					10 mg							
Glucose 1,6-phosphate	Congelación						20 mg						

* Diluir en 400 µl de etanol puro y agitar en vortex por 15 minutos

Anexo 4: Preparación de soluciones de revelado en agarosa

Productos líquidos para placas de revelación

Sistemas enzimáticos

Líquidos	MDH	ME	PEP1	PEP1 + PEP2	6PGD	PGM	DIA	GOT	G6PD	GPI	IDH	LAP
H2O	9 ml	7 ml	9 ml	9 ml	7.5 ml	7.5 ml	9ml	9ml	5ml	7.5 ml	9 ml	
MgCl2 6H2O 1M		250 ml	150 µl	150 µl	250 µl	250 µl	250 µl		250 µl	250 ml	250 µl	
NaCl 0.1M			150 µl	150 µl								
Tris-HCl 1 M, pH 8	1 ml		1 ml	1 ml	2.5 ml	2.5 ml	1 ml	1 ml				1ml
Tris-HCl 1 M, pH 7		2.5 ml							5ml	2.5 ml		
Tris 0.2 M, maleic acid 0.2 M, pH 6												10 ml
Malic acid 1M pH 7 se congela dosis	0.9 ml	0.6 ml										
Glucose-6-phosphate isomerase						8 U/l				2.5 U/l		
NBT 10 mg/ml *	500 µl	500 µl			500 µl	500 µl	500 µl		500 µl	500 ml	500 µl	
PMS 10 mg/ml *	300 µl	300 µl			300 µl	300 µl			300 µl	300 ml	300 µl	

*Conservar en refrigeración y oscuridad

Anexo 5: Condiciones electroforéticas

	Tampón	Dilución del tampón de migración	Dilución del tampón de Imbibición	Voltaje (v)	Tiempo Min.	Origen de migración	No. de placas por cámara de electroforesis
DIA	III SHAW	1	0.8	200	20 - 30'	Catódica	1
GOT	III SHAW	1	0.5	160	30'	Central	1
G6PDH	HR	1	0.5	200	30'	Catódica	1
6PGD	I SHAW	0.8	0.2	200	30'	Catódica	1
GPI	I SHAW	1	0.2	200	15'	Catódica	1
IDH	III SHAW	1	0.3	200	30'	Catódica	1
LAP	I SHAW	1	0.5	200	20'	Catódica	1
MDH	I SHAW	1	0.5	200	15'	Central	1
ME	I SHAW	1	0.2	200	20'	Catódica	1
PGM	III KREUTZER	0.5	0.2	200	25'	Catódica	1
PEP1	HR	1	0.5	200	20'	Catódica	2
PEP2	HR	1	0.5	200	20'	Catódica	2

Para los amortiguadores ver anexo 2

Anexo 6: Genotipos observados en cada comunidad y especie

	<i>T. barberti</i>				<i>T. dimidiata</i>				<i>T. longipennis</i>						<i>T. pallidipennis</i>			<i>T. picturata</i>			<i>C. Phyllosoma</i>									
	G	Jva	Sba	Tep	Total	Oax	Slp	Total	CP	CSM	Ips	Cux	Pal	SMH	Tep	Total	Mor	Col	Total	CP	Pla	Tep	Total	CSM	Tep	Total				
6pgdh																														
1/1	5	25	2	32																										
2/2									1						1				1			1		1						
3/3						7	7	5	1	1	4	2	10	1	24	15	7	22	19	2	1	22	22	6	28					
3/4																							4	5	9					
4/4						4	6	10			1				1								1							
Dia																														
1/1	3	20	2	25																										
2/2		1		1							1				1											1	1			
2/3					5	8	13	1	1	1	1		4	2	10	2	2	4	5			5	12	2	14					
3/3								5	1		4	2	10	5	27	20	6	26	20	2	1	23	18	8	26					
4/4																							1							
G6pd																														
1/1			1	1		5																								
2/2					3	6		6	1	1	3	2	11	4	28	10	5	15	14			14	23	10	33					
2/4													1		1															
2/5																1		1												
3/3	17	1		18							1		2		3	1		1	5			5	1	1	2					
4/4														1	1				1	1	1	2	1	1	1					
5/5														1	1	1	1	2	2	1		3	1		1					
Got																														
1/1						4	4																							
2/2					4	3	7	6	2	1	5	2	13	5	34	14	7	21	19	2	1	22	30	10	40					
3/3	1	7		8																										
Gpi																														
1/1	5	23	2	30																										
2/2					4	13	17	4	2	1	5	2	14	7	35	20	8	28	21	2	1	24	31	11	42					
Idh₁																														
1/1	5	25	2	32																										
2/2						7		5	2	1	3		14	7	32	19	8	27	23	2	1	26	20	9	29					
3/3											1	2			3								3		3					
4/4						4	6																							
Idh₂																														
1/1					4	13	17	5	2	1	5	2	14	7	36	22	8	30	24	2	1	27	22	11	33					
2/2	5	24	2	31																			3		3					
Lap																														
1/1													1		1		1		1											
2/2								6	2	1	6	2	13	7	37	21	8	29	25	2	1	28	29	11	40					
3/3	5	21	2	28	5	12	17															2			2					
Mdh₁																														
1/1		3		3	4	13	17	6	1	1	6	2	11	2	29	21	8	29	25	2	1	28	30	12	42					
2/2	1	16	2	19																										
Mdh₂																														
1/1	1	18	2	21																				1	4	5				
2/2	1	2		3	3	9	11	6	1		7	2	11	2	29	20	8	28	25	2	1	28	25	7	32					
Me₁																														
1/1					2		2																							
2/2	2	19	2	23	2	12	14																	2	1	3				
3/3								5	2	1	5	1	14	3	31	18	8	26	18	2	1	21	19	10	29					
4/4								1			1	1			3	1		1	6			6	4		4					

	<i>T. barberi</i>				<i>T. dimidiata</i>				<i>T. longipennis</i>					<i>T. pallidipennis</i>			<i>T. picturata</i>			<i>C. Phyllosoma</i>							
	G	Jva	Sba	Tep	Total	Oax	Slp	Total	CP	CSM	Ipa	Cux	Pal	SMH	Tep	Total	Mor	Col	Total	CP	Pla	Tep	Total	CSM	Tep	Total	
Me₂																											
1/1						3	10	13	6	2	1	5	2	14	7	37	17	8	25	25	2	1	28	21	10	31	
1/2																							2		2		
2/2	1	19	2	22																			3		3		
Pep₁																											
1/1		20	2	22	4	3	7	1			4		2		7	4		4	3				3				
2/2						7	7	5	2	1		2	12	7	29	13	6	9	19	2	1	22	26	12	38		
Pep₂																											
1/1						4	9	13	6	2	1	6	2	14	7	38	18	7	25	25	2	1	28	27	11	38	
2/2	4	19	2	25																							
Pep₃																											
1/1													1		1								19	3	22		
2/2		6	2	8				3	2	1	3	2	13	5	29	11	6	17	14	2	1	17					
2/3																1		1	2			2					
3/3											1				1				2			2					
4/4											1				1												
Pgm₁																											
1/1	5	23	2	30	1	13	14											1	1								
2/2						1	1	4	2	1	5	1	14	7	34	18	7	25	18	2	1	21	24	11	35		
3/3								2				1			3	1		1	5		5	3		3			
Pgm₂																											
1/1						4	5	9																			
2/2													2	1	3	1						1	5	1	6		
2/3																						7	3	10			
2/4																1		1		1	3						
3/3						1	1	6	2	1	7	2	12	6	36	18	8		24	2		34	15	7	22		
3/4																1						1					
4/4	5	24	2	31																							

Col = Colima
 CP = Carrillo Puerto (Nay.)
 CSM = Crucero de San Martin (Jal.)
 Cux = Cuxpala (Zac.)
 Mor = Morelos (Estado)
 Ipa = Ipazotlic (Jal.)
 Jva = Jalapa del Valle (Oax.)
 Oax = Oaxaca (Estado)
 Pla = Platanitos (Nay.)
 Sba = San Bartolo de Coyotepec
 Slp = San Luis Potosi (Estado)
 SMH = San Martin de Hidalgo (Jal.)
 Tep = Tepehuaje (Jal.)

Triatoma dimidiata (Latreille, 1811)

	longitud	Ancho del pronotum	Ancho del abdomen
Macho	24.5 – 32.0 mm	5.5 - 7.0 mm	9.0 - 12.0 mm
Hembra	24.5 – 35.0 mm	6.5 – 9.0 mm	9.5 – 13.0 mm

Cabeza y tórax glabros dorsalmente; primer segmento de las antenas pocas veces alcanzando el nivel del ápice del clipeo. Segmento del conexivo dorsal y ventralmente con manchas de amarillo-anaranjado ocupando más del tercio posterior de cada segmento; clavo negro en su base, amarillo en la parte apical. Corion amarillo anaranjado, con manchas apicales y central oscura, la última de tamaño variable. Fosetas esponjosas presentes sobre las tibias anteriores y medianas solamente en el macho. Abdomen convexo, estriado transversalmente con pilosidades cortas.

Triatoma longipennis Usinger, 1939

	longitud	Ancho del pronoto	Ancho del abdomen
Macho	29.0 – 34.0 mm	6.5 - 7.0 mm	12.0 - 13.5 mm
Hembra	30.0 – 37.0 mm	6.5 – 8.0 mm	13.0 – 15.0 mm

Cabeza negra granulosa. Pronoto café oscuro o negro con lóbulo posterior totalmente negro y con setas cortas decumbentes. Segmento del conexivo dorsal negro con manchas amarillo - anaranjada en el tercio o en la mitad postero, que se extiende hasta la sutura conexival.

Corio con cerdas cortas acostadas.

Mesosterno con pelos suberectos largos.

Metasterno y vientre con pelos semejantes o con pelos cortos y acostados.

***Triatoma pallidipennis* (Stal, 1872)**

	Longitud	Ancho del pronoto	Ancho del abdomen
Macho	31.0 – 34.0 mm	6.0 - 7.0 mm	12.0 – 13.0 mm
Hembra	32.0 – 35.0 mm	6.0 – 7.5 mm	13.0 – 16.0 mm

Cabeza negra, no granulosa y con numerosas setas negras.

Primer segmento antenal alcanzando o sobrepasando el nivel del ápice del clipeo.

Primer segmento del rostro mas largo que el tercero. cuerpo y corion de los hemiólitros con cerdas numerosas y bien perceptibles dorsalmente.

Corion de los hemiólitros en su mayor parte de color blanco-amarillento, con estrecha faja color naranja en su base y negro en el ápice.

Patas con áreas claras y oscuras nítidas.

***Triatoma picturata* Usinger, 1944**

	Longitud	Ancho del pronotum	Ancho del abdomen
Macho	30.5 – 32.0 mm	6.5 - 7.0 mm	12.0 – 14.0 mm
Hembra	32.0 – 33.0 mm	7.0 – 7.5 mm	12.0 – 15.0 mm

Cabeza oscura, rugosa en su parte dorsal y central.

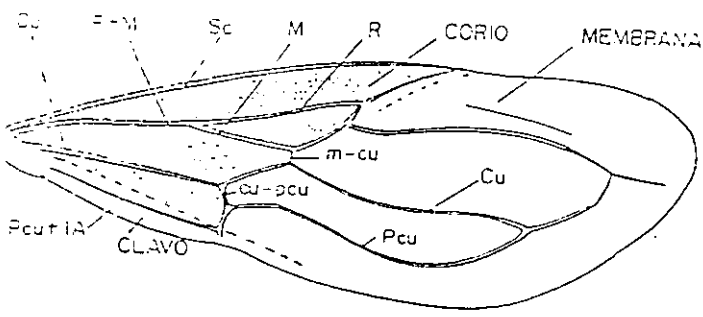
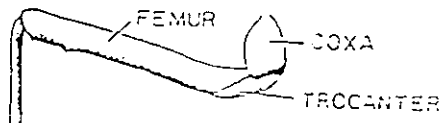
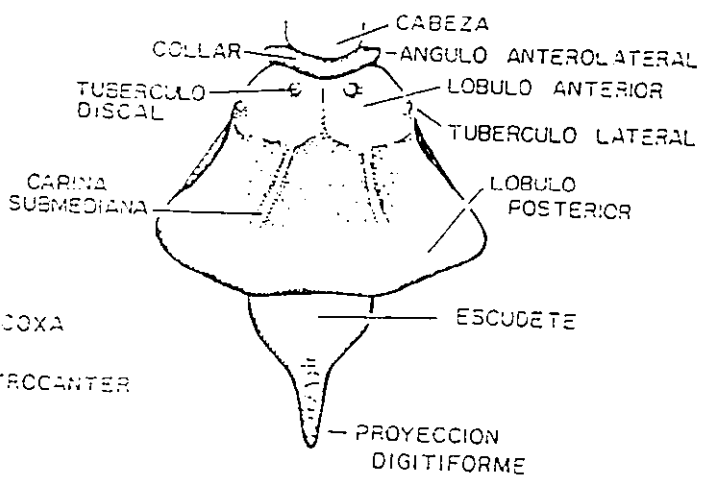
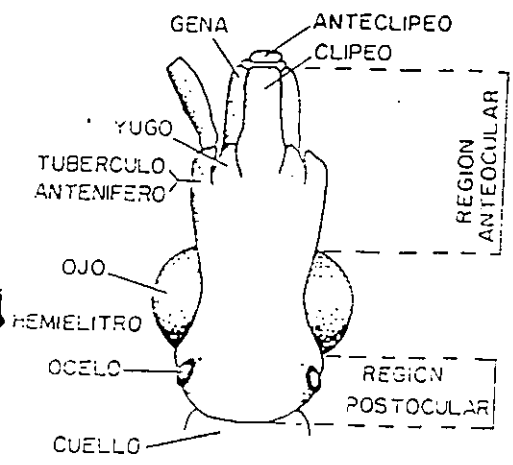
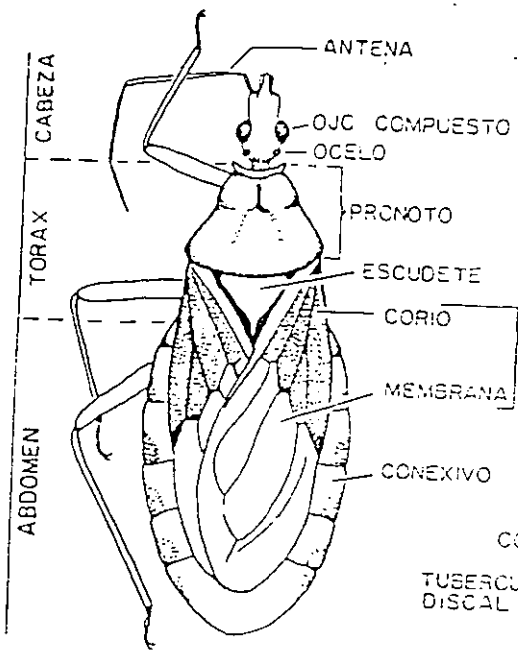
Genas alcanzado o sobrepasando el nivel del ápice del clipeo

Lóbulo posterior del pronoto con extensas áreas de color amarillo – anaranjado

Los segmentos del conxivo dorsal de color amarillo – anaranjado y con mancha negra ántero–lateral

Segmentos del conxivo dorsal negros y con manchas amarillo – anaranjadas.

Mesosterno, metasterno y vientre del abdomen siempre con pelos subrectos largos.



GLOSARIO

- Alópatrico.** Poblaciones, especies o grupos taxonómicos que ocupan áreas geográficas.
- Complejo.** En taxonomía, término que se utiliza para cada grupo o reunión de taxones relacionados; con frecuencia se emplea cuando la separación verdadera o el estado de las unidades individuales es incierto, como en los complejos de especies.
- Cutícula.** Capa no celular que recubre a un animal
- Dendrograma.** Diagrama de ramas en forma de un árbol que se utiliza para representar grados de relación o semejanza.
- Heterocigoto.** Que posee alelos idénticos en una posición determinada de un par de cromosomas.
- Homócigoto.** Que posee alelos idénticos en una posición determinada de un par de cromosomas.
- Labium.** Una de las partes de la boca, estructura debajo del labio.
- Ninfa.** Estado juvenil de los insectos, se parece al adulto en el tipo de piezas bucales y en la presencia de ojos compuestos.
- Ocelo.** Receptor luminoso simple de muchos invertebrados.
- Panmictico.** Perteneciente a una población de cruzamiento aleatorio. Apareamiento aleatorio no restringido; intercambio libre de genes dentro de una población de cruzamiento.

Politípico. Referente a un taxón que comprende mas de dos taxones principales subordinados o a una familia o género que comprende dos o mas géneros o especies respectivamente.

Rostrum. Protuberancia bucal, estructura de succión. Proboscis.

Simpátrico. Referente a poblaciones especies o taxones que aparecen en la misma área geográfica.

Sinantrópico. Que vive en la vecindad de las habitaciones humanas.

BIBLIOGRAFIA

- Alejandro R., Noguea B., Cortés M., Jumberg J., Galvao C. and Carcavallo 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(3) : 353 - 359
- Bautista L. (1993) Tesis de Maestría. Estudio de transmisores de *Trypanosoma cruzi* en el Estado de Morelos. Facultad de Ciencias, División de Estudios de Posgrado.
- Breniere F., Bosseno F., Vargas F., Yaksic N., Noireau F., Noel S., Dujardin J.P. and Tibayrenc M. (1998) Smallness of the Panmictic unit of *Triatoma infestans* (Hemiptera:Reduviidae). *Journal Medical Entomology*, 35(6) : 911 - 917
- Bosseno F. y Brenière F. (1998) Aislamiento, cultivo y caracterización isoenzimática de *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania*. Guía teórica y práctica. ORSTOM La Paz, Bolivia. pp 16
- Burmeister, H. 1835 handbuch de entomologie vol. 2 Part 1. Berlin 404 p
- Casini C., Dujardin, J., Martínez, M., Pereira, A. and Salvatella, R. (1995) Morphometric differentiation evidenced between two geographic populations of *Triatoma infestans* in Uruguay. *Research and Reviews in Parasitology*, 55 : 25 - 30
- Cassab J., Noireau F. y Guillén G. (1999) Chagas, la enfermedad en Bolivia. Pp 259 Ed. Gráficas. La Paz, Bolivia.
- Cortés M., Noguea B., Alejandro R., Isita L. & Ramírez E. (1996) Frequency of Triatomines infected with *Trypanosoma cruzi* collected in Cuernavaca city, Morelos, México. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 38 : 115 - 119
- Costa J., Fritas M., Marchon V., Pires M. and Pacheco R. (1997) Isoenzymes detect variation in populations of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: reduviidae: Triatominae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92(4) : 459 - 464

- De Haro A., Tay J. y Salazar P.M. (1999) Importancia de *Triatoma barberi* Usinger (Hemiptera:Reduviidae) como Transmisor de *Trypanosoma cruzi* en el Altiplano de México. *Memorias del XIV Congreso Latinoamericano de Parasitología*
- Dorante de Isola E. and González E. (1994) Vectores Transmisores: Triatominos "vinchucas". En Enfermedad de Chagas de Storino y Milei Mosby. Doyma Argentina. pp 41 - 50
- Dujardin J., Bermudez H. And Schofield C. (1997) The use of morphometrics in entomological surveillance of sylvatic foci of *Triatoma infestans* in Bolivia. *Acta Tropica* **66** : 145 – 153
- Dujardin J., Cardozo L. and Schofield C. (1996) Genetic analysis of *Triatoma infestans* following insecticidal control interventions in central Bolivia. *Acta Tropica*, **61** : 263 – 266
- Dujardin J., Schofield J. and Panzera F. (1999) Recherches sur les vecteurs de la maladie de Chagas. *Academie Royale des Sciences d'outre mer (ARSOM)*, Paris, in press.
- Dujardin J. Schofield C. and Tibayrenc M. (1995) Population structure of Andean *Triatoma infestans*: allozyme frequencies and their epidemiological relevance. *Medical and Veterinary Entomology* **22** : 101- 110
- Dujardin J. and Tibayrenc (1985) Etude de 11 Enzymes et Donnees de Genetique Formelle pour 19 Loci enzymatiques chez *Triatoma infestans* (hemiptera:reduviidae). *Annales de la societe Belge de Medicine Tropicale*, **65** : 271 – 280
- Galvao C., Jurber J., Cunha V. Y Pinto R. (1995) Biologia do *Triatoma nitida* Usinger 1939 em Laboratorio (Hemiptera: Reduviidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, **90(5)** : 657 - 663
- García S. and Zambuja P. (1991) Development and interaction of *Trypanosoma cruzi* within the insect vector. *Parasitology today*, **7(9)** : 240-244
- García A., Soares M. and Blanco A. (1995) Enzyme polymorphism among *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) colonies. *Journal of Medical Entomology*, **32(2)** : 126 –133

ESTEA TESIS NO. 547
DE LA BIBLIOTECA

- García A., Carrasco H., Schofield C., Stothard R., Frame I., Valente S. and Miles M. (1998) Random amplification of polymorphic DNA as a tool for taxonomic studies of Triatomine bugs (Hemiptera: Reduviidae). *Journal of Medical Entomology*, 35(1) : 38 - 45
- Goldsmith R., Zárate J., Zárate L., Morales G., Kagan I., Drickey R. y Jacobson L. (1992). Clinical and epidemiologic studies of Chagas disease in rural communities of Oaxaca, Mexico and eight year followup: II Chila. *Bulletin of PAHO*, 26(1) : 47 – 59.
- Gómez R., Rodríguez L., Mooser O. Y Ramírez J. (1983) “Enfermedad de Chagas en el estado Aguascalientes” aislamiento de una nueva cepa de *Trypanosoma cruzi* en el estado de Aguascalientes (I parte). *Archivos del Instituto de Cardiología México* 53 : 139 -142
- Gorla D., Jurberg J., Catalá S., & Schofield (1993) Systematics of *Triatoma sordida*, *T. guasayana* and *T. patagonica* (Hemiptera, reduviidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 88(3) : 379 - 385
- Guzmán C., García L, Floriani J., Guerrero S., Torres M., Ramírez C. y Velasco O. (1998) Riesgo de Transmisión de *Trypanosoma cruzi* por transfusión de sangre en México. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 4(2) : 94 - 99
- Harry M., Galindez I. and Cariou L. (1992a) Isozyme variability and differentiation between *Rhodnius prolixus*, *R. robustus* and *R. pictipes*, Vectors of Chagas disease in Venezuela. *Medical and Veterinary Entomology*, 6 : 37 – 43
- Harry M., Moreno G. and Goyffon, M. (1992b) Genetic variability of populations in *Rhodnius prolixus* vector of Chagas'disease in Venezuela. *Evolución Biológica*, 6 : 175 -194
- Hernandez E., Ericsson D., Delgadillo J., Paredes P. y Paredes M. (1987) New focus of Chagas disease in Mexico. *Lancet*, 100
- Hiral H., Shono Y., Rojas A. and Tada I. (1991) Constitutive heterochromatin polymorphism of a *Triatoma infestans* strain, a main vector insect of Chagas' disease. *Japan Journal Sanitary Zoology*, 42 : 301 - 303

- Lazzari C., Reiseman C. and Insausti T., (1998) The role of the ocelli in the phototactic behaviour of the haematophagous bug *Triatoma infestans*. *Journal of insect physiology*, **44** : 1159 - 1162
- Lima M., Braga M. and Pinto T.Z. (1998) Life Cycle and Reproductive Patterns of *Triatoma rubrofasciata* (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, **93(4)**: 539 - 542
- Lent H. and Wygodzinsky (1979) Revision of the Triatominae (Hemiptera, reduviidae) and their significance as vector of Chagas'disease. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, **163(3)** : 520 pp
- Magallón E., Magdaleno N., Katthain g., Trujillo F., Lozano F. y Hernández R. (1998) Distribución de los vectores de la enfermedad de Chagas (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), en el estado de Jalisco, México. *Revista de Biomedicina*, **9(3)** : 151 - 157
- Moncayo A. (1992) chagas disease: epidemiology and prospects for interruption of transmission in the Americas. *Rapport Trimestriel Statistique Sanitaire Mondial*, **45** : 276 -279
- Nei M. (1972) Genetic distance between populations. *Am. Nat.* **106** : 283 -292
- Nei M. (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* **89** : 583 - 590
- Nei M. (1987) *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York. 512 pp.
- Noireau F., Gutierrez T., Zegarra M., Flores R., Breniere F., Cardozo L., and Dujardin P.J. (1998) Cryptic speciation in *Triatoma sordida* (Hemiptera: Reduviidae) from the Bolivian Chaco. *Tropical Medicine and International Health*, **3(5)** : 364 - 372
- Noireau F., Zegarra M., Ordoñez J., Gutierrez T. and Dujardin P.J. (1999) Genetic structure of *Triatoma sordida* (Hemiptera: Reduviidae) domestic populations from Bolivia: application on control interventions. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, **94(3)** : 347 - 351
- Panzera F., Alvarez F., Sanchez-Rufas, J., Pérez R., Suja J., Scvortzoff E., Dujardin J., Estamil E. and Salvatella R. (1992) C-heterochromatin

polymorphism in holocentric chromosomes of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Genome*, **35** : 1068 – 1074.

- Panzera F., Perez R., Panzera Y., Alvarez F., Swortzoff E. and Salvatella, R. (1995) Karyotype evolution in holocentric chromosomes of three related species of triatomines (Hemiptera-reduviidae). *Chromosome research*, **3** : 143-150.
- Pereira J., Dujardin J.P., Salvatella R., Tibayrenc M. (1996) Enzymatic variability and phylogenetic relatedness among *Triatoma infestans*, *T. platensis*, *T. delpontei* and *T. rubrovaria*. *Heredity*, **77** : 47 - 54
- Pérez R., Panzera Y., Scafiezzo S., Mazzella M.C., Panzera F., Dujardin J. and Scortzoff E. (1992) Cytogenetics as a tool for triatomine species distinction (hemiptera-Reduviidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, **87** : 353 – 361
- Quintal R. and Polanco G. (1977) Feeding preferences of *Triatoma dimidiata maculipennis* in Yucatán, México. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **26**(1) : 176 -178
- Ramsey J.M., Ordoñez R., Ruiz A.C. Chavez V. Lopez R., Pintor J.R., Gama F. y Carrillo S. (1999) La distribución de Triatominos domésticos y la estratificación de la transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas en Oaxaca. *Memorias de XIV Congreso Latinoamericano de Parasitología*
- Rangel H., Gatica R. and Ramos C. (1998) Detection of antibodies against *Trypanosoma cruzi* in donors from a blood bank in Cuernavaca, Morelos, Mexico. *Archives of Medical Research*, **29** (1) : 79 – 82
- Ryckman, R. E. (1984) The triatominae of North and Central America and the West Indies: a checklist with synonymy (Hemiptera: reduviidae: Triatominae). *Bulletin Society Vector Ecology*, **11** (2) : 209 – 220
- Salazar P. Ma., Tay J., Ruiz L., Harol I., Bucio I., Jiménez J., García Y., Gutiérrez M. (1984) Seropositividad de *Trypanosoma cruzi* en cuatro grupos de poblaciones del estado de Oaxaca. *Salud Publica de México*, **26**(6) :589 - 595
- Schenone H. Y Rojas A. (1989) Algunos datos y observaciones pragmáticas en relación a la epidemiología de la Enfermedad de Chagas. *Boletín Chileno de Parasitología*, **44** : 66 - 86

- Schofield C.J. (1980) An actograph for the study of circadian rhythms of locomotor activity of triatomine bugs. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **70** : 277
- Schofield C.J., Dujardin J.P., Jurberg J., (1995) International workshop on population genetics and control of Triatominae. Santo Domingo de los Colorados, Ecuador. Pp11
- Solano P., Dujardin J., Schofield J., Romana C. & Tibayrenc M. (1996) Isoenzymes as a tool for the identification of *Rhodnius* species (hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Research and Reviews in Parasitology*, **56(1)**: 41 - 47
- Stål C. (1872) Enumeration hemipterorum. Pars. 2 Heteroptera. Svenska Vetensk Akad Hadl **10** : 1 - 159
- Tay J., Salazar P. Ma., Ontiveros A., Jiménez J., Harol I., García Y. and Gutiérrez M. (1986) Epidemiological study of Chagas disease in a town in Oaxaca, Mexico. *Bulletin PAHO*, **20 (4)** : 358 - 365
- Tay J., Shenone H., Sánchez T.J. y Robert L. (1992) Estado actual de los conocimientos sobre la enfermedad de Chagas en la República Mexicana. *Boletín Chileno de Parasitología*, **47** : 43 – 53
- Trujillo F., Lozano F., Gutiérrez M. and Hernández R. (1993) The prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in blood donors in the state of Jalisco, Mexico. *Revista Sociedad Brasileira do Medicina Tropical*, **26(2)** : 89 – 92
- Usinger, R. (1939) Description of new Triatominae with a key to genera (Hemiptera: Reduviidae). University California Public Entomology
- Usinger R. (1941) Notes and descriptions of neotropical Triatominae (Hemiptera:Reduviidae). *Pan-Pacific entomology* **17** : 49 – 57
- Valencia Tellería A. (1990). Investigación epidemiológica nacional de la Enfermedad de Chagas. Ministerio de Previsión Social y Salud Pública, La Paz, 184 pp.
- Velasco C.O., Valdespino J.L., Tapia C.R., Salvatierra B., Guzmán B.C., Magos C., Llausas A., Gutiérrez G., y Sepúlveda J. (1992) Seroepidemiología de la Enfermedad de Chagas en México. *Salud Pública de México* **34** : 186 –196

- Walpole R. y Myers R. (1989) Probabilidad y estadística para ingenieros. Ed. Interamericana. pp 523 –547
- WHO (1991) Serie de Informes Técnicos. Control de la Enfermedad de Chagas. Organización Mundial de la Salud.
- Wisnivesky C., Paulone I., Pérez A., Chuit R., Gualtieri J., Solarz N., Smith A. and Segura L. (1987) A new tool for continuous detection of the presence of triatomine bugs, vectors of Chagas disease, in rural households. *Medicina* 47 : 45 -50
- Zarate L. (1983) The biology and behavior of *Triatoma barberi* (Hemiptera: Reduviidae) in Mexico. *Journal Medical Entomology*, 20(5) : 485 - 497
- Zarate L.G. y Zarate R.J. (1985) A checklist of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) of Mexico. *International Journal Entomology*, 27(1) : 257 - 271.
- Zeledón R., Solano G., Burstin L. and Swartzwelder C. (1975) Epidemiological pattern of Chagas' disease in an endemic area of Costa Rica. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 24(2) : 214 – 225
- Zeledón R. (1983) Vectores de la enfermedad de Chagas y sus características ecofisiológicas. *Interciencia* 8(6): 384 - 393
- Zeledón R. y Rabinovich J. (1981) Chagas' disease: an ecological appraisal with special emphasis on its insect vectors. *Annual Reviews Entomology*, 26 : 101 - 133