



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
UNIDAD MONTERREY

**Estudio de los patrones de movimiento
de *T. lecticularia* ante una fuente de alimento**

Tesis que presenta:

Judith Elizabeth Pichardo Cadena

Para obtener el grado de:

**Maestra en Ciencias en
Ingeniería y Física Biomédicas**

Director de Tesis:

Dr. Moisés Santillán Zerón

Apodaca, N.L.

Agosto 2019

*Dedicado a
mi familia*

Agradecimientos

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo otorgado para mis estudios de maestría. Al CINVESTAV unidad Monterrey y al laboratorio de Biología Cuantitativa por la infraestructura y materiales brindados para la elaboración del presente proyecto.

Principalmente agradezco a mi asesor el Dr. Moisés Santillán Zerón por permitirme trabajar con él, por su guía en la elaboración de este trabajo y por sus enseñanzas para mi formación académica. También, agradezco al Dr. Daniel Sánchez y al Dr. Jesús Santana por su oportuno consejo.

Agradezco a mi compañero M. en C. Jorge Arias por sus consejos y apoyo incondicional. Así mismo, agradezco a mis compañeros y amigos del CINVESTAV.

Finalmente, agradezco infinitamente a mi familia por ser mi principal apoyo en todos mis logros.

Índice general

Resumen	7
Abstract	8
1. Introducción	9
1.1. Enfermedad de Chagas	9
1.2. Características de los Triatóminos	10
1.3. Comportamiento en la elección y localización de un hospedero en insectos hematófagos	13
1.4. Claves sensoriales y comportamiento de los Triatóminos en la locali- zación de los hospederos	17
1.5. Estudio de campo abierto	20
1.6. Planteamiento del problema	24
1.7. Hipótesis y Objetivos	25
1.7.1. Hipótesis	25
1.7.2. Objetivo general	25
1.7.3. Objetivos específicos	25
2. Metodología	26
2.1. Métodos	26
2.1.1. Material biológico	26
2.1.2. Obtención de vídeos	27
2.1.3. Arreglo experimental	28
2.2. Diseño experimental	29
2.3. Análisis de datos	31

2.3.1. Desplazamiento cuadrático medio	35
2.3.2. Análisis estadístico	39
3. Resultados y discusión	40
3.1. Resultados (vídeos con una duración de 4 minutos)	40
3.1.1. Rapidez promedio	42
3.1.2. Promedio del periodo de actividad	43
3.2. Resultados (vídeos con una duración de 1 hora)	45
3.2.1. Rapidez promedio	46
3.2.2. Promedio de los periodos de actividad e inactividad	47
3.2.3. Distribución de probabilidad de la distancia al centro	52
4. Conclusiones y perspectiva	55

Índice de figuras

1.1. <i>Triatoma infestans</i> , familia <i>Reduviidae</i> , orden <i>Hemiptera</i>	11
1.2. Estadios ninfales de los triatóminos.	11
1.3. Géneros de triatóminos que comprenden a las especies epidemiológicas más importantes.	12
1.4. Distribución geográfica en México de las especies de triatóminos con importancia epimedialógica.	13
1.5. Elección del hospedero.	17
1.6. Orientación de ninfas de <i>T. infestans</i> ante diferentes concentraciones de CO_2	19
1.7. Prueba de campo abierto	21
1.8. Arreglo experimental para el estudio del comportamiento locomotor de <i>Drosophila melanogaster</i>	22
1.9. Respuesta de ninfas de quinto estadio de las especies <i>P. geniculatus</i> y <i>R. prolixus</i> ante diferentes olores	23
2.1. Método para la toma de vídeos	27
2.2. Método para la toma de vídeos	28
2.3. Esquema del arreglo experimental utilizado en el estudio de campo abierto	29
2.4. Perfil de rapidez	32
2.5. Distribución de probabilidad de la rapidez	33
2.6. Distribución de probabilidad de la distancia al centro	34
2.7. Distribución de probabilidad del desplazamiento cuadrático medio	36

2.8. Filtro de desplazamiento cuadrático medio	37
2.9. Distribución de probabilidad de la rapidez para los vídeos con duración de una hora	38
3.1. Registro de trayectorias de 5 ninfas de <i>T. lecticularia</i> en ausencia y presencia del hospedero	41
3.2. Rapidez promedio	42
3.3. Promedio del periodo de actividad	43
3.4. Registro de trayectorias de 8 ninfas de <i>T. lecticularia</i> en ausencia y presencia del hospedero	46
3.5. Rapidez promedio	47
3.6. Promedio del periodo de actividad	48
3.7. Promedio del periodo de inactividad	49
3.8. Distribución de probabilidad de la distancia al centro.	52

Resumen

La enfermedad de Chagas, causada por el parásito monoflagelado *Trypanosoma cruzi*, es una de las principales enfermedades parasitarias en Centroamérica y Sudamérica. Es por ello que se ha convertido en un objeto de estudio. Dicho parásito se transmite a través de las heces infectadas de los triatóminos o chinches, los cuales habitan principalmente en áreas rurales de México, Centroamérica y Sudamérica. Para encontrar a sus hospederos, se cree que los triatóminos utilizan diferentes claves sensoriales como son el calor, emisiones de dióxido de carbono, la humedad, entre otros. La identificación de estos estímulos puede dar una visión significativa de los mecanismos involucrados en el comportamiento de los triatóminos y contribuir en estrategias sobre el manejo de este vector de transmisión. Por ello, en el presente trabajo, se realizó un análisis de la motilidad de la especie *T. lecticularia*, en ausencia y presencia de una fuente de alimento.

Para tal fin, se utilizó un estudio de campo abierto donde se colocó un ratón junto con ninfas de segundo estadio, con la finalidad de observar si se ven atraídas por la fuente de alimento. El movimiento y comportamiento de los triatóminos fue registrado en vídeos para su posterior análisis. La toma de vídeos fue llevada a cabo en diferentes fases del ciclo de alimentación de las ninfas.

El procesamiento de imágenes se realizó mediante un código elaborado en MATLAB®R2017b. Posteriormente, se procedió a reconstruir las trayectorias seguidas por los triatóminos. Finalmente, a partir de la reconstrucción de las trayectorias se obtuvo la distribución de probabilidad de la rapidez, del periodo de actividad e inactividad y la distribución de probabilidad de la distancia al centro. Los resultados permitieron realizar un análisis sobre el comportamiento de *T. lecticularia* en presencia de un hospedero. El presente trabajo proporciona herramientas para realizar estudios de campo abierto con *T. lecticularia* u otra especie de triatómino, utilizando diferentes hospederos o estímulos.

Abstract

Chagas disease, caused by a monoflagellate parasite *Trypanosoma cruzi*, is one of the main parasitic diseases in central and south America, this is the reason it has been studied broadly. This parasite is transmitted through infected feces from Triatominae (also known as conenose bugs, kissing bugs assassin bugs, or vampire bugs), which inhabit rural areas in Mexico and South America. It is believed that for finding hosts the Triatominae use several sensorial cues such as warmth, carbon dioxide emissions, moisture, etc. Identification of this stimuli might shed a light on the mechanism involved in the Triatominae behavior and contribute to getting strategies about the handling of this transmission vector. For this reason, in the present work, motion analysis of the *Triatoma lecticularia* specie was made regarding his motility in the presence and lack of a food source.

To accomplish this, a study was made where a mouse was placed beside second stage nymphs to observe if they were attracted to the mouse. The Triatominae movement and behavior was recorded in a video for posterior analysis. Those videos were taken in different nymphs stage cycle of feeding.

The image processing was made using a code written in Matlab ®R2017b. In such code, centroids were calculated from trajectory reconstruction followed by the Triatominae. Finally, from such trajectory reconstruction, Triatominae speed was obtained when there were a presence and lack of a mouse, activity and inactivity periods before and after feeding, and the probability distribution that the insects will move away or near the food source. Results allowed to make a behavior analysis for the *T. lecticularia* in the presence of a host. This work provides tools to perform open field studies for *T. lecticularia* or a different Triatominae species, using several stimuli or hosts.

Capítulo 1

Introducción

1.1. Enfermedad de Chagas

La enfermedad de Chagas se clasifica como la enfermedad parasitaria más severa de América, debido a sus altos índices de mortalidad y morbilidad. En la actualidad se estima que existen entre 10 y 12 millones de casos de infección, la mayoría de ellos en América Latina. Dicha enfermedad presenta como agente etiológico al parásito monoflagelado *Trypanosoma cruzi*, el cual es transmitido principalmente por un insecto hematófago conocido como triatómino. Los triatóminos habitan principalmente en áreas rurales de México, Centroamérica y Sudamérica [1].

Sin embargo, debido a la existencia de otras vías de transmisión de la enfermedad, como son la transfusión sanguínea y congénita, así como los movimientos migratorios masivos, estas han sido causas de introducción de la enfermedad a otros países como Estados Unidos, Canadá y España. La infección sigue siendo incurable, excepto en sus primeras etapas, por lo que el control se basa principalmente en la detección del parásito en donantes de sangre y mediante el control o la eliminación de los insectos vectores domésticos [1,2].

La enfermedad de Chagas se divide en tres etapas clínicas: La etapa aguda donde la sintomatología que se presenta son las mialgias, cefalea, el signo de Romana y

el chagoma de inoculación. Estos síntomas pueden persistir hasta 12 semanas. La etapa crónica asintomática, no presenta síntomas y es en la cual la mayoría de los pacientes permanecen de manera permanente y la etapa crónica sintomática con posible afecciones gastrointestinales y cardíacas [3].

Las afecciones cardíacas se caracterizan por el desarrollo de miocardiopatía dilatada e insuficiencia cardíaca congestiva. Una de las propuestas para explicar dicha patología cardíaca es la respuesta inmunológica específica contra *T. cruzi* con producción de las citosinas IL-1, IFN-gamma y TNG-alpha denominadas proinflamatorias [4]. Por otro lado, la fase digestiva afecta vísceras huecas en lo conocido como megaesófago y megacolon. Algunos de los síntomas característicos son la disfagia, regurgitación, distensión abdominal, entre otros [5].

El establecimiento y desarrollo de esta enfermedad se debe a la presencia de *T. cruzi* en el organismo del mamífero en cuestión. *T. cruzi* se transmite a través de las heces infectadas de los triatóminos de la familia *Reduviidae*, orden *Hemiptera*, subfamilia *Triatominae* [6]. Cuando los triatóminos se alimentan de sangre y excretan sus heces permite que *T. cruzi* penetre a través de las heridas o mucosas de los mamíferos [7].

1.2. Características de los Triatóminos

Los triatóminos, mejor conocidos en México como chinches besuconas, son insectos hematófagos de rostro alargado y cuyo tamaño depende de la especie, pudiendo llegar hasta los 3 cm de longitud. Estos insectos presentan una coloración oscura y pueden presentar un patrón de manchas amarillas o rojizas que ayudan a caracterizar la especie (Figura 1.1) [8].



T. infestans

Familia: *Reduviidae*.Orden: *Hemiptera*.Subfamilia: *Triatominae*.

Figura 1.1: *Triatoma infestans*, familia *Reduviidae*, orden *Hemiptera*.. Tomada de Klug (1834).

Los triatóminos se reproducen mediante huevos y la eclosión tiene lugar entre 15 y 50 días según la temperatura ambiente. A partir de aquí, experimentan una metamorfosis que consta de cinco estados ninfales hasta llegar al estadio adulto (Figura 1.2). Dependiendo de la especie este proceso dura alrededor de 8 meses y la vida del insecto puede durar hasta 15 meses [9].



Figura 1.2: Estadios ninfales de los triatóminos. Huevo, los cinco estadios ninfales y edad adulto de *Triatoma longipennis*. Tomade de Uribarren, T.(2018). <http://www.facmed.unam.mx>

Se considera que en México existen entre 31 y 34 especies documentadas, de las cuales 20 de ellas ya se ha reportado que transmiten el parásito *T. cruzi*. Los tres géneros que comprenden las especies más importantes epidemiológicamente son *Rhodnius*, *Triatoma* y *Panstrogylus*. Estos géneros se distinguen por las diferencias que muestran en la cabeza, pronoto, escutelo, y torác. Por ejemplo, en el género

Triatoma el nacimiento de las antenas se encuentra a la mitad de la distancia entre los ojos y la punta de la cabeza, en *Panstrongylus* se encuentra justo por delante de los ojos y al final de la punta de la cabeza en el género *Rhodnius*, como se muestra en la Figura 1.3 [7, 10].

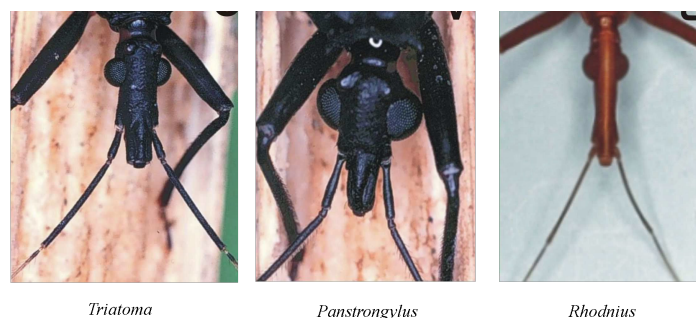


Figura 1.3: Géneros de triatóminos que comprenden a las especies epidemiológicas más importantes. Género *Triatoma*, *Panstrongylus*, *Rhodnius*. Tomado de Pereira, M. ICB/USP. <http://www.icb.usp.br/marcelcp>.

Las especies de triatóminas con mayor importancia epimediológica son aquellas que se encuentran en las viviendas humanas, algunas de estas son: *T. gearslaeckeri*, *T. infestans*, *T. barberi*, *T. dimediana* y *T. lecticularia* [7, 10].

La Figura 1.4 muestra la distribución geográfica en México de varias especies de triatóminos con capacidad de transmitir al parásito *T. cruzi*. En estados como Veracruz, Chiapas y Yucatán predomina la especie *triatoma dimidiata*. Por otro lado, en estados del norte como Sinaloa y Sonora predomina la especie *Triatoma rubida*. En el estado de Nuevo León las especies predominantes son *T. gerstaeckeri*, *T. protracta*, *T. neotomae* y *T. lecticularia*.

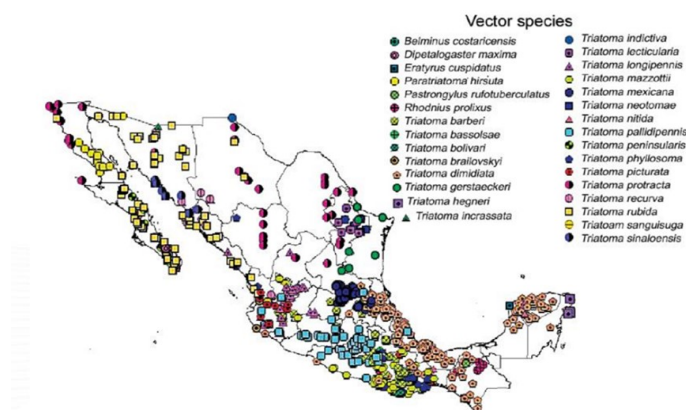


Figura 1.4: Distribución geográfica en México de las especies de triatóminos con importancia epimedialógica. Tomada de LaGES. UASLP, CYACIT. <http://lages.uaslp.mx>

1.3. Comportamiento en la elección y localización de un hospedero en insectos hematófagos

Los insectos hematófagos se alimentan de diferentes especies de animales incluyendo una gran variedad de mamíferos, aves, reptiles y peces. Sin embargo, estos no se alimentan de la misma forma de estos hospederos. La mayoría de los insectos hematófagos muestra una preferencia a alimentarse de un grupo o especie particular, el grado de especificidad del hospedero depende del tipo de insecto. Algunos dependen completamente de una sola especie de hospedero, mientras que otros están dispuestos a alimentarse de una variedad de hospederos [11].

En general, los hospederos más comunes para los insectos son los herbívoros de gran tamaño que presentan una fuente de alimento abundante y fácilmente visible. También son fuentes confiables ya que se mueven lentamente de un campo a otro, en comparación con los carnívoros que son menos abundantes, poco visibles y e impredecibles. Sin embargo, pasar de estas características generales a considerar las elecciones específicas del insecto es un tema más complejo, en la mayoría de los casos se desconoce como se da esta elección. La elección puede estar determinada por varios factores, que actúan de manera combinada, incluidas las condiciones conductuales, fisiológicas, morfológicas, ecológicas, geográficas, temporales y genéticas

[11].

Por otra parte, en la localización del hospedero es probable que la mayoría de los insectos utilicen estímulos provenientes de este mismo. De esta manera, se genera un impulso (una respuesta) en el comportamiento durante la búsqueda del hospedero. Este impulso se ve incrementado por el conjunto de diferentes estímulos que se intensifican conforme el insecto se acerca al hospedero.

A partir de las observaciones realizadas en el laboratorio y el habitat natural de los insectos hematófagos y de su selectividad a alimentarse de ciertos hospederos, se puede predecir que se utilizan una variedad de claves sensoriales provenientes del hospedero en el hallazgo de éste. Los estímulos visuales y olfativos son los más importantes cuando el insecto se encuentra a cierta distancia del hospedero, conforme el insecto se va acercando al hospedero otras señales se convierten más importantes como la humedad y el calor.

La localización de un hospedero se divide en tres fases [11, 12]:

- (a) **Busqueda apetitiva:** Los insectos cuentan con un ciclo interno programado el cual ocurre durante 24 horas (ciclo circadiano). La receptividad del insecto al hospedero cambia con el tiempo en función del ciclo circadiano y el hambre del insecto. Los ciclos circadianos modulan la receptividad durante 24 horas, mientras que el hambre opera alrededor de días o semanas. Conforme se prolonga el tiempo en que el insecto se encuentra sin alimentarse, aumenta la sensibilidad del insecto a estímulos provenientes del hospedero y prolonga el tiempo de búsqueda de alimento. Por lo que para aquellos insectos cuyos refugios se encuentran en el perímetro donde habitan sus hospederos facilita su búsqueda de alimento y disminuye el tiempo que dura sin alimentarse.
- (b) **Activación y orientación:** El insecto al recibir el estímulo proveniente del hospedero cambia su comportamiento de búsqueda apetitiva al comportamiento de reconocimiento y localización de la fuente de alimento. El estímulo puede

simplemente cambiar el estado de alerta del insecto en espera de otra señal. Un segundo estímulo desencadenara un comportamiento de localización hacia el hospedero. El insecto utiliza los estímulos derivados de los hospederos para orientarse hacia el origen de la fuente.

- (c) **Atracción:** Conforme el insecto y el hospedero se acercan; la cantidad de estímulos aumentan al igual que su intensidad. Esta fase depende considerablemente de los estímulos visuales y olfativos para la localización del hospedero. En la fase de atracción, el insecto al localizar al hospedero debe tomar la decisión de contactarlo o no.

Los estímulos olfativos y visuales son importantes en la búsqueda de una fuente de alimento en insectos hematófagos. Algunos ejemplos de estos estímulos son:

- Olfativos: Algunos estímulos olfativos utilizados en la búsqueda de alimento por los insectos son el dióxido de carbono (CO_2), ácido láctico, amoníaco, acetona, ácidos grasos, butanona, indol y compuestos fenólicos en la orina.
- La visión es un factor importante en la decisión del insecto de hacer contacto o no con el huésped y en donde aterrizar. En general los insectos hematófagos prefieren aproximarse a colores oscuros y de baja intensidad similares a los varios animales hospederos.

Se considera que el dióxido de carbono se encuentra involucrado en la fase de activación y orientación en la mayoría de los insectos hematófagos. En la atmósfera se encuentra presente entre un 0.03 % y 0.05 %. Los hospederos emanan CO_2 a través de la piel, pero las principales emanaciones ocurren al exhalar durante la respiración, en los seres humanos las exhalaciones contiene alrededor de 4.5 % de CO_2 .

El dióxido de carbono es sólo uno de los diversos estímulos que el insecto recibe del hospedero. Este puede actuar en combinación con otros estímulos dando una respuesta diferente a la de un estímulo suministrado de manera independiente. Los estímulos al actuar de manera conjunta producen una reacción general mayor que la suma de los estímulos dados por separado. También, el primer estímulo permite

alistar al insecto para responder al segundo estímulo, el cual si se administrará solo, no causaría efecto en el insecto.

Los insectos han desarrollado respuestas instintivas a mezclas de diferentes estímulos derivadas del hospedero. La respuesta de los insectos a combinaciones de ciertos estímulos aumenta la probabilidad de encontrar un hospedero, en comparación a si se guían por un solo estímulo, y minimiza el consumo de energía en la búsqueda del hospedero. Asimismo, varios insectos hematófagos muestran preferencias a alimentarse de ciertos hospederos, el responder a una mezcla de diferentes señales permite cierto grado de selección para un hospedero particular (los olores corporales pueden ser característicos de un grupo particular de animales o incluso de especies particulares) [11].

Además de los olores y la visión, otros estímulos también se convierten importantes cuando los insectos se encuentran a una distancia corta respecto al hospedero, como es el caso del calor. El insecto puede utilizar el calor como clave sensorial de diferentes formas: puede responder al calor radiante emitido por el hospedero, a los gradientes de temperatura entre el insecto y el hospedero; es decir al calor convectivo, o de manera directa con el calor corporal del hospedero al hacer contacto con este (calor conducido). También, se ha estudiado que el vapor de agua al combinarse con un segundo estímulo intensifica la potencia de este último [11].

1.4. Claves sensoriales y comportamiento de los Triatóminos en la localización de los hospederos

Al igual que otros insectos hematófagos, los triatóminos muestran una predilección a alimentarse de ciertos hospederos. Diversos estudios se han realizado al respecto como el trabajo de Gürtler y colaboradores, en el cual se comparó la preferencia de ninfas de quinto estadio de la especie *Triatoma infestans* a alimentarse de diferentes animales domésticos. Para los experimentos se utilizaron tres especies diferentes de hospederos: perro, gallina y gato.

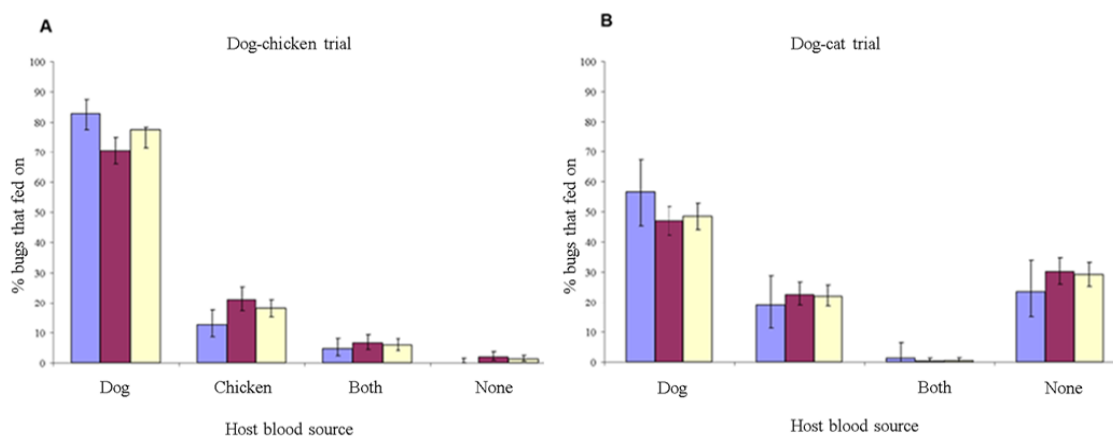


Figura 1.5: Elección del hospedero. Media del porcentaje de ninfas de quinto estadio de *T. infestans* que se alimentaron de perros, gallinas o gatos, de ambas especies o de ninguna de estas. Se aprecia la preferencia de los triatóminos a alimentarse de perros. Tomado de Gürtler, E et. al. (2009)

Los resultados muestran (Figura 1.5) los porcentajes de chinches que se alimentaron de perros, del hospedero contrario, de ambos hospederos o de ninguno de estos. Concluyendo que estas muestran una fuerte preferencia a alimentarse de perros [13]. Esta preferencia podría deberse a que existen características en los perros como olores o químicos que atraen a las chinches para alimentarse de ellos.

También, se estudio las preferencias de alimentación en otras especies, como en *Triatoma dimidiata*. Empleando animales domésticos, donde se observo que se alimentan con mayor frecuencia de gallinas seguido por cabra, canino y equino. Esto con la finalidad de estimar los riesgos de transmisión y formular tácticas de control dirigidas a animales domésticos [14].

Los triatóminos se alimentan en base a su ciclo circadiano. Pasan la mayor parte del día en refugios los cuales comúnmente se encuentran cerca de su fuente de alimento, y buscan alimentarse durante la noche cuando el hospedero está desprevenido y hay una mayor humedad en el ambiente[11]. Para encontrar a sus hospederos, se cree que los triatóminos utilizan diferentes claves sensoriales como son el calor emitido por los hospederos, emisiones de dióxido de carbono, la humedad y diferentes clases de químicos volátiles como: ácidos carboxílicos, alcoholes y aldehídos [13,15,16].

Se ha observado que ninfas de cuarto estadio de la especie *T. infestans* se ven atraídas por corrientes de aire enriquecidas con dióxido de carbono, como se muestra en la Figura (1.6). A partir de una concentración de 400 partes por millón de CO_2 los triatóminos muestran atracción hacia el estímulo (observándose un comportamiento lineal en su desplazamiento), debajo de esta concentración los triatóminos muestran repulsión hacia la fuente [7].

De igual modo, otros estímulos como el vapor de agua, L-ácido, L-láctico y ácidos grasos, los cuales son los químicos volátiles más representativos de la piel humana, han sido estudiados en ninfas de la especie *T. infestans* como claves sensoriales en triatóminos. A distancias cortas, el vapor de agua fue atractivo para los triatóminos e incrementó significativamente la respuesta de los insectos a estímulos térmicos. Por otro lado, los triatóminos presentaron respuestas al ácido L-láctico, 1-octen-3-ol y ácidos grasos de manera dosis-dependiente a nivel sensorial y mostraron una orientación dirigida hacia la fuente [7].

Se ha observado que los triatóminos utilizan el calor como clave sensorial a cortas

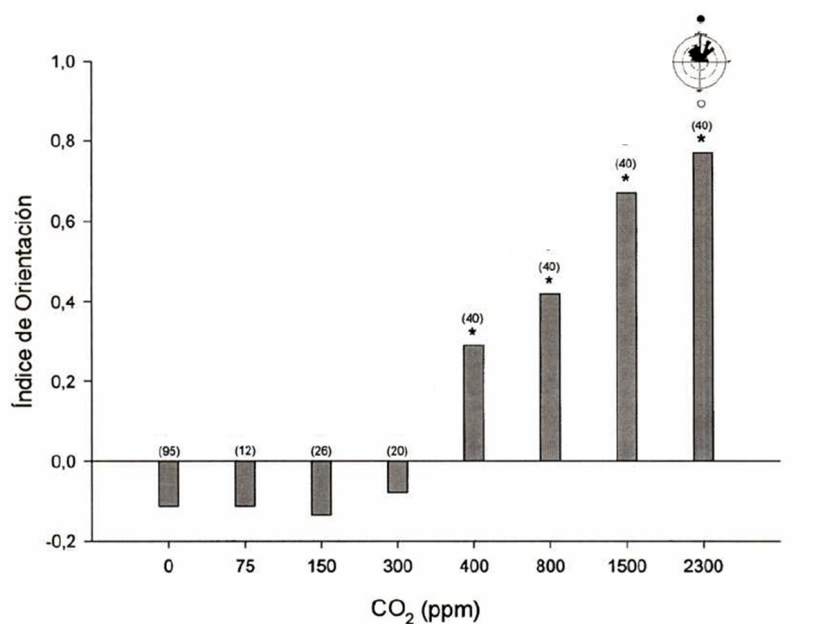


Figura 1.6: Orientación de ninfas de *T. infestans* ante diferentes concentraciones de CO_2 . Ninfas de cuarto estadio de la especie *T. infestans* se ven atraídas u orientadas hacia concentraciones de dióxido de carbono, situándose el umbral comportamental entre 300 y 400 ppm sobre el fondo de CO_2 . Tomado de Barrozo, R. (2003)

distancias. Estos muestran atracción hacia una temperatura de alrededor de 37 °C (temperatura media corporal del ser humano) cuando se encuentran en un rango aproximadamente de 5 cm. Por otro lado, se ha observado que triatóminos de la especie *Rhodnius Prolixus* se ven orientados por el calor del aire (calor convectivo) y no por el calor radiante [11, 15].

También, los triatóminos utilizan olores provenientes de los hospederos como claves sensoriales. Un ejemplo de ello se observó nuevamente en triatóminos adultos de la especie *Rhodnius Prolixus* al exponerlos a una fuente con olores de piel de ratón, los resultados mostraron que los insectos detectan y responden ante este estímulo [15].

1.5. Estudio de campo abierto

En línea con lo anterior se han realizado diversos estudios respecto a la respuesta de animales e insectos ante diferentes estímulos, conocido como ecología sensorial o prueba de campo abierto. La identificación de estos estímulos pueden dar una visión significativa de los mecanismos involucrados en su comportamiento y ser utilizados con diferentes fines de estudio. Así, las pruebas de campo abierto son una medida común del comportamiento exploratorio y la actividad general de ratas, ratones e insectos, donde es posible medir la calidad y cantidad de su actividad [17].

Usualmente el estudio de campo abierto consta de un arreglo confinado, cuya forma puede ser cuadrada, rectangular o circular (Figura 1.7). El objeto de estudio de mayor interés en el estudio de campo abierto es el **movimiento o locomoción** y algunas de sus cualidades como la distancia recorrida en diferentes periodos de tiempo, el tiempo en que el sujeto de prueba se encuentra en movimiento y el tiempo que permanece en reposo; así como el tiempo que pasa a lo largo de las paredes comparado con el tiempo que reside en el centro del arreglo. Sin embargo, todos estos factores pueden verse afectados por agentes de comportamiento como el miedo, la enfermedad, el ciclo circadiano o la presencia de algún estímulo en particular [18]. Un ejemplo de lo anteriormente descrito es el uso de la prueba de campo abierto en ratones, para la evaluación de fármacos que tienen efectos ansiolíticos, con la finalidad de observar si estos causan cambios en la locomoción y el sueño [16].

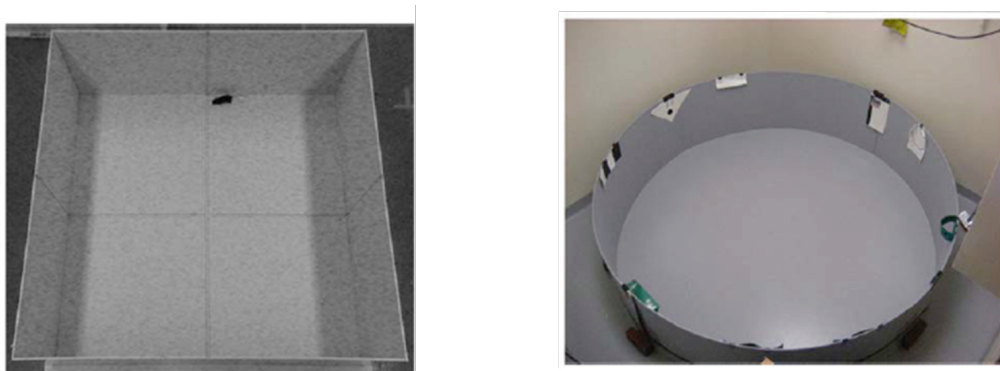


Figura 1.7: Prueba de campo abierto. Ejemplos ilustrativos de pruebas de campo abierto con diferentes formas. Arreglo con forma cuadrada con dimensiones 100x100 cm y con forma circular con 250 cm de diámetro. Tomado de Gould, D. (2009).

Por un tiempo, la prueba de campo abierto ha sido utilizada para el estudio del comportamiento en mamíferos, sin embargo, se ha utilizado recientemente para ensayos de ecología sensorial en insectos, como es el caso de *Drosophila melanogaster*. En el trabajo realizado por Valente y Golani se caracterizó el comportamiento locomotor de la mosca. Se determinó su trayectoria de la caminata libre en un entorno experimental durante un periodo largo de tiempo. La mosca fue colocada en un arreglo circular de 15 cm de diámetro con una tapa de plástico. El comportamiento de la mosca fue grabado con una cámara de vídeo a una frecuencia de 25 Hz. El arreglo utilizado para los ensayos se muestra en la Figura 1.8. Posteriormente se realizó el análisis computacional para la reconstrucción de las trayectorias y el cálculo de la velocidad. Este análisis permitió deducir la influencia del entorno en el comportamiento resultante [19].

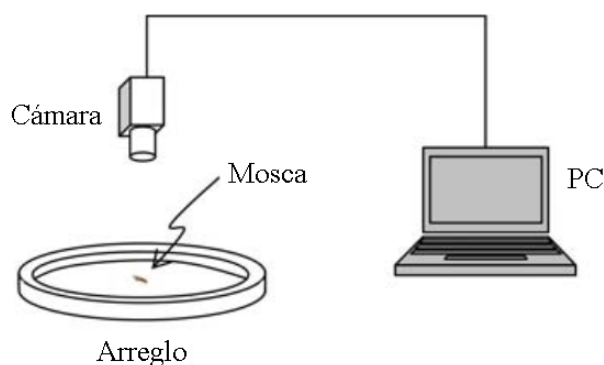


Figura 1.8: Arreglo experimental para el estudio del comportamiento locomotor de *Drosophila melanogaster*. Tomado de Valente, D. (2007).

Así mismo, en investigaciones sobre comportamientos exploratorios se han utilizado *Drosophilas* adultos. Las cuales al ser colocadas en un arreglo confinado mostraron primeramente un nivel elevado de actividad seguido de un nivel estable en donde pasan la mayor parte del tiempo cerca del borde del arreglo. Se utilizaron *Drosophilas* de tipo silvestre y mutantes con deficiencia visual, con la finalidad de determinar las características ambientales que son responsables de la dinámica inicial y del nivel estable que presenta la mosca [20]. Otros trabajos con *Drosophila melanogaster* para el estudio de la termotolerancia, donde se examinó la variación en el comportamiento al caminar ante un estrés térmico, para la identificación de sus contribuyentes genéticos [21].

En el caso de los triatóminos, se ha utilizado la prueba de campo abierto para el análisis de su comportamiento locomotor ante diferentes estímulos sensoriales. Para ello, usualmente se emplean servosferas, como la utilizada por Otálora-Luna y M. Guerin para el análisis del comportamiento de las especies *R. prolixus* y *P. geniculatus* en su quinto estadio. Los estímulos utilizados fueron: olores de heces de gallina, una fracción básica de heces de gallina en diclorometano, aliento humano, extracto de olor de orina humana y amoniaco. Los resultados muestran (Figura 1.9) un incremento significativo en la locomoción de las chinches al mostrar una atracción por los estímulos (anemotaxis condicionada por el olor). Siendo los ensayos con heces de gallina y aliento humano los que mostraron un mayor incremento en la locomoción

[22].

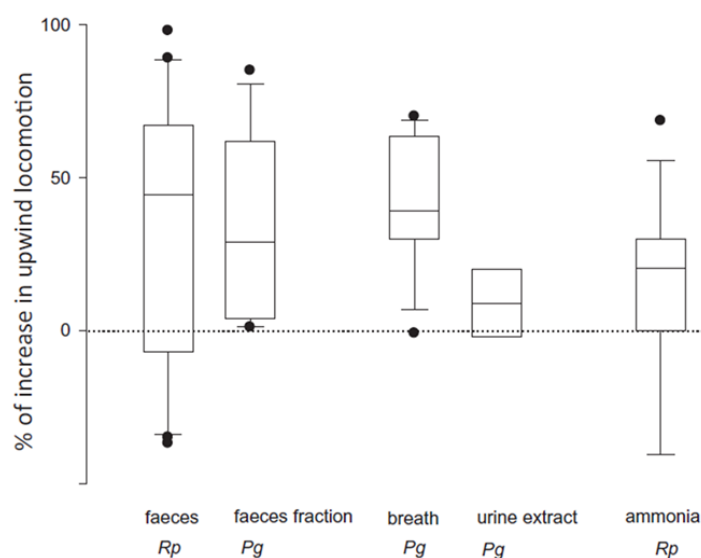


Figura 1.9: Respuesta de ninfas de quinto estadio de las especies *P. geniculatus* (*Pg*) y *R. prolixus* (*Rp*) ante diferentes olores. La figura muestra el incremento en la locomoción de las ninfas ante los diferentes olores. Los olores utilizados en el ensayo fueron heces de gallina, una fracción básica de heces de gallina en diclorometano, aliento humano, extracto de olor de orina humana y amonía. Los ensayos realizados con heces de gallina y aliento humano mostraron un mayor incremento en la locomoción. Tomado de Ótalora-Luna, F. (2009).

Por otro lado, se ha estudiado la respuesta de la especie *T. infestans* en quinto estadio ante una estimulación térmica, para ello se utilizaron diferentes transmitancias infrarrojas. Los triatóminos se vieron orientados hacia una fuente con una temperatura de 37°C (temperatura media de un hospedero) y hacia una fuente de 50 °C [23].

Para finalizar, en un estudio realizado con la especie *R. prolixus* se registró en un olfatómetro la orientación y actividad locomotora de ninfas de quinto estadio; al ser expuestas a estímulos de prueba cuando estas se encuentran en la búsqueda de alimento. Donde se observó que estímulos como el calor es poco estimulante para la orientación de largo alcance. Por otro lado, el dióxido de carbono y la humedad resultaron atractivos para los triatóminos. Sin embargo, el estímulo más atractivo resultó ser el hospedero per se, en este caso se utilizó un hámster y el antebrazo de

un humano [24].

1.6. Planteamiento del problema

Únicamente se ha analizado la locomoción en triatóminos de 4° y 5° estadio y en etapa adulta ante diferentes estímulos sensoriales. Realizar estudios en ninfas de los primeros estadios (2° y 3° estadio) permitirá realizar una continuidad en el análisis de su comportamiento en los estadios sucesivos hasta la edad adulta, y de esta forma obtener un análisis completo durante el desarrollo de los triatóminos de las especies a estudiar. Por otro lado, no todas las especies de triatóminos en México han sido estudiadas, siendo una de estas la especie *Triatoma lecticularia*, la cual es originaria del estado de Nuevo León, lugar donde se realizó este trabajo.

1.7. Hipótesis y Objetivos

1.7.1. Hipótesis

La interacción de *Triatoma lecticularia* ante una fuente de alimentación genera cambios en sus patrones de motilidad.

1.7.2. Objetivo general

Estudiar los patrones de motilidad de *T. lecticularia*, en segundo estadio, en presencia de una fuente de alimentación.

1.7.3. Objetivos específicos

1. Caracterizar la motilidad de las ninfas de segundo estadio en diferentes fases de su ciclo de alimentación en ausencia de una fuente de alimento.
2. Estudiar el efecto de la presencia de una fuente de alimentación sobre los patrones en la motilidad de las ninfas de segundo estadio.

Capítulo 2

Metodología

En el presente trabajo se estudió la locomoción de *T. lecticularia* en ausencia y presencia de una fuente de alimento, esto mediante el registro de su comportamiento en un estudio de campo abierto. Posteriormente, por medio del procesamiento de imágenes se reconstruyeron las trayectorias seguidas por los triatóminos en cada vídeo. Por último, se realizó el análisis estadístico de las trayectorias para ambos casos.

En este capítulo se describe la metodología utilizada para el diseño experimental, la toma de vídeos, el procesamiento de imágenes y el análisis estadístico.

2.1. Métodos

2.1.1. Material biológico

En este estudio se utilizaron triatóminos de la especie *T. lecticularia* en su segundo estadio. Los individuos fueron donados por el Dr. Ricardo Alejandro Aguilar del departamento de parasitología del Instituto Politécnico Nacional. Los triatóminos se mantuvieron en un insectario en condiciones fluctuantes de temperatura y humedad; con un fotoperíodo invertido de doce horas de luz y doce horas de oscuridad. Estos fueron alimentados una vez al mes con sangre humana.

2.1.2. Obtención de vídeos

Se tomaron vídeos de los triatóminos antes mencionados para el registro de su comportamiento en ausencia y presencia de un hospedero. Los experimentos se llevaron a cabo durante el día, sin embargo los vídeos fueron tomados en oscuridad con la finalidad de mantener a los triatóminos en su ciclo circadiano.

Para la toma de vídeos se utilizó una cámara de celular neffos modelo: TP903C de 13 MP, esto debido a que no cuenta con filtro infrarrojo y permite obtener una imagen con mayor resolución de los vídeos grabados en la oscuridad.

Los vídeos fueron tomados para tres grupos de estudio los cuales se encontraban en condiciones diferentes. La toma de vídeos de los tres grupos de estudio se llevo a cabo en diferentes fases de su ciclo de alimentación, es decir, dos día antes de ser alimentados (prealimentación) y dos días después de alimentarlos (postalimentación). Cada grupo de estudio esta formado por cinco chinches diferentes. Se grabaron cuatro vídeos de cada chinche con una duración de 4 minutos. El procedimiento llevado a cabo se ejemplifica en la Figura 2.1.

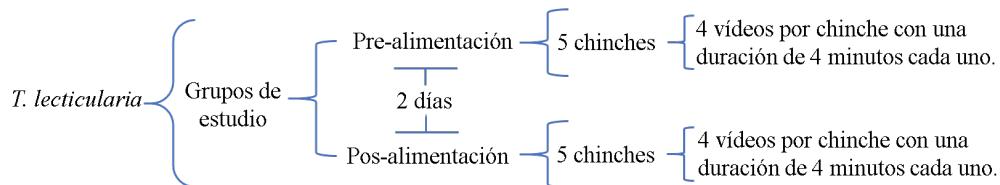


Figura 2.1: Método para la toma de vídeos. El esquema muestra el método empleado para la grabación de los vídeos. Para la toma de vídeos se utilizaron tres grupos diferentes de estudio. Los vídeos fueron tomados dos días antes de alimentar a los triatóminos (prealimentación) y dos días después de ser alimentados (postalimentación). Se emplearon cinco chinches en cada grupo, de las cuales se grabaron cuatro vídeos de cada una con una duración de 4 minutos.

Se determinó aumentar en número de sujetos de estudio y el tiempo de grabación, con la finalidad de aumentar el tiempo de exploración de las chinches en el arreglo. Por lo que posteriormente, se incremento la cantidad de sujetos para cada grupo de estudio, aumentando el número a ocho chinches. Se tomarón dos vídeos de cada

grupo con una duración de 1 hora. Los vídeos fueron tomados con las ocho chinches simultáneamente. Los experimentos se llevaron a cabo en el mismo orden del ciclo de alimentación de los triatóminos. La Figura 2.2 ejemplifica la metodología utilizada.

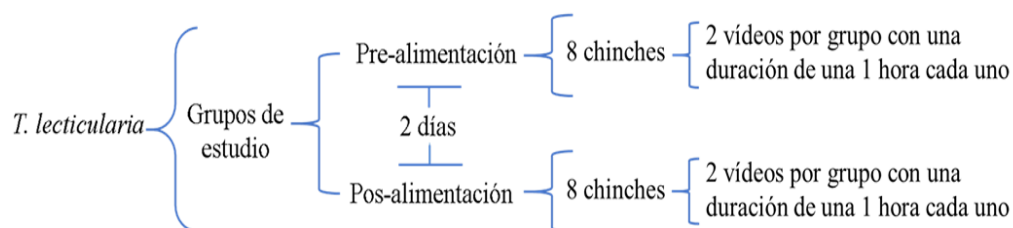


Figura 2.2: El esquema muestra de manera resumida el método empleado para la toma de vídeos con duración de una hora.

En ambos casos, antes de la toma de cada vídeo se les dio 5 minutos de adaptación al medio a cada chinche. Los vídeos fueron tomados a 30 fps.

2.1.3. Arreglo experimental

Para llevar a cabo los experimentos se utilizó un arreglo, el cual consiste en una caja rectangular de madera con dimensiones 88 cm × 61 cm × 14.5 cm. La caja se encuentra recubierta con melanina blanca para contrastar el fondo de la caja con el color de los triatóminos y así, facilitar el procesamiento de imágenes. El arreglo cuenta con un soporte de madera donde es colocada la cámara de vídeo para el registro del movimiento de los triatóminos. La cámara se encuentra a una distancia de 137 cm respecto a la caja de madera.

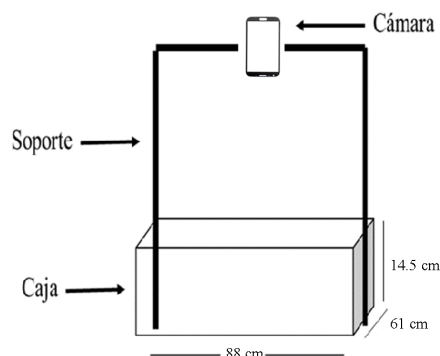


Figura 2.3: Esquema del arreglo experimental. Consta de una caja de madera (88 cm \times 61 cm \times 14.5 cm) y un soporte donde es colocada la cámara de vídeo.

2.2. Diseño experimental

En el presente trabajo se estudió la respuesta motriz de ninfas de segundo estadio en presencia de una fuente de alimento. Para ello, se realizó un estudio de campo abierto, utilizando el arreglo experimental descrito anteriormente. Se trabajó con dos grupos control, en los cuales se estudió el comportamiento de los triatóminos en ausencia de un estímulo y un grupo experimental donde se colocó una fuente de alimento, esto con la finalidad de determinar si existe algún cambio en la motilidad de *T. lecticularia*. La metodología de los experimentos con los diferentes grupos fue la siguiente:

- **1^{er} Grupo control (“sin nada”).** En el primer grupo control únicamente se introdujeron, de manera individual, las ninfas dentro del arreglo experimental. Estas se posicionaron en un vértice diferente de la caja para la toma de cada vídeo. Cabe señalar que los triatóminos se encuentran en ausencia de algún estímulo.
- **2^o Grupo control (“con jaula vacía”).** En el segundo grupo control se colocó una jaula de acrílico vacía con dimensiones de 18.5 cm \times 14 cm \times 12.5 cm en el centro de la caja, posteriormente se procedió a colocar a la chinche dentro del arreglo al igual que en el primer grupo control. Se considero este segundo grupo control con el propósito de comprobar si algún cambio en el comportamiento de los triatóminos pudiera estar relacionado con la presencia

de la jaula de acrílico y no por la presencia de algún estímulo.

- **Grupo experimental (“jaula con ratón”).** Ratones sanos de la cepa ICR CD-1, alimentados con una dieta estándar [25], se colocaron dentro de la jaula de acrílico utilizada en el 2° grupo control. La jaula cuenta con paredes gruesas y orificios lo suficientemente pequeños para evitar que los triatóminos entren a la caja y piquen al ratón, pero permitiendo que los olores y químicos emanados por el roedor circulen a través de la jaula. Esta se colocó junto con el ratón en el centro de la caja. A continuación, los triatóminos fueron colocados de manera individual dentro del arreglo. Por último, se procedió a la toma del vídeo.

Únicamente dos grupos control fueron utilizados para la toma de vídeos de una hora. La metodología utilizada fue la siguiente:

1. **Grupo control.** Ocho triatóminos fueron colocados en el arreglo experimental simultáneamente. Cuatro chinches fueron situadas en cada uno de los vértices y otras cuatro a la mitad de la distancia entre cada vértice de la caja. A la vez, se colocó la jaula de acrílico vacía en el centro del arreglo.
2. **Grupo experimental.** Las ocho chinches fueron situadas al igual que el grupo control. Simultáneamente, la jaula con el ratón se colocó en el centro del arreglo experimental.

El procedimiento llevado a cabo para la toma de vídeos en ambos casos se describe en el apartado **obtención de vídeos** y se ejemplifica en las Figuras 2.1 y 2.2.

2.3. Análisis de datos

El procesamiento de imágenes se realizó mediante un código elaborado en MATLAB ©R2017b.

Primero, las imágenes obtenidas de los vídeos se convirtieron a escalas de grises utilizando la función *rgb2gray*. Posteriormente, se realizó un ajuste de contraste en escala de grises para disminuir las sombras en la imagen. Finalmente, se binarizaron las imágenes utilizando la función *im2bw*. Para eliminar objetos con un tamaño mayor al de los triatóminos se estableció un rango de área entre 1 y 12 píxeles.

Después, se procedió al cálculo de los centroides de los triatóminos en cada cuadro del vídeo a partir de los cuales se reconstruyeron las trayectorias seguidas por los triatóminos. Las trayectorias son una serie de puntos en el espacio bidimensional que representan la posición de la ninfa en cada instante de tiempo. A partir de las trayectorias se obtuvo:

- **Media de la distribución de la rapidez.** El cálculo de este parámetro se realizó con el propósito de observar si existe un cambio en la rapidez de los triatóminos cuando se encuentran en presencia de la fuente de alimento.
- **Media de la distribución de los periodos de actividad e inactividad.** La caminata de los triatóminos cuenta con episodios combinados donde el insecto puede presentar una caminata rápida, disminuir su velocidad o detenerse, a lo que se le designó como periodos de actividad e inactividad.
- **Distribución de probabilidad de la distancia al centro.** Con el propósito de observar si los triatóminos tienden a acercarse al centro de la caja donde se encuentra la jaula de acrílico con el ratón.

El factor de conversión utilizado para el análisis fue 30 *cuadros/seg* ($ft=30$) y 15 *píxeles/cm* ($fs=15$).

La **velocidad** se calculo a partir de sus componentes V_x y V_y , multiplicado por el factor de conversión:

$$V_x = \left(\frac{dx}{dt}\right)\left(\frac{ft}{fs}\right) \quad (2.1)$$

$$V_y = \left(\frac{dy}{dt}\right)\left(\frac{ft}{fs}\right) \quad (2.2)$$

Donde: $dx = \Delta x$, $dy = \Delta y$, $dt = \Delta t$

Finalmente, se calculo la magnitud del vector $|\vec{V}|$:

$$|\vec{V}| = \sqrt{V_x^2 + V_y^2}; \quad (2.3)$$

El cálculo de los **periodos de actividad e inactividad** se determinaron a partir de los perfiles de rapidez de los triatóminos, un ejemplo de estos se muestra en la Figura (2.4).

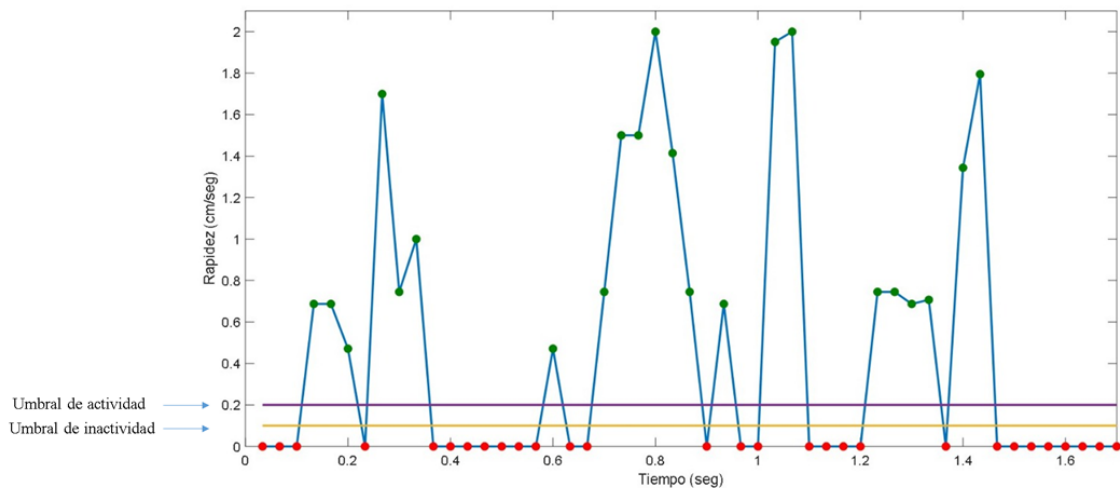


Figura 2.4: Perfil de rapidez. Ejemplo de un perfil de rapidez de un triatómino. Los umbrales de actividad e inactividad se encuentran representados con una línea morada y una línea amarilla respectivamente, por lo que los puntos verdes se encuentran a lo que denominamos como periodo de actividad y los rojos periodo de inactividad.

La gráfica muestra uno de los perfiles de rapidez de los triatominos, representado por la línea azul. Los puntos verdes y rojos representan la rapidez para un determinado instante de tiempo. Las líneas morada y amarilla son los umbrales de actividad e inactividad, respectivamente. Si la línea de rapidez cruza el umbral de activación en sentido positivo, se considera un periodo de actividad hasta que cruza el umbral de inactividad en sentido negativo. Los periodos de inactivación son definidos de manera similar utilizando el umbral de inactivación.

Los umbrales se calcularon a partir de las distribuciones de probabilidad de la rapidez (Figura 2.5), donde se muestra una bimodalidad. Se asignó como umbral de inactividad y actividad: 0.1 y 0.2 respectivamente.

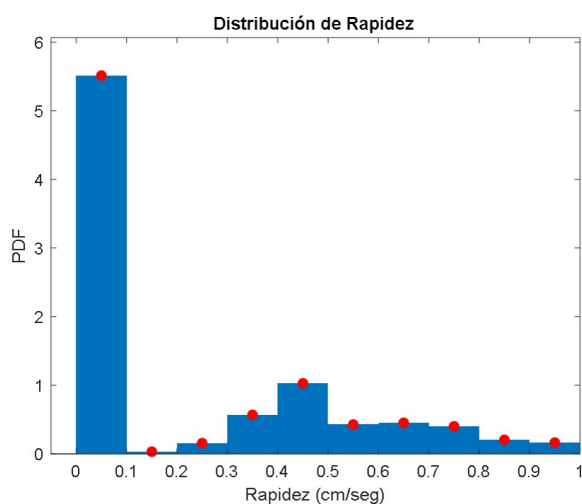


Figura 2.5: Distribución de probabilidad de la rapidez. Se muestra una bimodalidad de donde se obtuvieron los umbrales de inactividad (0.1) y actividad (0.2).

La **distribución de probabilidad de la distancia al centro** se determinó a partir del cálculo de la distancia de cada punto de las trayectorias de los triatominos con respecto al centro de la caja, utilizando la ecuación de distancia entre dos puntos (ecuación 2.4) ,y se obtuvo su distribución de probabilidad.

$$d = \sqrt{(x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2} \quad (2.4)$$

La Figura 2.6 muestra el arreglo donde se encontraban las ninfas, en donde la referencia representa el centro de la caja. Las líneas de colores son las trayectorias reconstruidas de los triatóminos. Se calculó la distancia de cada punto de las trayectorias de los triatóminos con respecto al centro de la caja y se obtuvo su distribución de probabilidad.

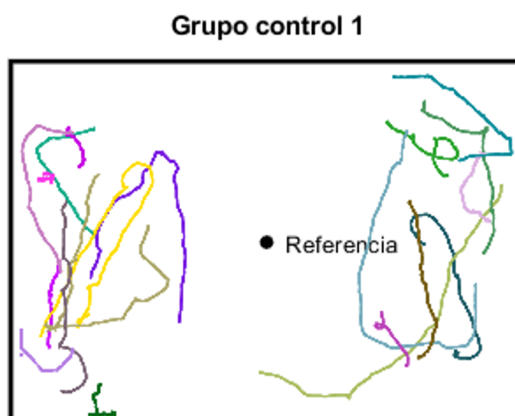


Figura 2.6: Distribución de probabilidad de la distancia al centro. El rectángulo de la imagen tiene las mismas dimensiones que la caja del arreglo experimental. La referencia representa el centro de la caja y las líneas de colores son la trayectorias obtenidas de los triatóminos.

Para la reconstrucción y análisis de las trayectorias de los vídeos con duración de una hora se utilizaron 10 *cuadros/seg* ($ft=10$) y 2.91 *pixeles/cm* ($fs=2.91$) como factores de conversión.

2.3.1. Desplazamiento cuadrático medio

La caminata aleatoria, abreviado como RW (Random Walks), es una representación matemática de la trayectoria que resulta de hacer sucesivos pasos aleatorios. El desplazamiento cuadrático es la medida de difusión de partículas con movimiento aleatorio, es decir, la región explorada en un determinado espacio por un caminante aleatorio.

El modelo de caminata aleatoria simple (SRW), es la base de la teoría de los procesos difusivos. En este modelo las caminatas aleatorias no están correlacionadas, lo que significa que la dirección del movimiento es independiente de las direcciones anteriores; y son imparciales, esto es, que no hay una dirección preferida. Por lo tanto, representa un movimiento Browniano. Se calcula para una dimensión utilizando la ecuación (2.5):

$$\langle x^2 \rangle = 2Dt \quad (2.5)$$

y en dos dimensiones el cuadrado de la distancia del origen al punto (x,y) es $r^2 = x^2 + y^2$ por lo tanto,

$$\langle r^2 \rangle = 4Dt \quad (2.6)$$

Donde: D es el coeficiente de difusión dado en cm^2/s^2 . Caracteriza la migración de las un tipo de partículas, en un medio a una temperatura dada [26].

Por otro lado, la caminata aleatoria correlacionada (CRW) implica una correlación entre las direcciones sucesivas de pasos, lo que se denomina como "persistencia". Cada paso tiende a apuntar en en la misma dirección que el anterior. La mayoría de los animales muestra esta tendencia al avanzar, la CRW se han utilizado con frecuencia para modelar el camino de varios animales.

Esta representando por la ecuación (2.7):

$$\langle X_t^2 \rangle = \frac{\nu^2}{\lambda} \left(t - \frac{1}{2\lambda} (1 - e^{-2\lambda t}) \right) \quad (2.7)$$

Donde ν es la velocidad de la población, λ las veces que la población se mueve en cierta dirección en un determinado tiempo [27].

De los vídeos con duración de una hora se obtuvieron un mayor número de trayectorias con una longitud mayor en comparación con las trayectorias obtenidas anteriormente. Por lo que se requirió aplicar dos filtros. El primero **filtro de desplazamiento cuadrático medio (MSD)** se utilizó para eliminar todas aquellas trayectorias que permanecieran estáticas, las cuales usualmente son sombras, orillas u objetos que no pertenecen a un triatomino y se encuentran en la imagen. Para ello, se eliminaron las trayectorias con un MSD menor a 100 cm^2 . Se seleccionó el umbral a partir de la distribución de probabilidad del desplazamiento cuadrático medio (Figura 2.7).

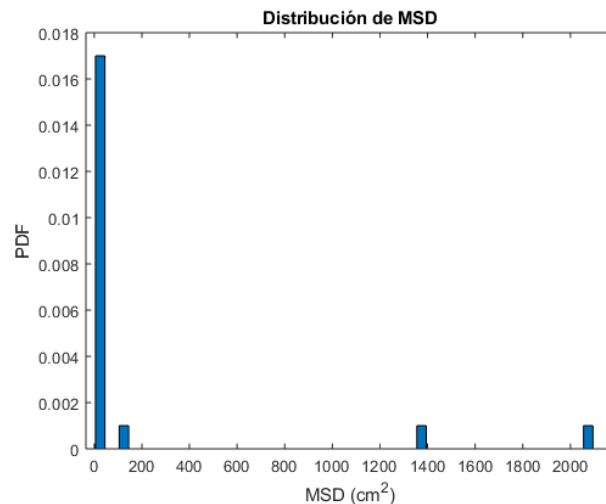


Figura 2.7: Distribución de probabilidad del desplazamiento cuadrático medio. La imagen muestra un ejemplo de la distribución de probabilidad del desplazamiento cuadrático medio de 20 trayectorias del grupo control postalimentación. Se seleccionó un umbral de 100 para eliminar artefactos en la reconstrucción de las trayectorias.

En la Figura 2.8 se muestra un ejemplo de la diferencia de las trayectorias sin filtrar y después de aplicar el filtro. Como se puede apreciar en el inciso (b) se conservan únicamente las trayectorias pertenecientes a los triatóminos.

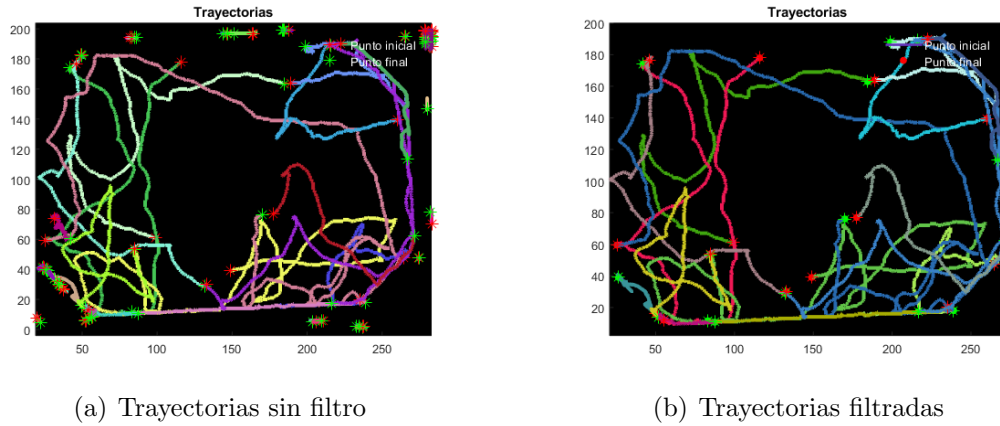


Figura 2.8: Filtro de desplazamiento cuadrático medio. Ejemplo al aplicar el filtro MSD a las trayectorias reconstruidas de los triatóminos. La Figura (a) muestra un ejemplo de las trayectorias seguidas por los triatóminos para el grupo control postalimentación. En los bordes y esquinas de la gráfica se observan pequeñas trayectorias las cuales usualmente no pertenecen a las de un triatómino, por el contrario estas frecuentemente son artefactos de la imagen. Por lo tanto, para descartar estas trayectorias se eliminaron aquellas con un desplazamiento cuadrático medio menor a 100 cm^2 . El inciso (b) muestra las trayectorias de la imagen (a) después de filtrarse, de esta forma se conservan únicamente las trayectorias seguidas por los triatóminos. Las dimensiones de la gráfica se encuentra en pixeles.

El segundo filtro consistió en graficar cada una de las trayectorias en su último cuadro correspondiente. Esto con la finalidad de observar si las trayectorias pertenecen a un triatómino o a un objeto (ruido) en la imagen.

Una vez aplicados los filtros se calculó la distribución de probabilidad de la rapidez utilizando los factores de conversión anteriormente mencionados.

Para el análisis del periodo de actividad e inactividad, al igual que en los vídeos con una duración de cuatro minutos, los umbrales se determinaron a partir de la distribución de probabilidad de la rapidez el cual se muestra en Figura 2.9 . Se

estableció un solo umbral de 0.4.

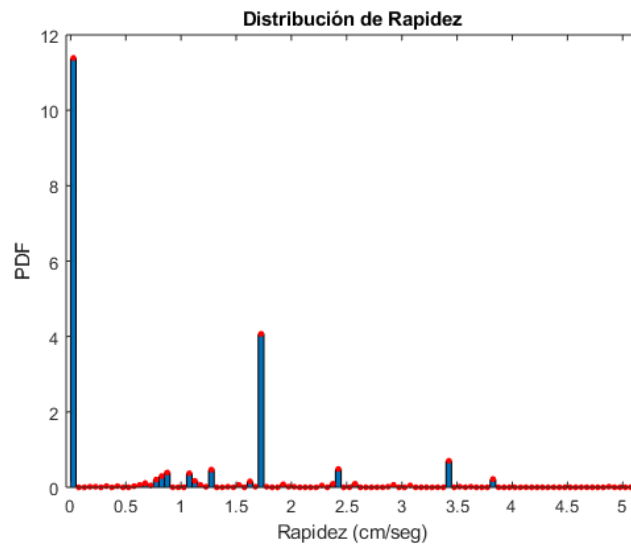


Figura 2.9: Distribución de probabilidad de la rapidez para los vídeos con duración de una hora.

Por último, para el calculo de la distribución de probabilidad de la distancia al centro se modificaron las dimensiones del rectángulo, a partir del factor de conversión fs, y por lo tanto la posición del centro del rectángulo. Nuevamente se calculo la distancia de cada uno de los puntos de las trayectorias con respecto al centro.

2.3.2. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con la prueba **Welch's t-test**, la cual es una prueba de localización que se utiliza para probar la hipótesis de que dos poblaciones tienen medias iguales. Es una adaptación de la prueba t-Student, sin embargo es más confiable cuando las muestras tienen varianzas desiguales (por lo que se utilizó para este trabajo) y/o tamaño de muestra desiguales, pero manteniendo el supuesto de que las dos poblaciones tienen distribuciones normales.

La prueba Welch's t-test se define mediante la ecuación:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{N_1} + \frac{s_2^2}{N_2}}} \quad (2.8)$$

Donde:

\bar{X}_1, \bar{X}_2 = Medias de las muestras.

s_1^2, s_2^2 = Varianza de las muestras.

N_1, N_2 = Tamaño de las muestras.

Capítulo 3

Resultados y discusión

En este capítulo se presentan y discuten los resultados obtenidos del estudio realizado sobre la motilidad de *T. lecticularia* en ausencia y presencia de un hospedero. Las trayectorias extraídas de los vídeos permitieron realizar un análisis sobre el comportamiento de los triatóminos ante el estímulo, con la finalidad de distinguir si existen diferencias entre ambos grupos.

El capítulo se encuentra dividido en dos secciones, la primera sección presenta el estudio realizado a partir de las trayectorias reconstruidas de los vídeos con una duración de cuatro minutos. Los resultados de la primera fase se complementan con la realización de vídeos de una hora, cuyos resultados se muestran en la segunda sección.

3.1. Resultados (vídeos con una duración de 4 minutos)

Los resultados se presentan de manera cualitativa, no obstante, permiten hacer una observación sobre las diferencias en el comportamiento de los triatóminos en presencia de la fuente de alimento. A modo de ejemplo, la Figura 3.1 muestra el comportamiento locomotor de los triatóminos. En el inciso (a) se observa cómo estos tienden a moverse en las orillas de la caja, sin una dirección predilecta. Por

otro lado, en el inciso (b) de la Figura 3.1, en presencia del hospedero algunas chinches caminan en dirección al centro del arreglo o a las orillas de la jaula de acrílico donde se encuentra el ratón.

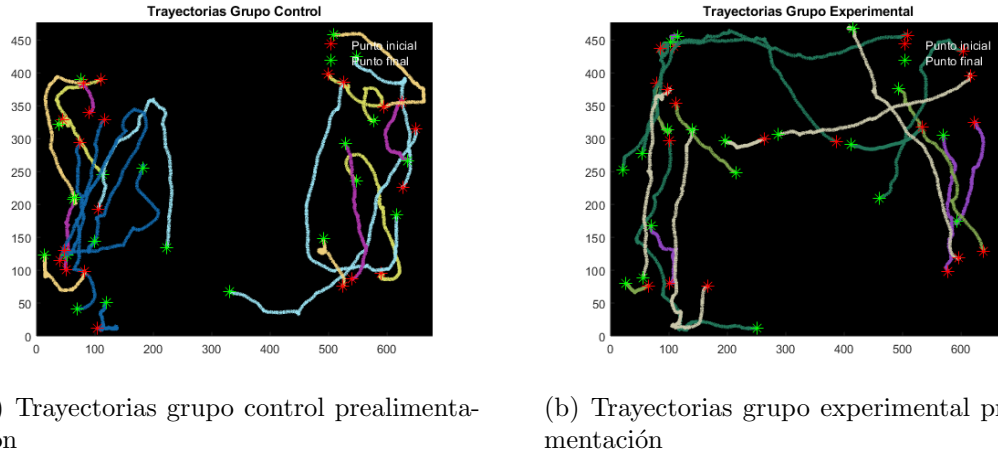


Figura 3.1: Registro de trayectorias de 5 ninfas de *T. lecticularia* en ausencia y presencia del hospedero. Los ejes x y y representan las dimensiones de la caja las cuales se encuentran pixeles donde $1pixel = 15pixeles$. Los puntos rojos indican el inicio de cada trayectoria y los puntos verdes donde terminan. Cada color de línea es una trayectoria de una ninfa diferente. Las trayectorias son de 5 chinches en cuatro vídeos diferentes.

El comportamiento observado, es parecido al de otros modelos animales. Por ejemplo, en estudios realizados con ratones se muestra que los sujetos de estudio al ser introducidos en un entorno nuevo tienden a orientarse cerca de las paredes y solo se alejan a medida que pasa el tiempo [28]. Por otro lado, estudios realizados con *Drosophila melanogaster* indican que la mosca prefiere ubicarse cerca de la pared del arreglo experimental, pasando el 42% del tiempo a 1 cm de la pared, y el resto de las horas distribuidas aproximadamente por igual en el resto del arreglo [19].

Para estudiar de manera cuantitativa el comportamiento de los triatóminos se calcularon los promedios de las distribuciones de la rapidez, así como de los periodos de actividad e inactividad. Como se describió en la metodología las ninfas fueron expuestas a tres situaciones experimentales: grupo control 1 (“sin nada”), grupo control 2 (“con jaula vacía”) y grupo experimental (“jaula con ratón”) para cada una

en la fase de prealimentación y postalimentación. A continuación se muestran los resultados obtenidos de la media de la distribución de la rapidez.

3.1.1. Rapidez promedio

Los resultados de la media de la rapidez promedio para la fase de prealimentación y postalimentación de estos tres grupos se muestran en la Figura 3.2.

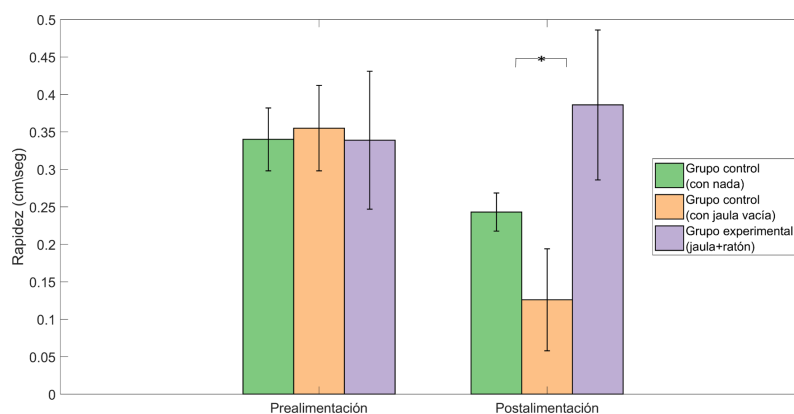


Figura 3.2: Rapidez promedio de los vídeos con duración de 4 minutos. El eje x muestra los grupos de estudio prealimentación y postalimentación. El eje y representa el promedio de la rapidez dado en $cm/segundo$. Los asteriscos indican que existen diferencias significativas ($*p < 0.05$). $\bar{x} \pm 2ES$. Se utilizaron 5 ninfas para los experimentos.

En la fase de prealimentación los tres grupos presentan una rapidez similar entre 0.34 y 0.37 cm/seg , no mostrando una diferencia significativa entre ellos. En esta fase, a diferencia de lo que se esperaba observar, la rapidez fue muy parecida tanto en presencia como en ausencia de la fuente de alimento.

Por otro lado, en la fase postalimentación el grupo experimental presenta una mayor rapidez respecto a sus grupo control. Sin embargo, la rapidez del grupo experimental se encuentra dentro del mismo rango que la rapidez que muestran los grupos de la fase prealimentación. También, ambos grupos control presentan diferencias significativas entre si, donde el grupo control (“con jaula vacía”) presenta una menor rapidez.

En la fase de prealimentación, los triatóminos presentan una rapidez constante. Por otro lado, en la fase postalimentación en presencia de la fuente de alimento los triatóminos aumentan su rapidez. Se ha observado en triatóminos de otras especies como es el caso de *Triatoma infestans*, que su actividad disminuye después de alimentarse [29], sin embargo, los triatóminos utilizados en los presentes ensayos al aumentar su rapidez en presencia de una fuente de alimento puede que aún no se encontrarán satisfechos a pesar de haber sido alimentados, por lo que se encuentran en busca de una fuente de alimento o responden ante el estímulo.

3.1.2. Promedio del periodo de actividad

La locomoción en los triatóminos cuanta con varios episodios de caminata o periodos donde permanecen inmóviles. Los periodos de caminata están seguidos por paradas bruscas durante las cuales el insecto permanece inmóvil o disminuye la cantidad de pasos. La duración de estos periodos es variable y no ocurren de manera regular [30]. En el presente trabajo, para conocer acerca de los periodos de actividad e inactividad de los triatóminos, se calculó la media y si se relacionan con la ausencia o presencia del ratón.

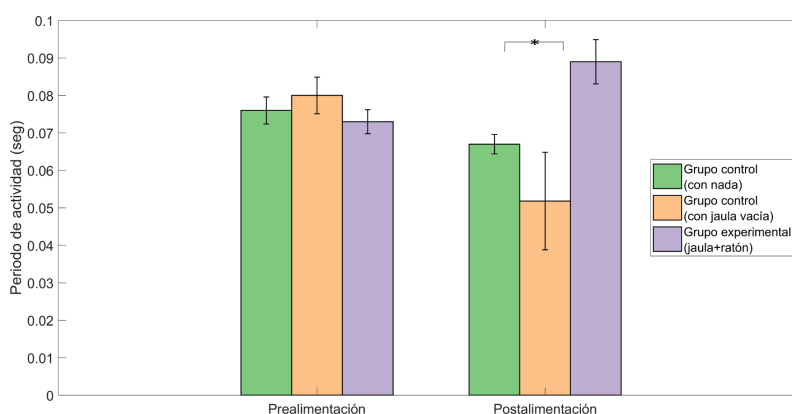


Figura 3.3: Promedio del periodo de actividad de los vídeos con duración de 4 minutos. El eje x muestra los grupos de estudio prealimentación y postalimentación. El eje y representa el promedio del periodo de actividad dado en *segundos*. Los asteriscos indican que existen diferencias significativas ($*p < 0.05$). $\bar{x} \pm 2ES$. Se utilizaron 5 ninfas para los experimentos.

En la fase de prealimentación los grupos de estudio no muestran diferencias significativas en sus periodos de actividad. Por otro lado, en el grupo postalimentación los grupos control muestran diferencias significativas entre ellos, donde el grupo control (“con jaula vacía”) muestra un menor periodo de actividad en comparación con el grupo control (“sin nada”) y el grupo experimental muestra un mayor periodo de actividad en comparación a sus controles.

Los resultados coinciden con los mostrados en la Figura 3.2. No hay cambios en los periodos de actividad de los triatóminos en la fase de prealimentación. En la fase postalimentación, en presencia del hospedero los triatóminos muestran un mayor periodo de actividad. Este aumento de actividad lo atribuimos a que las ninfas aún pueden estar en busca de alimento.

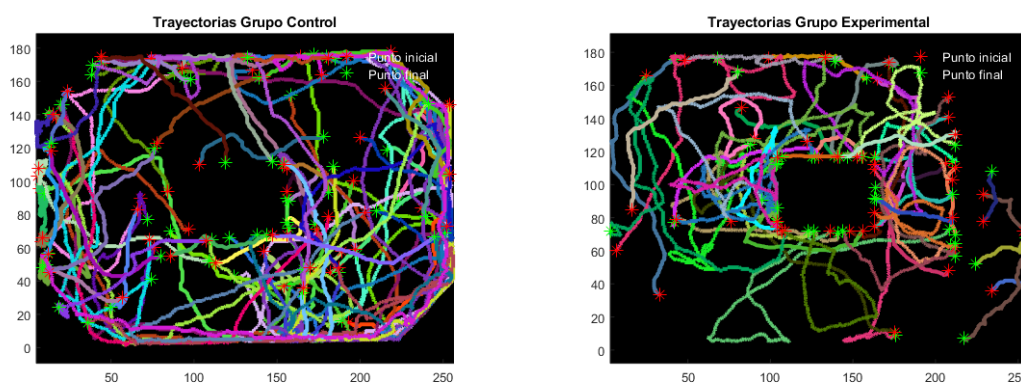
Las diferencia en la rapidez y el periodo de actividad en los grupos control, no está relacionada con la presencia de la jaula de acrílico, más bien se debe a la disminución de actividad que presentan los triatóminos después de alimentarse.

En estudios previos se han observado cambios morfológicos durante la alimentación en algunas especies de triatóminos, como es la distensión abdominal. Esta característica se presenta desde las etapas ninfales hasta la edad adulta [29]. En estudios anteriormente realizados, se ha calculado esta distensión abdominal en ninfas de 4° y 5° estadio de la especie *T. infestans* después de cada comida. La relación WL entre el peso corporal (miligramos) y la longitud corporal (milímetros) fue utilizado como índice nutricional de los triatomino y se correlaciono con el tiempo en que fueron alimentados. Así mismo, se observo que está inversamente relacionado con el nivel de actividad [31]. Por lo que, de acuerdo a los resultados obtenidos el aumento de grosor en los triatóminos es un factor de la disminución en la velocidad y del periodo de actividad en la fase de postalimentación.

Usualmente, los experimentos realizados con diferentes especies de triatóminos mediante estudios de campo abierto tienen una duración de 2 a 5 minutos [7, 23]. Por lo que se estableció un tiempo de 4 minutos para la grabación de los vídeos. Sin embargo, a partir de los resultados obtenidos en las Figuras 3.1 y 3.3 no logramos observar un patrón ó un cambio evidente en el comportamiento de los triatóminos tanto en presencia como en ausencia del hospedero, ya que las trayectorias obtenidas a partir de estos vídeos sólo abarcan una sección pequeña de la caja. Por lo tanto, se estableció aumentar el tiempo de grabación a una hora, de esta forma se les permitió un mayor tiempo de exploración a los triatóminos y un mejor análisis acerca de su comportamiento.

3.2. Resultados (vídeos con una duración de 1 hora)

La Figura 3.4 muestra las trayectorias reconstruidas de los vídeos con duración de una hora. La Figura 3.4 (a) presenta las trayectorias para el grupo control prealimentación y el inciso (b) el grupo experimental prealimentación. En el grupo control los triatóminos tienden a caminar por las orillas de la caja, a diferencia del grupo experimental donde se mueven frecuentemente en áreas céntricas de la caja o en la periferia de la jaula de acrílico. El inciso (a) de la Figura 3.4 se observa un patrón de comportamiento en los animales e insectos al ser colocados en un área desconocida en ausencia de un estímulo. Al aumentar el tiempo de grabación de los vídeos, incremento el número de trayectorias extraídas y su longitud, lo cual permitió obtener información mas contundente acerca del comportamiento de los triatóminos.



(a) Grupo control prealimentación

(b) Grupo experimental prealimentación

Figura 3.4: Registro de trayectorias de 8 ninfas de *T. lecticularia* en ausencia y presencia del hospedero. Los ejes x y y representan las dimensiones de la caja las cuales se encuentran pixeles donde $1 \text{ pixel} = 2.91 \text{ pixels}$. Los puntos rojos indican el inicio de cada trayectoria y los puntos verdes donde terminan. Las trayectorias son de 8 chinches en dos vídeos diferentes.

Estos resultados son cualitativos, por lo que se procedió a realizar el análisis cuantitativo mediante el calculo de la media de las distribuciones de la rapidez, de los periodos de actividad e inactividad y de la distancia al centro de la caja. Este último se calculó con la finalidad de observar si evidentemente los triatóminos se acercaban a la jaula de acrílico donde se encontraba el hospedero.

3.2.1. Rapidez promedio

Los resultados de la distribución de probabilidad de la rapidez del grupo control (“con jaula vacía”) y el grupo experimental (“jaula con ratón”) en la fase de prealimentación y postalimentación se muestran en la Figura 3.5.

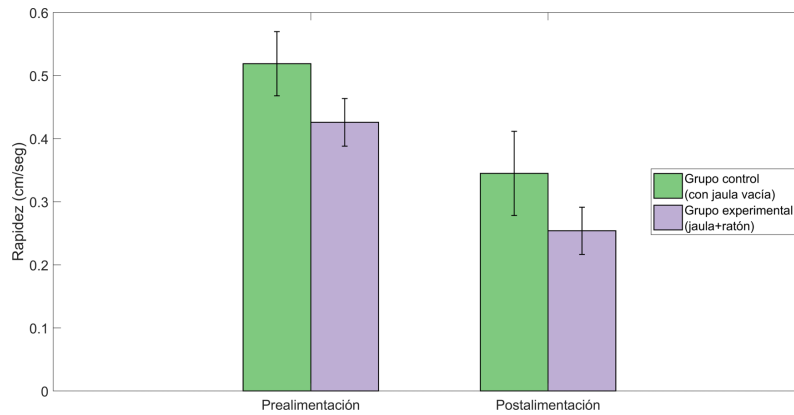


Figura 3.5: Rapidez promedio de los vídeos con duración de 1 hora. El eje x muestra los grupos de estudio prealimentación y postalimentación. El eje y representa el promedio de la rapidez dado en $cm/segundo$. Los asteriscos indican que existen diferencias significativas ($*p < 0.05$). $\bar{x} \pm 2ES$. Se utilizaron 5 ninfas para los experimentos.

Los grupos de estudio en la fase prealimentación y postalimentación no muestran diferencias significativas en su rapidez. Sin embargo, en el grupo experimental de ambas fases se observa una tendencia donde su rapidez es menor con respecto a la de sus grupos control. Estas observaciones contradicen lo esperado observar en presencia del estímulo [30, 32], lo cual se discutirá más adelante.

También, se observa en la fase de postalimentación una menor rapidez en comparación con la fase de prealimentación. Esta característica se presenta debido a que los triatóminos después de alimentarse experimentan un aumento de grosor en la parte abdominal, por lo que su locomoción disminuye y por lo tanto la rapidez con la que se mueven [31].

3.2.2. Promedio de los periodos de actividad e inactividad

El patrón de locomoción observado en las ninfas alternó caminatas rápidas con lentas o la ausencia total de movimiento. Por lo que, para conocer los periodos de actividad e inactividad de las ninfas en ausencia y presencia de la fuente de alimento, así como en sus diferentes fases del ciclo de alimentación (pre y postalimentación) nuevamente se calculó el promedio de los periodos de actividad e inactividad .

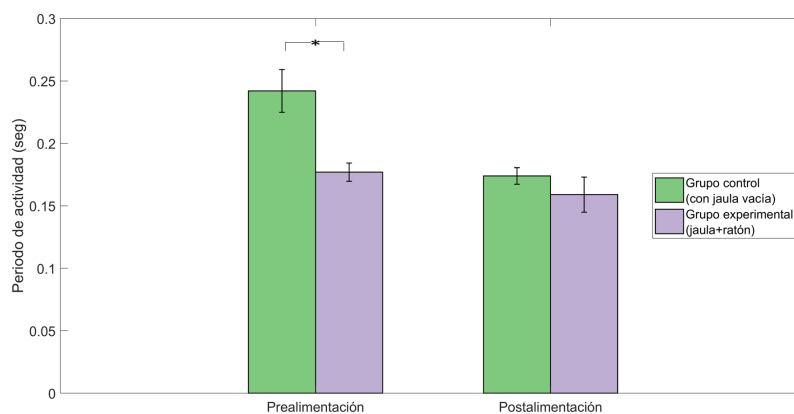


Figura 3.6: Promedio del periodo de actividad de los vídeos con duración de 1 hora. El eje x muestra los grupos de estudio prealimentación y postalimentación. El eje y representa el promedio del periodo de actividad dado en *segundos*. Los asteriscos indican que existen diferencias significativas ($*p < 0.05$). $\bar{x} \pm 2ES$. Se utilizaron 8 ninfas para los experimentos.

El análisis mostró una diferencia significativa en los grupos en la fase de prealimentación. El grupo experimental presenta un periodo de actividad menor (0.177seg) en comparación con su grupo control (0.242seg). En la fase postalimentación no se mostraron diferencias significativas entre los grupos.

Los resultados obtenidos del promedio del periodo de inactividad para ambas fases se muestra en la Figura 3.7.

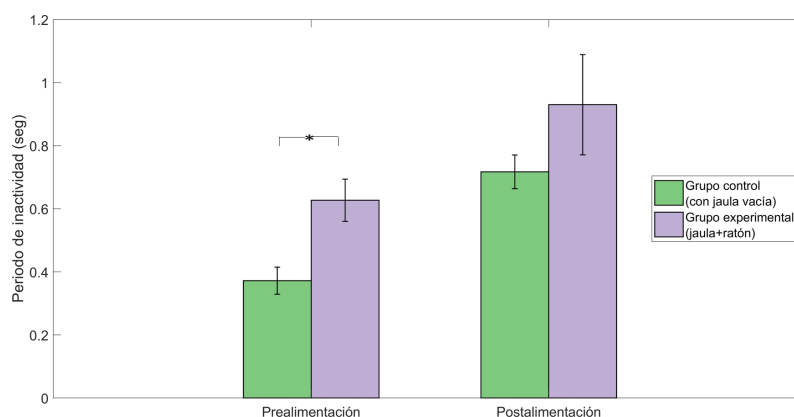


Figura 3.7: Promedio del periodo de inactividad de los vídeos con duración de 1 hora. El eje x muestra los grupos de estudio prealimentación y postalimentación. El eje y representa el promedio del periodo de inactividad dado en *segundo*. Los asteriscos indican que existen diferencias significativas ($*p < 0.05$). $\bar{x} \pm 2ES$. Se utilizaron 8 ninfas para los experimentos.

Al igual que los resultados mostrados en la Figura 3.6, en la fase de prealimentación el grupo experimental muestra diferencias significativas respecto a su grupo control. El grupo experimental presenta un periodo de inactividad mayor (0.627 *seg*) en comparación con el grupo control (0.372 *seg*).

Por otro lado, la fase postalimentación no presenta diferencias significativas, no obstante se muestra una tendencia en donde el periodo de inactividad en el grupo experimental es mayor en comparación a su grupo control. Comparando ambas fases se observa que la fase postalimentación cuenta con un periodo de inactividad mayor en comparación con la fase de prealimentación.

Los resultados de la Figura 3.5 coinciden con los resultados mostrados en las Figuras 3.6 y 3.7. Los grupos experimental en ambas fases presentan una menor rapidez y por lo tanto un menor periodo de actividad y un mayor periodo de inactividad en comparación con sus respectivos grupos control.

El aumentar el tiempo de grabación y el número de sujetos de estudio permitió extraer un mayor número de trayectorias, lo cual optimizó el análisis sobre el comportamiento de los triatóminos. *T. lecticularia*, al igual que otras especies de triatóminos son de hábitos nocturnos. Su actividad nocturna se relaciona principalmente con dos factores. El primero se debe a la exposición a altas temperaturas y a la radiación solar, los cuales pueden ser fatales para los triatóminos. El segundo factor es que algunos hospederos de estos insectos se encuentran activos durante el día, por lo que es más fácil para los triatóminos alimentarse cuando estos se encuentran dormidos y desprevenidos [29]. Se han realizado diferentes estudios acerca de su motilidad a diferentes horas del día y la noche, observando que presentan una mayor periodo de actividad durante la noche [29, 31]. Los ensayos aquí presentados se llevaron a cabo en la oscuridad, ya que los triatóminos se encuentran en un periodo invertido (12/12). Las ninfas al ser introducidas en el arreglo experimental en ausencia de un estímulo caminaban a menudo por las orillas del arreglo, y de manera atípica se movían en la zona céntrica de la caja sin alguna dirección en particular. Este comportamiento se ha observado en otros animales e insectos al ser introducidos en un área confinada desconocida [19, 28]. Asimismo, presentaron una rapidez y un periodo de actividad mayor en comparación al grupo de prueba. Al no existir estímulos (olores, químicos, CO_2 , etc) que las atraiga a una sitio en particular dentro del arreglo, las ninfas exploran el área en busca de un refugio o de una fuente de alimento, lo cual se ha observado en trabajos anteriormente realizados donde los triatóminos en ausencia de un estímulo no muestran una dirección preferente en su locomoción [7, 22, 32].

Por otro lado, las ninfas muestran una disminución en su rapidez y periodos de actividad, así como un aumento en sus periodos de inactividad cuando se encuentran en presencia del hospedero. Estos resultados contradicen las observaciones realizadas en ninfas de las especies *R. prolixus*, *T. infestans* y *P. geniculatus* en presencia de diferentes estímulos y hospederos [22, 24]. Sin embargo, durante los ensayos las ninfas se acercaban a la jaula de acrílico donde se encontraba el ratón y permanecían

ahí por periodos largos, lo cual permite inferir sobre los periodos de actividad e inactividad presentados. Asimismo, al existir una fuente de alimento puntual, los triatominos caminaban en dirección a esta y no permanecían explorando la caja. Algunos triatominos caminaban de manera directa a la jaula y permanecían quietos o se movían en la periferia de esta; otros triatominos presentaban una caminata intermitente, con periodos donde se detenían antes de llegar a la jaula. Este comportamiento ha sido observado en otros estudios como el realizado por J. Taneja y P. M. Guerin (1995), donde la caminata de los triatominos de la especie *T. infestans* presentaba una velocidad constante, y periodos de movimiento seguidos por interrupciones abruptas para orientarse en dirección al estímulo.

Los triatóminos después de ser alimentados muestran una menor rapidez, un menor periodo de actividad y un mayor periodo de inactividad. Estos resultados, concuerdan con las observaciones de B. Settembrini (1984) donde los triatóminos de la especie *T. infestans* mostraron una menor actividad después de la alimentación. Esto, debido a la distensión abdominal que presentan los triatóminos después de cada comida. En el trabajo realizado por B. Settembrini encontró que los triatóminos con un mayor engrosamiento, indicando por la relación W/L (mg/mm), son menos activos. Los triatóminos en la fase de postalimentación mostraron esta distensión abdominal, por lo que las observaciones mencionadas concuerdan con los resultados de las Figuras 3.6 y 3.7. Por otro lado, se observó que algunos triatóminos defecaron durante los experimentos en la fase de postalimentación. En trabajos previos se ha observado una feromona en las heces frescas de ninfas de las especies *R. prolixus* y *T. infestans*, la cual provocó la activación en ninfas sin haber sido alimentadas y detuvo la locomoción de las ya alimentadas [33], a lo que aludimos como otro factor determinante en el decremento de la actividad de los triatóminos en base a los resultados obtenidos.

3.2.3. Distribución de probabilidad de la distancia al centro

La distribución de probabilidad de la distancia al centro permitió obtener un análisis cuantitativo de la aproximación de los triatóminos a la jaula de acrílico en ambas fases del ciclo de alimentación. Los resultados se presentan a continuación en la Figura 3.8.

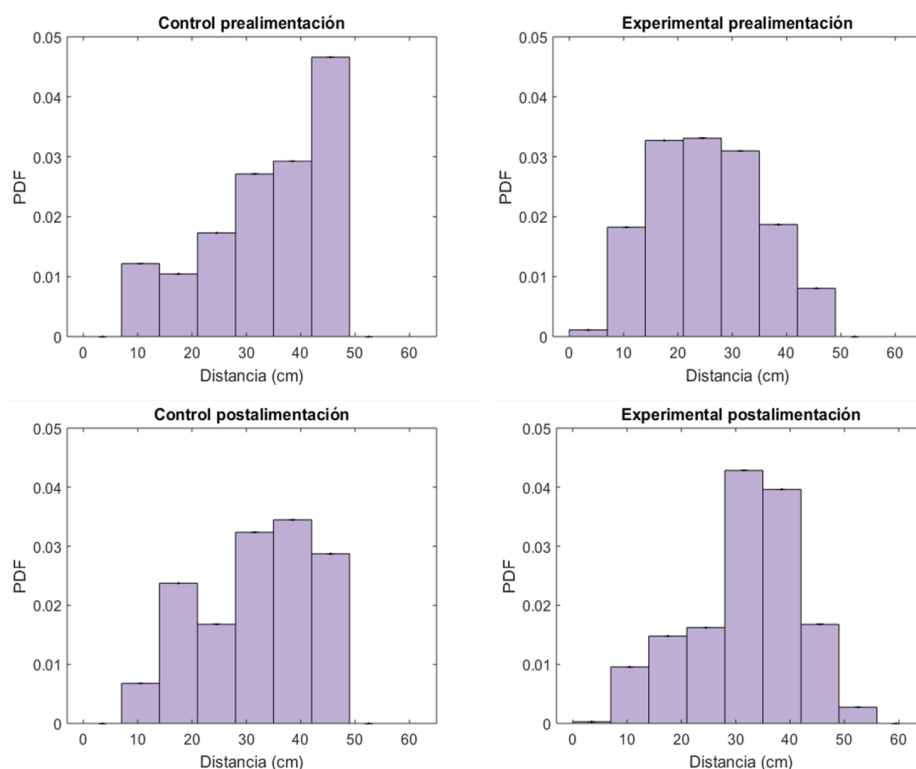


Figura 3.8: Distribución de probabilidad de la distancia al centro de los vídeos con duración de 1 hora. El eje x muestra la distancia dada en cm . $\bar{x} \pm 2ES$. El 0 corresponde al centro del arreglo donde se encuentra la jaula de acrílico, conforme aumenta la distancia se aleja de este y se acerca a las orillas de la caja. Las dos primeras gráficas muestran los resultados obtenidos del grupo control y de prueba en la fase prealimentación, por otro lado la tercera y cuarta gráfica muestran los resultados para la fase postalimentación.

Las dos primeras gráficas presentan los resultados para el grupo control y experimental de la fase de prealimentación. Para el grupo control (“con jaula vacía”) los triatóminos se mueven la mayor parte del tiempo en las orillas y de manera ocasional caminan en el centro del arreglo. Por otro lado, en el grupo de prueba los triatóminos se mantuvieron mayormente cerca de la jaula de acrílico (con el ratón).

El grupo experimental tiende a acercarse o a encontrarse a distancias cortas de la jaula de acrílico con una mayor probabilidad en comparación con su grupo control.

Del análisis de la distribución de probabilidad de la distancia al centro en la fase de postalimentación, se obtuvieron para el grupo control y de prueba distribuciones con una moda de 40 cm. En esta fase, los triatóminos no se encuentran cerca ni lejos de la jaula con el ratón. No hay diferencias marcadas en ambos grupos.

Ambas fases del ciclo de alimentación muestran una diferencia en su comportamiento. En la fase de prealimentación los triatóminos muestran un mayor periodo de actividad, un menor periodo de inactividad (Figuras 3.6 y 3.7) y se muestran mayormente atraídos por la fuente de alimento en comparación con la fase de postalimentación.

A partir de los resultados obtenidos se observa de manera cuantitativa en la fase de prealimentación que los triatóminos en ausencia de un estímulo pasan la mayor parte del tiempo en las paredes de la caja. En presencia de la fuente de alimento los triatóminos se acercaron al centro del arreglo donde se encontraba la fuente, al igual que en estudios previos donde los triatóminos se han visto atraídos por diferentes estímulos provenientes de hospederos [7, 22, 30, 32].

Como se menciona anteriormente, los triatóminos después de ser alimentados mostraron una distensión abdominal característico de estos insectos. Algunos triatóminos mostraron un mayor incremento en su distensión abdominal que otros. Durante los experimentos para el grupo de prueba en la fase postalimentación ciertos triatóminos se acercaron a la jaula con el ratón a pesar de haber sido alimentados, al no tener una forma cuantitativa de medir este grosor y de conocer si los triatóminos se encuentran satisfechos, podría ser que algunos de estos aún se encuentren en la búsqueda de alimento. Sin embargo, en los resultados presentes no se observa un cambio marcado en el comportamiento del grupo experimental con respecto a su

grupo control. Además, se distinguió en esta fase una disminución en la actividad de los triatóminos en comparación con la fase de prealimentación. Se ha encontrado en diferentes estudios que la actividad de los triatóminos aumenta conforme aumenta el hambre [31], por lo que también explica el decremento en la actividad en esta fase. En la vida silvestre los triatóminos buscan un sitio donde refugiarse después de alimentarse, los cuales usualmente se encuentra cerca del lugar donde reside el hospedero, esto como protección ante depredadores, ya que durante el tiempo de digestión se dificulta su motilidad [32]. Por lo que, en el grupo postalimentación, su actividad puede estar mayormente relacionada en el proceso de digestión y en su búsqueda de refugio.

Los resultados obtenidos a partir de los vídeos de 4 minutos no brindaron la información suficiente acerca del comportamiento de las ninfas en ausencia y presencia del hospedero. En la fase de prealimentación no se muestran cambios en la locomoción de los triatóminos en los tres grupos de estudio, a diferencia de los resultados obtenidos de los vídeos de una hora. Los resultados de la fase de postalimentación contradicen los resultados de los vídeos de una hora. Sin embargo, estos últimos proporcionaron trayectorias más largas que abarcan toda la caja del arreglo experimental y un tiempo de observación mayor, por lo tanto permitieron realizar un análisis y conclusiones acerca del comportamiento de las ninfas de segundo estadio de la especie *T. lecticularia*.

Capítulo 4

Conclusiones y perspectiva

En el presente trabajo se determinó que es posible la construcción y realización de una prueba de campo abierto para el estudio de la motilidad de los triatóminos de la especie *T. lecticularia*. Además, se examinaron y establecieron diferentes condiciones experimentales como la iluminación, para mantener a los triatóminos dentro de su ciclo circadiano; el tiempo de adaptación al entorno antes de la toma de cada vídeo y el tiempo de grabación, considerando que este sea el adecuado para que los triatóminos exploren el entorno.

A partir de trabajos previos acerca de la locomoción de diferentes especies de triatóminos ante diferentes estímulos y de los resultados obtenidos, es posible especular respecto al comportamiento de las ninfas de segundo estadio cuando estas se encuentran en ausencia y presencia de un hospedero:

1. Al haber mínimas variaciones en la rapidez, tiempo de activación y tiempo de inactivación para ambos grupos control (con nada y con jaula) indica que los triatóminos no se ven atraídos por la jaula vacía y un cambio en su comportamiento no se debe a la presencia de esta.
2. En ausencia del estímulo los triatóminos caminan la mayor parte del tiempo en las orillas del arreglo confinado, explorando el entorno en busca de refugio o alimento.

3. Existe un cambio en la actividad de los triatóminos antes y después de comer. En la fase de prealimentación se encuentran más activas al presentar una mayor rapidez, periodo de actividad y un menor periodo de inactividad en comparación con la fase de postalimentación.
4. Después de alimentarse los triatóminos buscan refugio o permanecen pasivos la mayor parte del tiempo.
5. La actividad de los triatóminos crece conforme aumenta su hambre. La disminución en su actividad después de comer se debe a características como la distensión abdominal, lo cual complica su movimiento y a la excreción de heces durante los experimentos.
6. Las ninfas se ven atraídas por la fuente de alimento. Antes de ser alimentadas, tienden acercarse al hospedero y a permanecer cerca de este durante periodos largos de tiempo. A pesar de haber sido alimentadas las ninfas aún responden ante la presencia del estímulo.

Finalmente, para trabajos futuros se propone calcular el ángulo de dirección de las trayectorias seguidas por los triatóminos así como trabajar con el 3°, 4°, 5° estadio y etapa adulta de los triatóminos de la especie *T. lecticularia*; además sería importante utilizar diferentes especies de hospederos y analizar si los triatóminos muestran una predilección por cierto tipo de hospederos y extender el estudio de la motilidad de los triatóminos ante diferentes concentraciones de CO_2 y temperaturas.

Bibliografía

[1] Schofield C., Dias J. (1999). The southern cone initiative against Chagas disease. *Adv Parasitol* 42:1-27.

[2] Pérez de Ayala A., Pérez J., Navarro M., López R. (2009) Enfermedad de Chagas en personas procedentes de latinoamérica residentes en España. MINISTERIO DE SANIDAD Y POLÍTICA SOCIAL. Madrid, España.

[3] Pereira de Souza A., Sieberg R., Li H., Cahill H., Zhao D., Tania C., Araújo J., Tanowitz H., Jelicks L. (2010). The role of selenium in intestinal motility and morphology in a murine model of *Typanosoma cruzi* infection. *Parasitol Res* 106:1293–1298.

[4] Marie C., Halliez M., and Buret A. (2015). Gastrointestinal Parasites and the Neural Control of Gut Functions. doi:10.3389/fncel.2015.00452.

[5] Brandt de Oliveira R., Troncon L., Dantas R. and Meneghelli U. (1998). Gastrointestinal Manifestations of Chaga's Disease. *American Journal of Gastroenterology* 93, 884–889.

[6] Uribarren T. (2018). Enfermedad de Chagas. *Departamento de Microbiología y Parasitología - Recursos en Parasitología*. <http://www.facmed.unam.mx>

[7] Barrozo R., Lazzari C. (2003). Orientación al hospedador en la vinchuca *Triatoma infestans* (Heteroptera : *Reduviidae*) : claves sensoriales responsables. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

[8] Esteban L., Angulo v. (2010). Variabilidad morfológica entre poblaciones de *Triatoma dimidiata* (Latreille 1811), procedentes de cuatro departamentos de Colombia. Universidad Nacional de Colombia, Medellín.

- [9] Martínez J., Alejandre R., Paredes E., Martínez M., Solorio M., Noguera B., Trujillo F., Novelo M. Biology of three species of North American Triatominae (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) fed on rabbits. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Vol. 102(8): 925-930.
- [10] Vidal V., Ibáñez S., Martínez C. (2000). Infección natural de chinches Triatominae con *Trypanosoma cruzi* asociadas a la vivienda humana en México. 42:496-503.
- [11] Lehane, M. (2005). *The Biology of Blood-Sucking in Insects*. Liverpool School of Tropical Medicine. Cambridge University press.
- [12] Sutcliffe, J. (1987). Distance Orientation of biting flies to their hosts. *Insect Sci. Applic.* Vol. 8, Nos 4/5/6, pp. 611-616.
- [13] Gürtler R., Ceballos L., Ordóñez-Krasnowski P., Lanati L., Stariolo R., Kitron U. (2009). Strong Host-Feeding Preferences of the Vector *Triatoma infestans* Modified by Vector Density: Implications for the Epidemiology of Chagas Disease. *PLoS Negl Trop Dis* 3(5): e447. doi:10.1371/journal.pntd.0000447.
- [14] Farfán-García, A, Angulo-Silva V. Conducta alimentaria de poblaciones de *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) en una zona endémica y sus implicaciones epidemiológicas. *Salud pública*. 13 (1): 163-172.
- [15] Wigglesworth V., Gillett J., (1934). The function of the antennae in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera) and the mechanism of orientation to the host. *The Journal of Experimental Biology* 11, 120-139.
- [16] Friend WG, Smith JJ. Fisiología de los triatóminos con especial referencia a la alimentación por sangre. *Factores biológicos y ecológicos en la enfermedad*

de Chagas. Tomo I. Epidemiología-vectores. Washington: OPS/OMS; 1985. p. 55-81.

[17] Cholerisa E., Thomasb A., Kavaliersa M., Pratob F. (2001). A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 25: 235-260.

[18] Gould, D. Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice. Characterization Using Behavioral Tests. University of Maryland School of Medicine, Baltimore, MD, USA. Humana Press.

[19] Valente D., Golani I., Mitra P. (2007). Analysis of the Trajectory of *Drosophila melanogaster* in a Circular Open Field Arena. *PLoS ONE* 2(10):e1083. doi:10.1371/journal.pone.000108.

[20] Soibam B., MLiu L., Jlobaina M., YGunaradne G., SRoman G. (2012). Open-field arena boundary is a primary object of exploration for *Drosophila*. *Brain and Behavior* 2(2):97-108.

[21] Bettencourt B., Bireland A., MSmrtic E. Natural variation in *drosophila* stressed locomotion meets or exceeds variation caused by Hsp70 mutation: Analysis of behavior and performance.(2009). *Behavior Genetics* 39(3): 306-320.

[22] Otálora-Luna F., Guerin P. (2014). Amines from vertebrates guide triatomine bugs to resources. *Journal of Insect Physiology* 71, 52-60.

[23] Lazzari C., Núñez A. (1989). The response to radiant heat and the estimation of the temperature of distant sources in *Triatoma infestans*. *J. Insect Physiol.* Vol. 35: 525-529.

- [24] Núñez J. (1982). Food source orientation and activity in *Rhodnius prolixus* Stal (Hemiptera: Reduviidae). *Bull. ent. Res.* 72, 253-262.
- [25] PicoLab (2009). PicoLab Rodent Diet 20 5053. www.labdiet.com
- [26] Berg H. (1993). *Random Walks in Biology*. USA, New Jersey. Princeton University Press.
- [27] Codling E., Plank M., Benhamou S. (2008). Random walk models in biology. *J. R. Soc. Interface* 5, 813–834. doi:10.1098/rsif.2008.0014.
- [28] Archer J. (1973). Tests for emotionality in rats and mice: a review. *Anita. Behav.*, 21, 205-235.
- [29] Schofield J. (1979). The behaviour of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): a review. *Bull. ent. Res.* 69, 363-379.
- [30] Flores G., Lazzari C. (1996). The Role of the Antennae in *Triatoma infestans*: Orientation Towards Thermal Sources. *J. Insect Physiol.* Vol. 42, No. 5, pp. 433-440.
- [31] Settembrini B. (1984). Circadian rhythms of locomotor activity in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *J. Med. Entomol.* Vol. 21, no. 2:204-212.
- [32] Taneja J., Guerin M. (1995). Oriented responses of the triatomine bugs *Rhodnius prolixus* and *Triatoma infestans* to vertebrate odours on a servosphere. *J Comp Physiol* 176:455-464.
- [33] Friend G., Smith B. (1977) Factors affecting feeding by bloodsucking insects. *Ann. Rev. Entomol.* 22:309-31.