



**Universidad Nacional de Córdoba**  
**Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales**  
**Carrera de Ciencias Biológicas**

**“Efectos de diferentes dosis subletales de deltametrina sobre la inestabilidad en el desarrollo de alas y la eficiencia reproductiva en *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae, Triatominae).”**

**Tesinista:** Bárbara Emilse Mestrallet Carranza

Firma:

**Directora:** Julieta Nattero

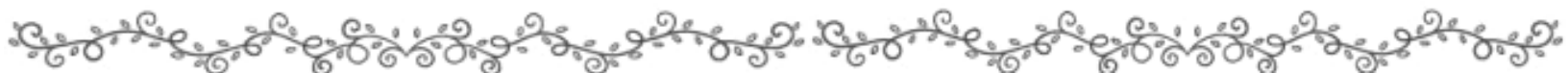
Firma:

**Co-directora:** Claudia Rodríguez

Firma:

**Lugar de trabajo:** Cátedra Introducción a la Biología

Córdoba  
Año 2018



**“Efectos de diferentes dosis subletales de deltametrina sobre la inestabilidad en el desarrollo de alas y la eficiencia reproductiva en *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae, Triatominae).”**

Tribunal Examinador

Nombre y Apellido: ..... Firma:

Nombre y Apellido: ..... Firma:

Nombre y Apellido: ..... Firma:

Calificación: .....

Fecha: .....

Este trabajo fue escrito de acuerdo a las normas de publicación de la  
Revista *Journal of Vector Ecology*.



## ÍNDICE

<u>Resumen</u>	<u>4</u>
<u>Introducción</u>	<u>5</u>
<u>Objetivos</u>	<u>9</u>
<u>Hipótesis</u>	<u>9</u>
<u>Materiales y Métodos</u>	<u>10</u>
1. Cría de ninfas y adultos en laboratorio	10
2. Tratamiento con insecticida	10
3. Eficiencia reproductiva	11
4. Inestabilidad en el desarrollo de alas	12
<u>Resultados</u>	<u>14</u>
1. Eficiencia reproductiva	14
2. Asimetría fluctuante en alas	17
2.1 Asimetría del tamaño del ala	17
2.2 Asimetría de la forma del ala	18
<u>Discusión</u>	<u>20</u>
<u>Bibliografía</u>	<u>23</u>

## RESUMEN

El control químico del vector representa la herramienta de mayor importancia para el manejo de la enfermedad de Chagas en zonas endémicas. El rociado con deltametrina se viene realizando desde hace 30 años. Aún así, la efectividad de este compuesto ha disminuido en la última década a causa de la resistencia adquirida por estos triatominos.

En este trabajo se evaluaron los efectos de diferentes dosis subletales de deltametrina aplicadas en el primer estadio ninfal sobre la estabilidad del desarrollo de alas, y la eficiencia reproductiva de *Triatoma infestans* provenientes de poblaciones susceptibles.

Se utilizaron 500 individuos de primer estadio ninfal distribuidos homogéneamente en tres tratamientos (Tratamiento 0: Control, topicación con acetona pura; Tratamiento 1: topicación con 0,7 ng/insecto de deltametrina; Tratamiento 2: topicación con 1,4 ng/i de deltametrina). Se topicó cada insecto en su abdomen dorsal con 0,2µl de solución, según cada tratamiento y se alimentaron cada 15 días hasta estado adulto. Luego se conformaron 15 parejas de cada tratamiento para evaluar los parámetros reproductivos. Finalmente los insectos se sacrificaron y se extrajeron sus alas para evaluar la inestabilidad durante su desarrollo.

Los resultados obtenidos indican que existen diferencias entre los tratamientos en relación a longevidad de hembras, así como también inicio y fin de la ovipostura. No se observaron diferencias respecto a los demás parámetros reproductivos en hembras. Dosis subletales crecientes de deltametrina aplicadas en el primer estadio ninfal no afectan la estabilidad en el desarrollo de las alas, sin embargo, los machos presentaron mayor asimetría en alas que las hembras.

Considerando conjuntamente parámetros reproductivos e índices de asimetría fluctuante, en este trabajo no se observan diferencias significativas entre tratamientos. Los resultados obtenidos muestran que dosis subletales crecientes de deltametrina aplicadas en el primer estadio ninfal no afectan la estabilidad en el desarrollo de las alas y la eficiencia reproductiva en insectos adultos de *Triatoma infestans*.

## PALABRAS CLAVE

Triatominae, deltametrina, asimetría fluctuante, fecundidad, fertilidad.

## INTRODUCCIÓN

*Triatoma infestans* (Klug, 1834) (Heteroptera: Reduviidae) es un insecto de gran importancia sanitaria en Argentina, debido a su papel como vector de *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 (Trypanosomatida: Trypanosomatidae), agente causante de la enfermedad de Chagas. Esta zoonosis se extiende desde el Sur de Estados Unidos, hasta el Sur de Chile y Argentina. Si bien todos los países comprendidos entre esos límites la presentan, esta enfermedad es más importante en América del Sur por su mayor prevalencia y repercusión clínica. Se calcula que en el mundo hay entre 6 y 7 millones de personas infectadas por *T. cruzi* a pesar de un arduo esfuerzo de control de esta enfermedad.

La distribución geográfica de *T. infestans* es amplia y abarca actualmente gran parte de la región del Gran Chaco americano, es decir, el centro y norte de Argentina, sudeste de Bolivia y centro y oeste de Paraguay (Gorla 2002) (Fig.1).

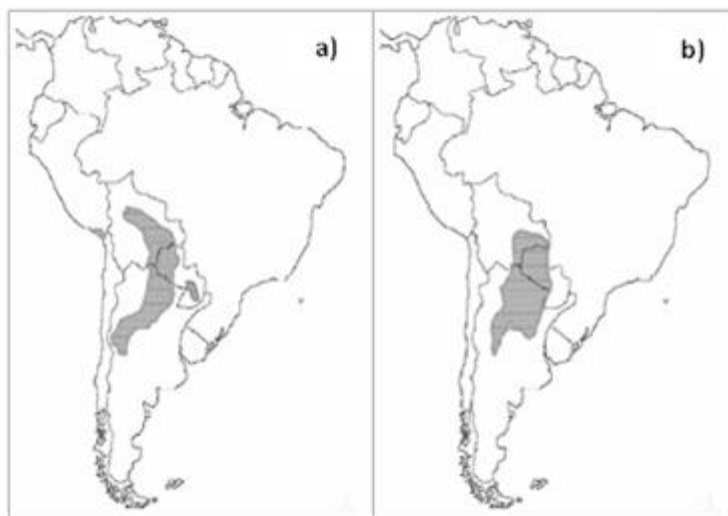


Fig. 1: Distribución actual estimada de *Triatoma infestans* (a) y localización geográfica del Gran Chaco (b) (extraído de Schofield et al. 2006 y Mougabure-Cueto y Picollo 2015).

Este insecto puede desarrollarse en zonas de temperaturas frías. No obstante al tratarse de un insecto de climas cálidos y debido a sus hábitos domiciliarios, el ambiente más propicio para su desarrollo es dentro de las viviendas. Tanto los

estadios ninfales como el adulto son potenciales vectores de Chagas.

Dado que no se conoce cura efectiva o vacuna para esta enfermedad, el control químico del vector representa la herramienta de mayor importancia para el manejo de la patología en las zonas endémicas, mediante la aplicación periódica de insecticidas piretroides con acción residual en las viviendas. El rociado con deltametrina se viene realizando desde hace 30 años, debido a su alta efectividad triatómica y baja toxicidad en humanos (Mougaboure-Cueto y Picollo 2015). Este compuesto, actúa por contacto e ingestión afectando al sistema nervioso de los artrópodos y provocando su muerte. Es usado tanto para el manejo de insectos de importancia sanitaria como para plagas agrícolas. Sin embargo, la efectividad del mismo ha disminuido en la última década a causa de la resistencia adquirida en estos triatominos detectados en diferentes focos de Brasil, Bolivia y Argentina (Mougaboure-Cueto y Picollo 2015).

La resistencia se ha definido como "la capacidad que desarrolla una cepa de insectos para tolerar dosis de tóxicos que resultarían letales para la mayoría de los individuos en una población normal de la misma especie" (Anónimo 1957). Se sugiere que para estos individuos, la presión de selección los llevaría a disminuir su valor adaptativo en ausencia de los insecticidas (Germano 2013). La tolerancia está relacionada con una baja susceptibilidad natural no asociada con la selección por la aplicación de insecticidas, y a diferencia de la resistencia, no tiene un costo adaptativo asociado a la ausencia de insecticida (Mougaboure-Cueto y Picollo 2015). De esta manera, la tolerancia es una característica fenotípica flexible que presenta un genotipo y puede ser evaluada solo midiendo la eficacia reproductiva de ese genotipo en más de un ambiente. Desde un punto de vista epidemiológico, la resistencia y la tolerancia a insecticidas tienen consecuencias similares en términos de las consecuencias sobre la aplicación de insecticida (Mougaboure-Cueto y Picollo 2015).

La asimetría fluctuante (AF) se define como una desviación aleatoria de la simetría perfecta de los rasgos bilaterales y se piensa que surge de una incapacidad para amortiguar el desarrollo contra las perturbaciones ambientales (Van Valen 1962). La

misma es empleada como una medida directa de la inestabilidad del desarrollo y es particularmente ventajosa debido a la facilidad en la identificación de los niveles óptimos (es decir, de simetría perfecta) en comparación a biomarcadores fisiológicos (Beasley et al. 2013).

Las causas identificadas de la inestabilidad del desarrollo en los insectos incluyen variaciones de temperatura, falta de alimentos y contaminación química (Bjorksten et al. 2000, Mpho et al. 2001, Talloen et al. 2004, Vishalakshi y Singh 2008). Si bien en triatomíneos no ha sido evaluado, para otros insectos, existen numerosos compuestos químicos que aumentan esta inestabilidad tanto en laboratorio como a campo (Beasley et al. 2013). Un estudio realizado en *Choristoneura rosaceana* (Harris, 1841) (Lepidoptera: Tortricidae), mostró una mayor disposición a diapausa luego de la exposición a insecticidas (Carrière et al. 1996). La deltametrina también está asociada a un desarrollo temprano de diapausa en *Cydia pomonella* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Tortricidae) (Boivin et al. 2004). Hoffmann (2002), en un estudio con *Helicoverpa punctigera* Wallengren, 1860 (Lepidoptera: Noctuidae), observó que la aplicación de piretroides en larvas, aumentaba el tiempo de desarrollo y asimetría en alas de adultos.

Los compuestos químicos podrían afectar en insectos, no solo el desarrollo morfológico sino también aspectos de la biología como la duración del ciclo biológico y la eficiencia reproductiva. El análisis y estudio de aspectos relacionados con la reproducción contribuyen al conocimiento de la dinámica poblacional, de dispersión y la potencial adaptación a diferentes hábitat (Gurevitz y Ceballos 2006). En Triatominae, los parámetros reproductivos como la fecundidad, el período de oviposición y la fertilidad de los huevos pueden verse afectados por factores tales como la edad, el estado nutricional de los adultos (es decir, la fuente de sangre y la cantidad de sangre ingerida) y el número de apareamientos (Rabinovich 1985, Guarneri et al. 2000, Pires et al. 2004, Daflon-Teixeira et al. 2009).

Los efectos pleiotrópicos de la resistencia a los insecticidas son frecuentes, ya que los genes que aumentan en frecuencia como consecuencia del cambio ambiental y la adaptación generalmente presentan un costo adaptativo (Carrière et al. 1994). En



un estudio realizado con *Culex pipiens* Linnaeus, 1758 (Diptera: Culicidae), se determinó que la resistencia a los insecticidas agotaría las reservas energéticas de estos vectores, reduciendo la energía disponible para otras funciones biológicas y generando compensaciones entre la resistencia a los insecticidas y los rasgos clave del ciclo de vida (Rivero et al. 2011). McCart et al. (2005) realizaron un trabajo en *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Diptera: Drosophilidae) expuestas a DDT, en el cual se demuestra que mecanismos de resistencia a xenobióticos, u otros rasgos de adaptación, pueden no incurrir en costos adaptativos e incluso podrían generar una ventaja en hembras.

Uno de los efectos comúnmente descritos de la resistencia es la variación en la duración del ciclo de vida, que generalmente se expresa como una extensión de ciertas etapas de desarrollo. Tal efecto ha sido descrito para varias especies de insectos, incluyendo *Heliothis virescens* (Fabricius, 1777) (Lepidoptera: Noctuidae) resistente a piretroides y *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) (Campanhola et al. 1991, Martins et al. 2012). Un estudio realizado con *T. infestans* provenientes de Aguaray, Salta, donde se investigó el costo reproductivo y la resistencia a deltametrina, demostró la existencia de este costo expresado como una menor fecundidad, y una menor duración del segundo y tercer estadio ninfal y una extensión del quinto estadio. Los autores también sugieren un efecto maternal ya que estas alteraciones fueron determinadas en hembras resistentes y su progenie independientemente de la susceptibilidad del macho (Germano y Picollo 2015). Para *Rhodnius prolixus* Stål, 1859 (Heteroptera: Reduviidae) se observó que la reproducción tiene un costo, y que la esperanza de vida en adultos está correlacionada negativamente respecto a la fecundidad, indicando la existencia de este costo energético (Sulbarán y Chaves 2006).

Considerando que no se han realizado estudios sobre inestabilidad de alas y eficiencia reproductiva de triatomíneos tratados con deltametrina, la finalidad de este trabajo es evaluar los efectos de diferentes dosis subletales de este insecticida aplicados en el primer estadio ninfal sobre la estabilidad del desarrollo de alas, y su incidencia en los parámetros reproductivos de este vector.

## OBJETIVO GENERAL

Determinar si diferentes dosis subletales de deltametrina afectan la estabilidad en el desarrollo de las alas y la eficiencia reproductiva en insectos adultos de *Triatoma infestans*, provenientes de poblaciones susceptibles.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar si parámetros reproductivos relacionados con la fecundidad y la fertilidad en *Triatoma infestans* varían en función de las diferentes dosis subletales aplicadas.
- Establecer si se presentan diferencias en relación a la cantidad de sangre ingerida y número de huevos puestos entre los grupos tratados con diferentes dosis subletales de deltametrina.
- Determinar si existen diferencias en los niveles de asimetría fluctuante de las alas para las distintas concentraciones subletales de deltametrina aplicadas en el primer estadio ninfal de hembras y machos de *Triatoma infestans*.
- Evaluar si dosis subletales crecientes de deltametrina, aplicadas en el primer estadio ninfal, presentan niveles crecientes de asimetría fluctuante de las alas en hembras y machos de *Triatoma infestans*.

## HIPÓTESIS

- Concentraciones subletales crecientes de deltametrina aplicadas en el primer estadio ninfal tienen consecuencias negativas sobre la eficiencia reproductiva.
- Los niveles de asimetría fluctuante de las alas se verán modificados de acuerdo a las diferentes dosis subletales de deltametrina aplicados y se mostrarán aumentados en relación a las dosis crecientes de deltametrina.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Cría de ninfas y adultos en laboratorio

Se trabajó con 500 ninfas de primer estadio de *T. infestans* de tercera generación en laboratorio, provistos por el Centro de referencia de Vectores (CeReVe, Coordinación Nacional de Vectores), donde fueron alimentados hasta estadio V, cada 15 días, durante un período de 60 minutos, sobre gallina (*Gallus gallus* Linnaeus, 1758) con movimiento restringido, sin anestésiar. Las poblaciones originarias usadas para estos experimentos provienen de ninfas V de la localidad de El Tacuruzal, departamento Güemes, provincia de Chaco. Esta zona rural se caracteriza por presentar áreas cultivadas, principalmente con algodón, cercanas a las viviendas.

A partir del quinto estadio ninfal los insectos se trasladaron al laboratorio de cría de triatomíneos de la FCEFYN (U.N.C), donde fueron sexados (Brewer et al. 1983) y separados en frascos acorde al sexo y tratamiento.

Al mudar al estado adulto, estos triatomíneos, fueron pesados y luego se los alimentó por única vez durante 30 minutos sobre paloma (*Columba livia* Gmelin, 1789) con movimiento restringido. Finalmente se distribuyeron en parejas para realizar las diferentes experiencias acordadas.

En ambos laboratorios, ninfas y adultos se colocaron en frascos de vidrio cilíndrico (500cc), cubierto por una red de nylon y provisto de un papel en posición vertical, y se mantuvieron bajo condiciones controladas de temperatura ( $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), humedad ( $60\pm 10\%$  HR) y fotoperiodo 12 h luz y 12 h oscuridad (8 a 20 h luz).

### 2. Tratamiento con insecticida

Para formar las concentraciones del insecticida se partió de una solución madre de 0,005mg de deltametrina/ml. Solución 1: se tomaron 0,007ml de solución madre y se llevaron a 10ml de acetona (solvente). Solución 2: se tomaron 0,014ml de solución madre y se llevaron a 10ml de acetona.

Se utilizaron 500 individuos de primer estadio ninfal de entre 5-7 días pos muda y

ayunados desde su eclosión. Los mismos fueron distribuidos al azar para constituir tres grupos de entre 160 y 170 insectos con distintos tratamientos. Tratamiento 0 o Control (T0): se topicó cada insecto en su abdomen dorsal con 0,2µl de acetona pura; Tratamiento 1 (T1): se topicó cada insecto en su abdomen dorsal con 0,2µl de solución 1; Tratamiento 2 (T2): se topicó cada insecto en su abdomen dorsal con 0,2µl de solución 2. Para las topicaciones se utilizó una microjeringa automática Hamilton de 10µl. Luego se colocaron en frascos individualizados por tratamiento y fueron mantenidos en condiciones de laboratorio y alimentados hasta su muda a estado adulto.

### *3. Eficiencia reproductiva*

Se seleccionaron adultos para conformar 15 parejas al azar para cada uno de los tratamientos. Los individuos fueron marcados con códigos numéricos y por color (T0: Rojo; T1: Amarillo; T2: Verde), mediante pinturas acrílicas, en su tórax y escutelo. Fueron alimentados por única vez, a partir de los 7 días pos muda. Para cada uno se registró: peso de muda, fecha de muda, peso inicial (pre-alimentación), peso final (post-alimentación), fecha de alimentación y se calculó la ingesta (diferencia entre pesos final e inicial).

Cada pareja se mantuvo en frascos individuales y se controló diariamente, hasta registrar la primer cópula (presencia de espermátóforo), momento en el cual el macho fue retirado del frasco. En algunos casos, estos machos fueron empleados para conformar más de una pareja, por cuestiones de practicidad.

Semanalmente se controlaron los frascos de hembras, registrándose: fechas de posturas, número de huevos puestos y fecha de muerte del insecto. Los huevos fueron colocados en tubos de ensayo plásticos teniendo en cuenta pareja, tratamiento y fecha de ovipostura, a fin de registrar el número de huevos eclosionados.

Estas variables permitieron calcular: número de semanas reproductivas (semanas transcurridas desde la primer y última ovipostura), longevidad (días transcurridos desde que una hembra muda a estado adulto hasta que muere), fecundidad (número

de huevos puestos/hembra), fecundidad específica ( $m_x$ = número medio de huevos/hembra/semana), porcentaje de fertilidad (número de huevos eclosionados/total de huevos puestos) x 100)) e índice de ovipostura (número total de huevos puestos por hembra/longevidad de la hembra en días) (Arévalo et al. 2007). La relación entre la sangre ingerida y la fecundidad se analizó a través del cálculo del valor  $E = (\text{n}^\circ \text{ total de huevos por hembra/peso a la muda de la hembra} \times \text{cantidad total de sangre ingerida por hembra}) \times 1000$  (Chiang y Chiang 1995).

Los datos obtenidos se analizaron a través de estadísticos descriptivos. Debido a que las variables estudiadas no presentaron distribución normal (Test de Shapiro - Wilk W) ni homogeneidad de varianzas (Test de Levene), las comparaciones entre tratamientos fueron analizadas a través de test no paramétricos (Test U de Mann - Whitney y de Kruskal Wallis; Correlación de Spearman, test Exacto de Fisher). La prueba de diferencia de proporciones se utilizó para comparar porcentajes. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas cuando los valores p fueron  $< 0,05$ .

#### *4. Inestabilidad en el desarrollo de alas*

Tanto los triatominos adultos que conformaron parejas como los que no, se emplearon para los análisis morfométricos. Luego de su muerte, se les extrajeron las alas, las cuales fueron conservadas en tubos eppendorf con alcohol al 70%. Posteriormente se montaron en un portaobjetos para ser fotografiadas. Se emplearon un total de 30 machos y 30 hembras para cada tratamiento.

Los estudios de asimetría fluctuante se llevaron a cabo usando una metodología basada en landmarks, herramienta de morfometría geométrica. Se tomaron 10 landmarks por alas siguiendo la propuesta de Gaspé et al. (2012) (Fig. 2). Además se utilizaron los programas: tpsDig versión 1.40 y MorphoJ (disponibles en State University of New York [SUNY] Stony Brook morphometrics), para la digitalización y análisis respectivos.

Análisis de asimetría fluctuante (AF): se tomaron 2 configuraciones de landmarks independientes de cada individuo para cada ala para poder estimar el error de

medición (Palmer 1994). Para el cálculo de AF del tamaño se usaron los CS calculados a partir de las configuraciones de landmarks. Para el cálculo de la AF de tamaño se realizó un análisis de la varianza a 2 vías, mientras que para la conformación se hizo un análisis de la varianza de Procrusto según Palmer (1994). En estos ANOVAs los individuos son incluidos en el análisis con efecto aleatorio y el lado (derecho e izquierdo) con efecto fijo. La interacción individuo x lado provee una medida de la AF y la varianza del residuo entre réplicas y una medida del error de medición. Para cada grupo y por sexo se calcularon los índices de asimetría fluctuante (IAF) tanto para tamaño como para conformación. Los mismos se calculan como la razón entre los cuadrados medios (CM) de los ANOVAs correspondientes para tamaño y conformación sobre el error de medición (EM) obtenido para cada grupo (CM/EM). En el caso de los IAF calculados para conformación, la relación se realizó multiplicando  $\times 10^3$  tanto los CM como el EM ( $CM \times 10^3 / EM \times 10^3$ ).

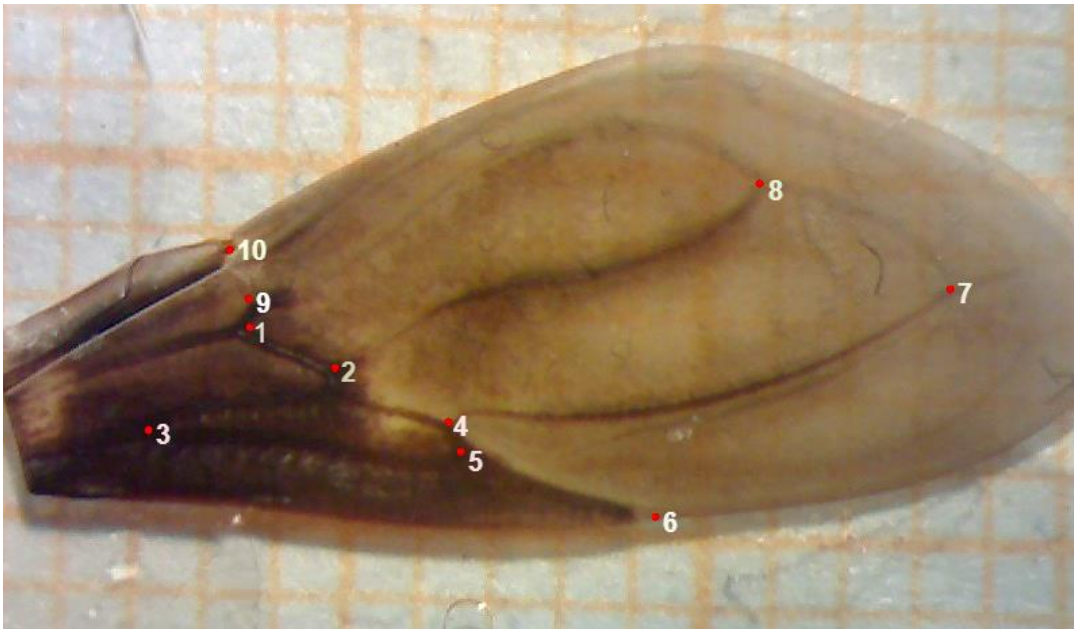


Fig. 2: Ubicación de los 10 landmarks empleados sobre ambas alas para los análisis de AF en hembras y machos de los tratamientos T0, T1 y T2.

## RESULTADOS

### 1. Eficiencia reproductiva.

Se trabajó con 45 hembras (15 para cada tratamiento) y 39 machos (T0= 12; T1= 13; T2= 14) de *T. infestans*. El peso de las hembras cuando mudaron a estado adulto fue en promedio de  $293,16 \pm 49,68$  mg sin diferencias significativas entre tratamientos (H= 3,891; GL= 2; p= 0,143). Los machos presentaron diferencias (H= 9,316; GL= 2; p= 0,01), siendo los del T0 más pesados al momento de la muda ( $292,25 \pm 35,12$  mg) que los del T1 ( $251,39 \pm 27,07$  mg) (p= 0,007). Los machos del T2 pesaron en promedio  $266,57 \pm 24,04$  mg.

La cantidad de sangre ingerida por las hembras no presentó diferencias significativas entre los tratamientos (H= 1,998; GL= 2; p= 0,368), siendo en promedio de  $219,82 \pm 87,13$  mg. Los machos ingirieron significativamente menos sangre que las hembras ( $171,21 \pm 52,55$  mg) (p= 0,008; U= 685,5) sin diferencias significativas entre tratamientos (H= 0,586; GL= 2; p= 0,746).

En la Figura 3 se observan los valores obtenidos para longevidad de machos y hembras. Las hembras del T1 presentaron una longevidad significativamente menor ( $74,80 \pm 11,22$  días) que las hembras del T0 ( $94,13 \pm 22,76$  días) y que las del T2 ( $97,60 \pm 139$  días) (H= 13,475; GL= 2; p= 0,001). No se observaron diferencias entre tratamientos para la longevidad de los machos, con un promedio de  $78,33 \pm 18,74$  días (H= 1,053; GL= 2; p= 0,591).

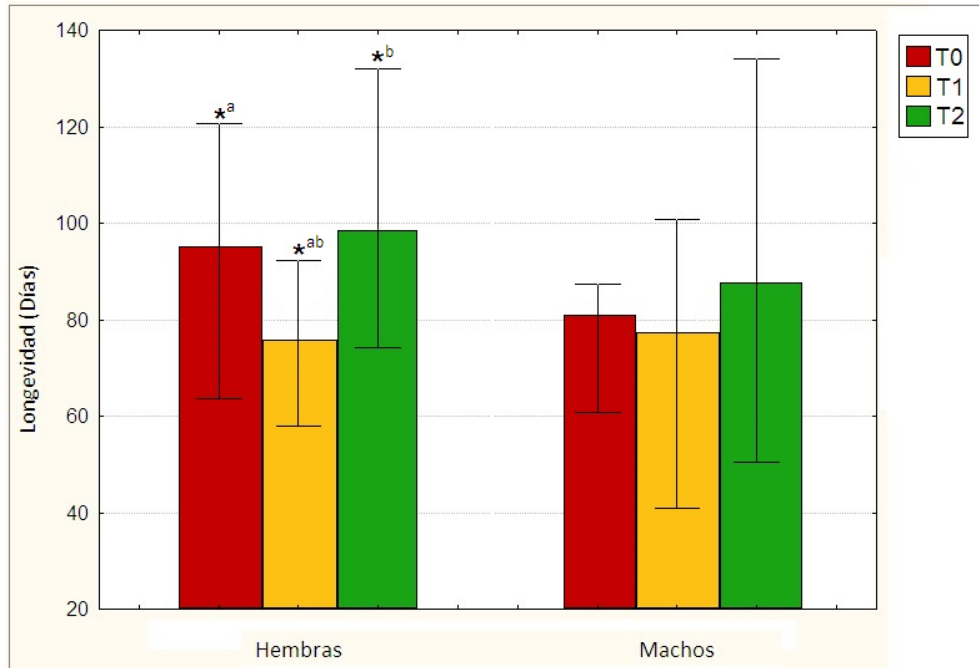


Fig. 3: Longevidad (días) de hembras y machos de *Triatoma infestans* para los diferentes tratamientos con insecticida. Tratamiento 0: control; Tratamiento 1: topicación con 0,7 ng/insecto de deltametrina; Tratamiento 2: topicación con 1,4 ng/i de deltametrina. Se consideran diferencias significativas entre tratamientos aquellos señalados con \* (Test de Kruskal-Wallis -  $p < 0,05$ ).

En la Tabla I se muestran los valores medios obtenidos para las diferentes variables reproductivas analizadas para las hembras de *T. infestans* sometidas a diferentes tratamientos con insecticida. Las hembras del T1 iniciaron y finalizaron la ovipostura significativamente antes que las del T2 ( $p = 0,016$  y  $p = 0,006$ , respectivamente).

El Índice de ovipostura que corresponde a la relación entre el número de huevos puestos y la longevidad de la hembra, no presentó diferencias significativas entre tratamientos ( $H = 0,8$ ;  $p = 0,671$ ), siendo en promedio de  $17 \pm 9,67$  huevos/día.

Debido a que se hallaron diferencias significativas entre tratamientos para el inicio y fin de la ovipostura y longevidad, se utilizó la prueba de correlación de Spearman para determinar si existía relación entre estas variables. Los coeficientes de correlación obtenidos fueron significativos, siendo el valor  $R = 0,66$  ( $p < 0,001$ ;  $n = 45$ ).



para longevidad e inicio de ovipostura y el valor  $R= 0,79$  ( $p< 0,001$ ;  $n= 45$ ) para longevidad y fin de ovipostura.

TABLA I

Parámetros reproductivos de hembras de *Triatoma infestans* pertenecientes a los tratamientos con insecticida.

Variable	Tratamientos			valores p	valores H
	T 0	T 1	T 2		
	Media $\pm$ DS (Mín-Máx) n=15	Media $\pm$ DS (Mín-Máx) n=15	Media $\pm$ DS (Mín-Máx) n=15		
<b>Inicio Ovipostura (Días)</b>	57,133 $\pm$ 18,554 (34-93)	46,800 $\pm$ 17,387 (18-84)*	69,933 $\pm$ 22,964 (41-114)*	0,021*	7,753
<b>Fin Ovipostura (Días)</b>	74,267 $\pm$ 19,487 (45-118)	58,267 $\pm$ 17,633 (25-92)*	85,867 $\pm$ 25,354 (57-139)*	0,007*	9,815
<b>Semanas Reproductivas</b>	3,400 $\pm$ 2,131 (1-7)	2,533 $\pm$ 1,506 (1-6)	3,133 $\pm$ 14 (1-14)	0,487	1,440
<b>Fecundidad (n° Huevos/hembra)</b>	18,200 $\pm$ 8,858 (3-31)	14,800 $\pm$ 6,120 (5-23)	17,933 $\pm$ 14,033 (82-58)	0,528	1,279
<b>Fecundidad Específica (mx) (n° huevos/hembra/Semana)</b>	7,288 $\pm$ 5,839 (2,333-24)	7,551 $\pm$ 4,840 (1,667-19)	7,754 $\pm$ 5,676 (2-21)	0,902	0,207
<b>Valor E (n° huevos/mg de sangre)</b>	0,243 $\pm$ 0,106 (0,083-0,448)	0,350 $\pm$ 0,250 (0,079-1,02)	0,293 $\pm$ 0,192 (0,059-0,648)	0,730	0,628
<b>Fertilidad (%)</b>	44,544 $\pm$ 49,360 (0-100)	42,667 $\pm$ 48,912 (0-100)	31,149 $\pm$ 46,266 (0-100)	0,545	1,213
<b>Inicio Cópula (Días)</b>	11,933 $\pm$ 4,667 (4-20)	14,267 $\pm$ 8,795 (4-36)	14,867 $\pm$ 7,230 (4-32)	0,621	0,954

Tratamiento 0: control; Tratamiento 1: topicación con 0,7 ng/insecto de deltametrina; Tratamiento 2: topicación con 1,4 ng/i de deltametrina. Se consideran diferencias significativas entre tratamientos aquellos señalados con \* (Test de Kruskal-Wallis -  $p<0,05$ ).

## 2. Asimetría fluctuante en alas.

### 2.1 Asimetría del tamaño del ala.

Los resultados de las pruebas de ANOVA a dos vías para detectar presencia de AF para el tamaño de las alas en cada grupo se presentan en la Tabla II. Los valores de AF de tamaño varían entre 13,768 y 9,384 para hembras y entre 20,999 y 14,573 para machos. Cuando se comparan entre hembras y machos dentro de cada grupo se observa que los machos presentan consistentemente mayor AF que las hembras (Fig. 4). Para el caso de las hembras, el grupo que presentó mayor AF fue T1, mientras que para machos fue T0.

TABLA II

Resultados para cuadrados medios ( $\times 10^3$  para conformación) de ANOVAs a dos vías y Procrustos para separar asimetría direccional (lado MS) y no direccional (lado MS \* individual) según los diferentes tratamientos para hembras y machos de *Triatoma infestans*.

Tratamiento	Sexo	Tamaño				Conformación			
		Lado	Individuo*Lado	Error	AF	Lado	Individuo*Lado	Error	AF
T0	H	0,001709	0,037***	0,003	10,854	0,07	0,063***	0,019	3,339***
T0	M	0,049629	0,155***	0,007	20,999	0,338***	0,065***	0,012	5,225***
T1	H	0,007586	0,022***	0,002	13,768	0,179***	0,041***	0,012	3,562***
T1	M	0,10737**	0,013***	0,001	14,573	0,229***	0,051***	0,006	9,130***
T2	H	0,000059	0,015***	0,002	9,384	0,282***	0,040***	0,009	4,433***
T2	M	0,000191	0,025***	0,002	16,398	0,270***	0,047***	0,009	5,075***

Tratamiento 0: control; Tratamiento 1: topicación con 0,7 ng/insecto de deltametrina; Tratamiento 2: topicación con 1,4 ng/i de deltametrina. AF: asimetría fluctuante. Se consideran diferencias significativas aquellas señaladas con \* (\*\* p<0,01; \*\*\* p< 0,001).

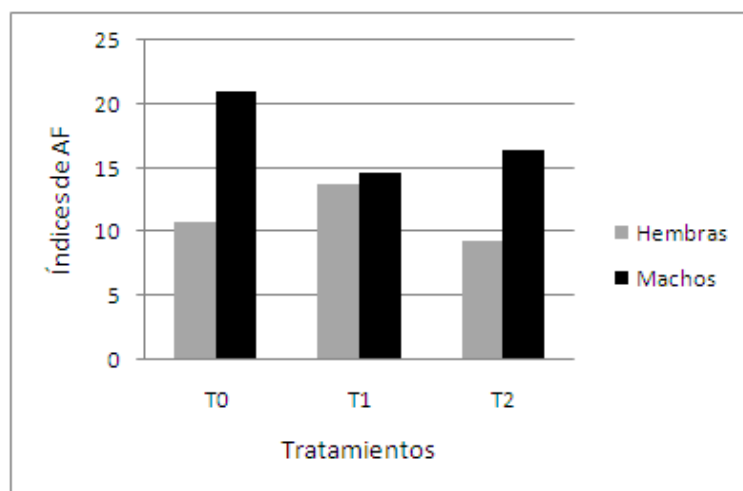


Fig. 4: Índices de AF para tamaño, correspondientes a 30 hembras y 30 machos de cada tratamiento con insecticida. Tratamiento 0: control; Tratamiento 1: topicación con 0,7 ng/insecto de deltametrina; Tratamiento 2: topicación con 1,4 ng/i de deltametrina.

### 2.2 Asimetría de la forma del ala.

Los resultados de los ANOVA de Procrusto para detectar AF de conformación se presentan en la Tabla II. Estos índices de AF variaron entre 4,433 y 3,339 para hembras y entre 9,130 y 5,075 para machos. Como se puede ver, existe una mayor variación en la AF de la conformación en machos, siendo el Tratamiento 1 el grupo con valor más elevado respecto a los demás (Fig. 5). Caso contrario ocurre con las hembras, donde no se presentan grandes diferencias entre valores de AF para los diferentes tratamientos.

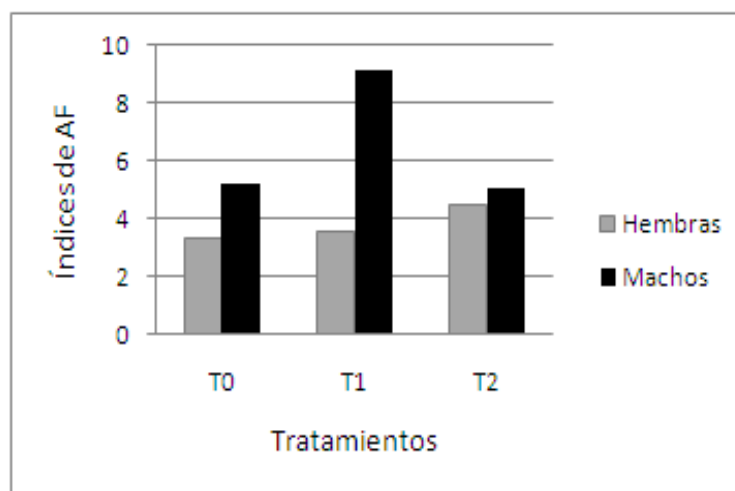


Fig. 5: Índices de AF para conformación ( $\times 10^3$ ), correspondientes a 30 hembras y 30 machos de cada tratamiento con insecticida. Tratamiento 0: control; Tratamiento 1: topicación con 0,7 ng/insecto de deltametrina; Tratamiento 2: topicación con 1,4 ng/i de deltametrina.

Se observa que para las hembras existe una relación inversa entre los IAF de tamaño y los parámetros reproductivos de longevidad, inicio y fin de ovipostura, que mostraron diferencias significativas entre tratamientos. El T1 fue el que expresó mayor variabilidad, mostrando los valores más bajos para estos parámetros y el IAF más alto para tamaño (Tabla I, Fig. 4). Respecto a los machos, existe una relación directa entre el peso de muda e IAF de tamaño, con los valores más altos representados por T0 (Fig. 4), e inversa entre el peso de muda e IAF de conformación, siendo T1 el que representa el menor peso y mayor índice (Fig. 5).

## DISCUSIÓN

El rociado de compuestos químicos con acción residual, específicamente con deltametrina, junto con el monitoreo en las zonas afectadas, sugiere un control efectivo para *T. infestans*. Sin embargo, se debe prestar mayor atención a sitios donde existen casos de fallas en el control químico por la ocurrencia de tolerancia y surgimiento de cepas resistentes. Estos compuestos podrían incidir sobre el desarrollo morfológico, el ciclo biológico y la eficiencia reproductiva, por eso la importancia de su estudio.

Considerando conjuntamente los parámetros reproductivos y los índices de asimetría fluctuante, en este trabajo no se observaron diferencias significativas entre tratamientos con diferentes dosis de insecticida. Los resultados obtenidos muestran que dosis subletales crecientes de deltametrina aplicadas en el primer estadio ninfal no afectan la estabilidad en el desarrollo de las alas y la eficiencia reproductiva en insectos adultos de *T. infestans*, siendo estos resultados no coincidentes con las hipótesis planteadas.

Respecto a los parámetros reproductivos evaluados en el presente trabajo, los resultados muestran que no existiría costo reproductivo a dosis crecientes de insecticidas aplicadas a hembras de *T. infestans* de poblaciones susceptibles. Estos resultados coinciden con los reportados por Germano y Picollo (2015), quienes al comparar el potencial reproductivo de poblaciones de *T. infestans* susceptibles y resistentes a deltametrina, señalaron que solo en las últimas el mismo disminuyó.

En el presente trabajo se observó que existe correlación entre la longevidad de las hembras e inicio y fin de la ovipostura. Aquellas hembras que iniciaron el ciclo de ovipostura significativamente antes que las demás, tuvieron longevidad reducida, y en consecuencia, ciclos más acotados. En un trabajo con *R. prolixus*, se encontró una relación lineal entre la fecundidad y el tiempo de oviposición (Aldana et. al. 2009), sin embargo, en este trabajo, no se observaron diferencias entre los valores de fecundidad.

Por otra parte los resultados muestran que, en condiciones controladas, machos de

*T. infestans* experimentan mayor asimetría en alas que hembras, esto coincide con un trabajo de Lehmann (2005), donde los IAF de alas fueron mayores en los machos que en las hembras en poblaciones de *Triatoma dimidiata* (Latreille, 1811) (Heteroptera: Reduviidae). A su vez, esta asimetría, parecería estar relacionada con el peso de muda exhibido para los diferentes tratamientos. En un estudio realizado en condiciones experimentales con *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 (Diptera: Culicidae), con aplicación de insecticidas, se demostró que los machos presentaban mayor AF en alas, sugiriendo que machos y hembras reaccionan de manera diferente, sometidos al mismo estrés ambiental (Mpho et. al., 2001). Existen muchos casos en los que las condiciones desfavorables no han provocado cambios en la asimetría, lo que ha llevado a varios autores a cuestionar su aplicación general para analizar el estrés durante el desarrollo (Leung y Forbes 1996, Bjorksten et al. 2000). También puede ocurrir que en algunos estudios de asimetría, estas mediciones no sean particularmente sensibles como indicador de estrés en insectos (Hoffmann et. al. 2005). Si bien, la AF de las alas en Triatominae ha sido utilizado como un marcador fenotípico útil en situaciones de campo (Nattero et al. 2015), puede no serlo para indicar diferentes niveles de estrés ambiental representada por dosis subletales de insecticida.

Los parentales de los triatominos con los cuales se trabajó se encontraban próximos a zonas cultivadas con algodón. El rociado con insecticidas sobre estos cultivos, podría estar afectando a estas poblaciones de insectos, probablemente haciéndolos tolerantes contra otros compuestos. En un estudio realizado con abejas de la especie *Eulaema nigrita* Lepeletier, 1841 (Hymenoptera: Apidae) se determinó que si bien los cambios ambientales antrópicos, tales como la fragmentación del hábitat por la agricultura y el uso de pesticidas, son capaces de causar diferentes inestabilidades de desarrollo para algunas especies, aquellas que están adaptadas a estos cambios ambientales pueden ser favorecidos y podrían no mostrar tasas de AF significativas (Pinto et al. 2015).

Si bien los resultados no fueron los esperados, existen muchos trabajos que muestran resultados opuestos, por ejemplo, Eeva (2000), encontró niveles

aumentados de AF en el tarso de poblaciones de *Parus major* Linnaeus, 1758 (Passeriformes: Paridae) expuestas a contaminación por metales pesados. Sin embargo, en un estudio posterior que utilizó la misma especie no se encontró una asociación entre AF y exposición a metales pesados (Dauwe et al. 2006). Una contradicción similar surgió cuando Valkama y Kozlov (2001) no detectaron un aumento en los niveles de AF en hojas de abedul (*Betula pubescens*) en respuesta a la contaminación del aire, como se muestra en un estudio previo (Kozlov et al. 1996).

Existen factores que podrían haber alterado la parte experimental de la investigación. Por ejemplo, si bien las topicaciones fueron controladas, la acetona es un compuesto muy volátil, lo que podría dificultar la aplicación sobre el insecto.

Este es el primer trabajo realizado con *T. infestans* en el cual se evalúan los efectos de dosis subletales de insecticida en parámetros reproductivos e inestabilidad en el desarrollo. El presente estudio muestra resultados que son no coincidentes con lo planteado en las hipótesis, por lo tanto es necesario continuar y ampliar este trabajo con diferentes poblaciones, dosis de insecticida, cantidades de topicaciones para los distintos estadios y diferentes marcadores fenotípicos que permitan comprender mejor las consecuencias sobre la inestabilidad en el desarrollo relacionado a diferentes parámetros poblacionales.

## BIBLIOGRAFÍA

Aldana, E., D. Jácome y E. Lizano. 2009. Efecto de la alternación de fuentes sanguíneas sobre la fecundidad y la fertilidad de *Rhodnius prolixus* Stål (Heteroptera: Reduviidae). EntomoBrasilis 2: 17-23.

Anónimo. 1957. World Health Organization committee on insecticides, 7th report. WHO technical reports series n. 125.

Arévalo, A., J.C. Carranza, F. Guhl, J.A. Clavijo y G.A. Vallejo. 2007. Comparación del ciclo de vida de *Rhodnius colombiensis* Moreno, Jurberg y Galvão, 1999 y *Rhodnius prolixus* Stål, 1872 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) en condiciones de laboratorio. Biomédica 27: 119-29.

Beasley, A.E., A. Bonisoli-Alquati y T.A. Mousseau. 2013. The use of fluctuating asymmetry as a measure of environmentally induced developmental instability: a meta-analysis. Ecological Indicators 30: 281-226.

Bjorksten, T., P. David, A. Pomiankowski y K. Fowler. 2000. Fluctuating asymmetry of sexual and nonsexual traits in stalk-eyed flies: a poor indicator of developmental stress and genetic quality. Journal of Evolutionary Biology 13: 89-97.

Boivin, T., J.C. Bouvier, D. Beslay y B. Sauphanor .2004. Variability in diapause propensity within populations of a temperate insect species: interactions between insecticide resistance genes and photoperiodism. Biological Journal of the Linnean Society 83: 341-351.

Brewer, M., M. Garay, D. Gorla, F. Murua y R. Favot. 1983. Caracterización de los estadios ninfales del género *Triatoma* Laporte 1833. II. *Triatoma platensis* Neiva 1913, *Triatoma delponteii* Romaña y Abalos 1947, *Triatoma sordida* Stål 1859, (Hemiptera, Reduviidae). Revista de Sociedad Entomológica Argentina 42: 219-241.

Campanhola, C., B.F. McCutchen, E.H. Baehrecke, y F.W.J. Plapp. 1991. Biological constraints associated with resistance to pyrethroids in the tobacco bud worm (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Economic Entomology 84: 1404-1411.



Carrière, Y., J.P. Deland, D.A. Roff, y C. Vincent. 1994. Lifehistory costs associated with the evolution of insecticide resistance. *Proceedings of the Royal Society of London* 258: 35-40.

Carrière, Y., J.P. Deland y D.A. Roff. 1996. Oblique banded leafroller (Lepidoptera: Tortricidae) resistance to insecticides: among-orchard variation and cross-resistance. *Journal of Economic Entomology* 89: 577-582.

Chiang, R.G. y J. A. Chiang. 1995. Fecundity of the blood-feeding insect *Rhodnius prolixus* increases in successive periods of egg production. *Experientia* 51: 289-292.

Daflon-Teixeira, N.F., F.A. Carvalho-Costa, R.G. Chiang y M.M. Lima. 2009. Influence of blood meal and mating in reproduction patterns of *Triatoma brasiliensis* females (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 104: 1031-1034.

Dauwe, T., E. Janssens y M. Eens. 2006. Effects of heavy metal exposure on the condition and health of adult great tits (*Parus major*). *Environmental Pollution* 140: 71-78.

Eeva, T., E. Lehikoinen, C. Råbergh y S. Tanhuanpää. 2000. Biomarkers and fluctuating asymmetry as indicators of pollution-induced stress in two hole-nesting passerines. *Functional Ecology* 14: 235-243.

Gaspe, M.S., J.M. Gurevitz, R.E. Gürtler y J.P. Dujardin. 2012. Origins of house reinfestation with *Triatoma infestans* after insecticide spraying in the Argentine Chaco using wing geometric morphometry. *Infection, Genetics and Evolution* 17: 93-100.

Germano, M.D., M.I. Picollo y G. Mougabure-Cueto. 2013. Microgeographical study of insecticide resistance in *Triatoma infestans* from Argentina. *Acta Tropica* 128: 561-565.

Germano, M.D. y M.I. Picollo. 2015. Reproductive and Developmental Costs of Deltamethrin Resistance in the Chagas Disease Vector *Triatoma infestans*. *Journal of Vector Ecology* 40: 59-65.

Gorla, D.E. 2002. Variables ambientales registradas por sensores remotos como

indicadores de la distribución geográfica de *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae). *Ecología austral* 12: 117-127.

Guarneri, A.A., L. Diotaiuti, N.F. Gontijo, A.F. Gontijo y M.H. Pereira. 2000. Comparison of feeding behaviour of *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma pseudomaculata* in different hosts by electronic monitoring of the cibarial pump. *Journal of Insect Physiology* 46: 1121-1127.

Gurevitz, J.M. y L.A. Ceballos. 2006. Factors affecting flight initiation of field *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) under natural climatic conditions. *Journal of Medical Entomology* 43: 143-150.

Hoffmann, A.A., E. Collins y R. Woods. 2002. Wing shape and wing size changes as indicators of environmental stress in *Helicoverpa punctigera* (Lepidoptera: Noctuidae) moths: comparing shifts in means, variances, and asymmetries. *Environmental Entomology* 31: 965-971.

Hoffmann, A.A., R. Woods, E. Collins, K. Wallin, A. White y J.A. McKenzie. 2005. Wing shape versus asymmetry as an indicator of changing environmental conditions in insects. *Australian Journal of Entomology* 44: 233-243.

Kozlov, M.V., B.J. Wilsey, J. Koricheva y E. Haukioja. 1996. Fluctuating asymmetry of birch leaves increases under pollution impact. *Journal of Applied Ecology* 33: 1489-1495.

Lehmann, P., R. Ordoñez, R. Ojeda-Baranda, J. Mendez de Lira, L. Hidalgo-Sosa, C. Monroy y J.M. Ramsey. 2005. Morphometric analysis of *Triatoma dimidiata* populations (Reduviidae: Triatominae) from Mexico and Northern Guatemala. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* v.100 n.5, pp. 477-486.

Leung, B. y M.R Forbes. 1996. Fluctuating asymmetry in relation to stress and fitness: effects of trait type as revealed by meta-analysis. *Ecoscience* 3: 400-413.

Martins, A.J., C.D. E.M. Ribeiro, D.F. Bellinato, A.A. Peixoto, D. Valle, y J.B.P. Lima. 2012. Effect of insecticide resistance on development, longevity and reproduction of field or laboratory selected *Aedes aegypti* populations. *PLoS ONE* 7: e31889.

McCart, C., A. Buckling y R.H French-Constant. 2005. DDT resistance in flies carries no cost. *Current Biology* 15: R587-R589.

Mougaboure-Cueto, G. y M.I. Picollo. 2015. Insecticide resistance in vector Chagas disease: evolution, mechanisms and management. *Acta Tropica* 149: 70-85.

Mpho, M., G.J. Holloway y A. Callaghan. 2001. A Comparison of the Effects of Organophosphate Insecticide Exposure and Temperature Stress on Fluctuating Asymmetry and Life History Traits in *Culex Quinquefasciatus*. *Chemosphere* 45: 713-720.

Nattero, J., J.P. Dujardin, M. Del Pilar Fernández y R.E. Gürtler. 2015. Host-feeding sources and habitats jointly affect wing developmental stability depending on sex in the major Chagas disease vector *Triatoma infestans*. *Infection, Genetics and Evolution* 36: 539-546.

Palmer, A.R. 1994. Fluctuating asymmetry analyses: a primer. Markow, T.A., *Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht pp. 335-364.

Pinto, N.S., D.P. Silva, J.G. Rodrigues y P.Jr. De Marco. 2015. The Size But not the Symmetry of the Wings of *Eulaema nigrita* Lepeletier (Apidae: Euglossini) is Affected by Human-Disturbed Landscapes in the Brazilian Cerrado Savanna. *Neotropical Entomology* 44: 439-447.

Pires, H.H., M.G. Lorenzo, C.R. Lazzari, L. Diotaiuti y G. Manrique. 2004. The sexual behaviour of *Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Reduviidae): an experimental study. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 99: 295-300.

Rabinovich, J.E. 1985. Ecología poblacional de Triatominos. Factores biológicos y entomológicos de la Enfermedad de Chagas, OMS. Tomo I, 13: 121-147.

Rivero, A., A. Magaud, A. Nicot y J. Vézilier. 2011. Energetic Cost of Insecticide Resistance in *Culex pipiens* Mosquitoes. *Journal of Medical Entomology*, v.48, n.3, pp. 694-700.

Schofield, C.J., J. Jannin y R. Salvatella. 2006. The future of Chagas disease control. *Trends in parasitology* 22: 583-588.

Sulbaran, E. y L.F. Chaves. 2006. Spatial complexity and the fitness of the kissing bug *Rhodnius prolixus*. *Journal of Applied Entomology* 130: 51-55.

Talloe, W., H. Van Dyck y L. Lens. 2004. The cost of melanization: butterfly wing coloration under environmental stress. *Evolution* 58: 360-366.

Valkama, J. y M.V. Kozlov. 2001. Impact of climatic factors on the developmental stability of mountain birch growing in a contaminated area. *Journal of Applied Ecology* 38: 665-673.

Van Valen, L. 1962. A study of fluctuating asymmetry. *Evolution* 16: 125-142.

Vishalakshi, C. y B.N. Singh. 2008. Effect of developmental temperature stress on fluctuating asymmetry in certain morphological traits in *Drosophila ananassae*. *Journal of Thermal Biology* 33: 201-208.