

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES

CIENCIAS BIOLÓGICAS



**Híbridos experimentales entre *Triatoma infestans* (Klug) y *Triatoma platensis* Neiva (Hemiptera: Reduviidae): eficiencia reproductiva**

Tesinista: Federico Gastón Fiad

Directora: Dra. Claudia Susana Rodríguez

Codirector: Biól. Fernando Carezzano

Cátedra de Introducción a la Biología,

Cátedra de Morfología Animal

Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales,

Universidad Nacional de Córdoba.

Córdoba- Argentina.

Córdoba, Septiembre de 2018



**Híbridos experimentales entre *Triatoma infestans* (Klug) y *Triatoma platensis* Neiva (Hemiptera: Reduviidae): eficiencia reproductiva**

**Tribunal Examinador**

**Nombre y Apellido: ..... Firma:**

**Nombre y Apellido: ..... Firma:**

**Nombre y Apellido: ..... Firma:**

**Calificación: .....**

**Fecha: .....**

El presente trabajo se redactó siguiendo las normas de publicación de la revista **Iheringia**,  
**Série Zoologia**, editada por el “Museu de Ciências Naturais” de la “Fundação Zoobotânica  
do Rio Grande do Sul”.

## **Híbridos experimentales entre *Triatoma infestans* (Klug) y *Triatoma platensis* Neiva (Hemiptera: Reduviidae): eficiencia reproductiva**

### **RESUMEN**

La enfermedad de Chagas es uno de los problemas sanitarios de mayor importancia epidemiológica en Latinoamérica. El principal mecanismo de transmisión es a través de las heces de los triatomíneos. En Argentina se encuentran 18 especies entre las cuales se citan a *Triatoma infestans* y *Triatoma platensis* que al cruzarse producen híbridos fértiles. El objetivo del presente trabajo es caracterizar aspectos de la biología reproductiva de híbridos experimentales de *T. infestans* y *T. platensis* enfocados en la eficiencia reproductiva y su relación con la alimentación. Se trabajó con híbridos obtenidos a partir de una colonia fundadora constituida por hembras de *T. infestans* y machos de *T. platensis*. Se estimaron parámetros reproductivos relacionados con la fecundidad y fertilidad en parejas de insectos híbridos. Se determinó el patrón de desarrollo folicular de los ovarios y se describieron algunas características morfohistológicas de los folículos basales en estado de pre- ingesta (día 0) y a diferentes días post- ingesta (3, 5, 7, 10, 14 y 16 días). Además, se calculó la eficiencia de conversión de sangre ingerida (ECS) y del alimento ingerido a producción ovárica (ECCPO). Los resultados obtenidos indican para las parejas de híbridos una fecundidad media de  $59,58 \pm 34,06$  huevos/ hembra, el tiempo transcurrido desde la formación de la pareja hasta el inicio de la primera cópula fue de  $3,73 \pm 4,20$  días, siendo el porcentaje de fertilidad del  $40,26 \pm 44,02\%$ . Se halló una relación directa entre la sangre ingerida y la producción de huevos ( $r = 0,55$ ;  $p < 0,05$ ). Los análisis comparativos de las medias de los folículos basales entre los distintos días de experimentación permitieron constituir cuatro grupos de desarrollo: 1- conformado por hembras pertenecientes al grupo pre ingesta (0 días); 2- hembras sacrificadas a los 3 días post-

ingesta; 3- hembras sacrificadas a los 5, 7 y 10 días post- ingesta; y 4- hembras sacrificadas a los 14 y 16 post- ingesta; estos grupos fueron coincidentes con el patrón de porcentajes de folículos basales con ovocitos en previtelogénesis, vitelogénesis y coriogénesis. Histológicamente los folículos basales presentaron las mismas características que las citadas para otros triatomínos. Por otro lado, la hembra híbrida utilizó las reservas nutricionales de manera más eficiente (ECS= 36,55%) que la especie parental *T. infestans* para destinarla a masa corporal y destinó menor cantidad de sangre para producir huevos (ECCPO= 14,44%). Éste último valor fue similar al reportado para hembras vírgenes de otras especies de triatomínos. Los resultados obtenidos permiten concluir que si bien el híbrido entre *T. infestans* y *T. platensis* presenta un desarrollo folicular similar al registrado para la especie parental *T. infestans*, tendría una menor eficiencia reproductiva que se ve reflejada en los bajos valores de fecundidad, fertilidad y uso de las reservas nutricionales para producción de huevos.

**Palabras clave:** Ovario, folículo basal, maduración, fecundidad, fertilidad.

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es una afección parasitaria causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* Chagas 1909. Esta se encuentra ampliamente distribuida en el continente americano (DUQUE *et al.*, 2011; ZINGALES *et al.*, 2012), siendo uno de los problemas sanitarios de mayor importancia epidemiológica en Latinoamérica. Se estima para el continente americano entre seis y siete millones de personas infectadas por el protozoo (OMS, 2015) y 60 millones en riesgo de transmisión en aproximadamente 19 países endémicos (WHO, 2002). El principal mecanismo de transmisión de *T. cruzi* en la naturaleza y en las áreas rurales, es a través de las heces de los insectos vectores (GUHL, 2007). En Argentina la zona endémica para la enfermedad de Chagas se extiende de norte a sur, siendo su límite más austral el norte de la

provincia de Chubut (GUHL, 2007; SALVATELLA, 2007) donde se calcula que al menos un millón y medio de personas están infectadas constituyendo uno de los principales problemas sanitarios del país (MINISTERIO DE LA SALUD, 2007).

### **Características morfológicas y ecológicas de Triatominos: *Triatoma infestans*, *Triatoma platensis* e híbrido**

La Subfamilia Triatominae se encuentra clasificada dentro de la Familia Reduviidae, Orden Hemiptera: Heteroptera. Estos insectos hemimetábolos se caracterizan por presentar un aparato bucal de tipo picador- chupador, de hábitos hematófagos obligados tanto en estado ninfal como adulto, necesitando al menos una ingesta de sangre a repleción en cada uno de sus cinco estadios ninfales para completar su desarrollo (GALVÃO *et al.*, 2003). Actualmente se conocen 140 especies de triatominos ampliamente distribuidas en América continental e insular (SCHOFIELD & GALVÃO, 2009), consideradas todas como vectores potenciales de la enfermedad de Chagas dado que infectan gran variedad de mamíferos domésticos y silvestres por medio de un ciclo de transmisión natural (JURBERG & GALVÃO, 2006). De acuerdo con la importancia epidemiológica los triatominos pueden ser clasificados según el grado de adaptación a la vivienda humana y la capacidad vectorial. Definiendo como especies primarias aquellas que colonizan permanentemente el intradomicilio en altas densidades y que presentan un índice significativo de infección por *T. cruzi*. Por otro lado, existen especies que habitan en ambientes silvestres y peridomésticos con características potenciales de colonización del domicilio y con capacidad vectorial demostrada, éstas son denominadas especies secundarias (NOIREAU, 2005).

En Argentina se encuentran 18 especies de tres géneros de triatominos, que presentan distinta distribución geográfica (GALVÃO *et al.*, 2003; CANALE, 2005). Entre las especies exitosamente adaptadas al domicilio humano se encuentra *Triatoma infestans* Klug 1834. Esta se distribuye en gran parte del cono sur de América y es, en la región, la especie de mayor

importancia epidemiológica ya que se encuentra colonizando, en altas densidades, el domicilio y los anexos peridomiciliarios de las viviendas humanas (gallineros, corrales, etc.), además de contar con registros en el ambiente silvestre en Bolivia y en la región del Chaco de Argentina (BREWER *et al.*, 1983; NOERIEAU *et al.*, 1997; 2005; WALECKX *et al.*, 2012). Es una especie claramente antropofílica que además presenta índices significativos de infección natural por *T. cruzi* (ZELEDÓN, 1983; DIAS & DIOTAIUTI, 1998; WHO, 2007), característica que la hace responsable del 50% de los casos de transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas (DUJARDIN *et al.*, 2002), razón por la cual ha sido el principal blanco de las campañas y programas de control vectorial a gran escala. Como consecuencia de tales acciones, basadas principalmente en la aplicación de insecticidas piretroides de efecto residual, se ha conseguido reducir el área de distribución de esta especie (GORLA, 2002; SCHOFIELD *et al.*, 2006), además de interrumpir la transmisión vectorial en Uruguay, Chile, Brasil, Bolivia, Paraguay y siete provincias argentinas (SCHOFIELD *et al.*, 2006).

Las especies secundarias de triatominos, por otra parte, son generalmente autóctonas y pueden invadir y colonizar las viviendas humanas, pudiendo actuar como vectores sinantrópicos del protozoo cuando se han erradicado poblaciones domésticas de las especies primarias (NOIREAU *et al.*, 2000; MONCAYO & SILVEIRA, 2009). En términos epidemiológicos y en relación al control de la parasitosis, la tendencia de los triatominos a adaptarse a los ambientes humanos es de gran relevancia (ZELEDÓN, 1983). El primer paso en el proceso de adaptación domiciliaria es cuando especies silvestres comienzan a utilizar como hábitat frecuente el peridomicilio humano y por lo tanto los animales domésticos y peridomésticos como fuente alimenticia. En Argentina, *Triatoma guasayana* Wygodzinsky & Abalos 1949, *Triatoma sordida* Stål 1859, *Triatoma eratyrusiformis* Del Ponte 1929, *Triatoma patagonica* Del Ponte 1929, *Triatoma garciabesi* Carcavallo, Cichero, Martínez, Prosen & Ronderos 1967



y *Triatoma platensis* Neiva 1913 son consideradas especies secundarias (GUREVITZ *et al.*, 2006).

*T. platensis* es una especie marcadamente ornitófila, considerada una especie silvestre que invade y coloniza el peridomicilio. Su distribución geográfica comprende numerosas provincias argentinas (CANALE, 2005). Además, ha sido citada para la región sur de Bolivia, Paraguay y el área oeste de Uruguay y Brasil (SALVATELLA, 1987; SALVATELLA *et al.*, 1991; GALVÃO *et al.*, 2003). En los ambientes silvestres se la encuentra asociada a nidos de aves de los distintos géneros de las familias Furnariidae y, más raramente, Psittacidae (BREWER *et al.*, 1983), en los cuales BAR *et al.* (1986) y MARTÍ *et al.* (2014) registraron además la presencia secundaria de *Didelphis albiventris* Lund 1840 (comadreja overa), principal reservorio silvestre de *T. cruzi*. En el peridomicilio se han reportado colonias en gallineros, donde llega a establecer profusas poblaciones coexistiendo, en algunos casos, con *T. infestans* (SALVATELLA, 1991). En ambos ambientes hay registros de esta especie naturalmente infectada con el parásito tanto en la Argentina (BAR *et al.*, 1996; GIRALDEZ *et al.*, 1997; MARTÍ *et al.*, 2014) como en Brasil (BARRETO & CARVALHEIRO, 1966).

Caracteres morfológicos y de cruzamientos experimentales relacionan de manera estrecha a *T. platensis* con *T. infestans* y *Triatoma delpontei* Romaña & Abalos 1947, razón por la cual se las agrupa dentro del Complejo Infestans, Subcomplejo Infestans (DUJARDIN *et al.*, 2002; SCHOFIELD & GALVÃO, 2009). Estudios comparativos entre las especies de este Subcomplejo a nivel de cromosomas (PANZERA *et al.*, 1995), isoenzimas (PEREIRA *et al.*, 1996) y de secuencias de ADN (BARGUES *et al.*, 2006) demostraron que *T. infestans* y *T. platensis* son las especies más cercanas, ya que incluso a nivel genético no se diferencian claramente (BARGUES *et al.*, 2006; MARTÍ *et al.*, 2014). Al respecto PÉREZ *et al.* (2005) proponen una hipótesis sobre la evolución de estas especies indicando que comparten un antepasado reciente, probablemente una especie ornitofílica, y luego se separaron por adaptación a diferentes

ecotopos. *T. delpontei* se habría separado primero y luego, *T. infestans* y *T. platensis*, por lo cual la diferencia morfológica entre estas dos últimas especies sería probablemente consecuencia de su adaptación a distintos hospedadores (mamíferos y aves respectivamente) (DUJARDIN *et al.*, 1999). BARGUES *et al.* (2010) señalan que tanto experimental como naturalmente *T. infestans* y *T. platensis* son interfértiles. Al respecto, PÉREZ *et al.* (2005) y LÓPEZ (2015) obtuvieron en condiciones controladas híbridos fértiles entre los cruzamientos.

En la naturaleza varios autores citan que ambas especies no solo comparten el hábitat peridomiciliario, encontrándose en gallineros la presencia de ejemplares híbridos (CARCAVALLO *et al.*, 1985; 1999; SALVATELLA, 1987), sino que además coexisten en el ambiente silvestre. Al respecto MARTÍ *et al.* (2014) realizaron el primer reporte de ambas especies conviviendo en nidos de aves en la localidad del Palmar (Chaco, Argentina), con el hallazgo de ninfas de 5to estadio aparentemente híbridos, sugiriendo que la ocupación del mismo ecotopo por las dos especies sería quizás bastante común. La obtención de adultos híbridos se ha reportado para varias especies de triatominos (PERLOWAGORA-SZUMLEWICS & CORREIA, 1972; BELLO, 1978; FRANCA *et al.*, 1979; SALVATELLA *et al.*, 1990; ALMEIDA *et al.*, 2012), sin embargo, cabe señalar que existen escasos estudios que analicen aspectos de la biología reproductiva de estos híbridos.

Los triatominos que se encuentran generalmente asociados a las aves no están infectados con *T. cruzi*, debido a que las aves son refractarias al parásito. En consecuencia, sólo desempeñan un papel epidemiológico secundario relacionado a la eventual hematofagia que estos insectos puedan desarrollar sobre mamíferos reservorios silvestres (roedores y marsupiales) o domiciliarios (perros, cabras) que incursionen en los nidos de aves o gallineros (SALVATELLA *et al.*, 1991; MARTÍ *et al.*, 2014), involucrándose entonces como vectores en los ciclos silvestres y peridomésticos de transmisión del parásito. Es decir, que nidos de aves y gallineros ocupados por estos insectos podrían no solo representar una fuente de infestación

domiciliaria, sino también la posible incorporación al ciclo doméstico de transmisión de *T. cruzi* de las especies de triatominos que se encuentran allí, incrementando así el riesgo epidemiológico (WISNIVESKY-COLLI, 1993; BAR & WISNIVESKY-COLLI, 2001).

En relación al proceso de colonización del domicilio, la alimentación y la reproducción cobran especial importancia para las especies que se encuentran en los peridomicilios, ya que el éxito para invadir y colonizar un nuevo ambiente va a depender no sólo de la disponibilidad de alimento en el mismo, sino también de la capacidad reproductiva de cada especie y de la habilidad para explotar el recurso alimenticio disponible (PINTO SOARES *et al.*, 2000; DAFLON-TEIXEIRA *et al.*, 2009). Es por ello que estudiar aspectos relacionados con la reproducción contribuyen al conocimiento de la dinámica poblacional, de dispersión y la potencial adaptación a diferentes hábitats (GUREVITZ *et al.*, 2006).

### **Morfofisiología del sistema reproductor femenino y desarrollo folicular en triatominos**

El sistema reproductor femenino de insectos asegura el encuentro entre los gametos masculinos y femeninos para garantizar la fecundación que permita recuperar la carga genética de la especie y generar, como objetivo final, un nuevo individuo. En triatominos este sistema está constituido en sentido general por un par de ovarios, un par de oviductos laterales y un oviducto común, una *bursa copulatrix* (vagina) a la cual desembocan dos espermatecas encargadas de la recepción y almacenamiento de los espermatozoides, regulando la liberación de los mismos al momento del pasaje del huevo por la vagina (STOKA & SALOMÓN, 1987).

Cada ovario, de tipo meroístico telotrófico, está formado por siete tubos cilíndricos llamados ovariolas, cada una está compuesta por un filamento terminal llamado ligamento que se inserta en la región proximal del germario y que fija, junto con las siete ovariolas de cada ovario, al órgano en el primer uroterguito que corresponde al primer segmento abdominal. El germario es el encargado de la producción de ovocitos y la nutrición de los mismos a través de

la formación de cordones tróficos que surgen de la cámara trófica formada por las células nutricias, se continúa una zona denominada vitelario caracterizada por una gran capacidad productora, de crecimiento y desarrollo de los ovocitos. Allí se pueden observar ovocitos en distinto grado de desarrollo siendo el menos desarrollado el que se encuentra inmediatamente después del germario y el más desarrollado el que se encuentra en posición basal (folículo basal). Cada ovocito se encuentra rodeado de epitelio folicular, separado de los demás por un tapón epitelial formado de tejido interfolicular el cual degenera al momento de la ovulación. Por último, el pedicelo es un fino tallo que se extiende desde el oviducto lateral hasta el cáliz del oviducto común donde confluyen dos espermatecas. El oviducto común desemboca finalmente en la vagina (Fig. 1) (STOKA & SALOMÓN, 1987).

El desarrollo folicular es un proceso que se encuentra altamente regulado por el estado nutricional del insecto y factores hormonales. Consiste en una serie de cambios morfológicos, morfométricos, histológicos y bioquímicos que sufren los ovocitos hasta alcanzar la madurez, pudiéndose dividir en tres fases: previtelogénesis, vitelogénesis y coriogénesis. La previtelogénesis se caracteriza por el aumento y evolución de orgánulos citoplasmáticos (ASÍN & CROCCO, 1989), es un proceso de lento crecimiento en el que se acumulan organelas producidas en el germario y que son transmitidas al ovocito a través de los cordones tróficos (RAABE, 1986) una vez que la célula haploide alcanza un tamaño crítico, el canal nutricio degenera y comienza la fase conocida como vitelogénesis (STOKA & SALOMÓN, 1987).

Durante la segunda fase del proceso, se genera el vitelo dentro del ovocito. El vitelo tiene como función alimentar al embrión en desarrollo y está formado por una fosfolipoglicoproteína que TELFER (1954) llamó vitelogenina sintetizada en órganos extraováricos tanto en insectos como en otros organismos ovíparos invertebrados y vertebrados. En triatomíneos esta proteína junto con lipoforinas (lipoproteínas ricas en fosfolípidos) son producidas en los cuerpos grasos y vertidas a la hemolinfa para luego ser

transferidas a ovocitos que hayan finalizado la fase previtelogénica, también se almacenan enzimas como peptidasas y carboxilasas ácidas que las degradan liberando los nutrientes que el embrión necesita para crecer (FRUTTERO, 2010). El proceso por el cual los nutrientes ingresan al ovocito en desarrollo es la pinocitosis, la hormona juvenil actúa sobre receptores del epitelio folicular que se contrae creando canales (patencia) que permiten el paso de hemolinfa cargada de sustancias de reserva llegando a la superficie del ovocito para que ingresen hacia el citoplasma del mismo (DAVEY, 1974). Una vez dentro, los endosomas se unen entre sí para formar los gránulos de vitelo, dentro del mismo las vitelogeninas son modificadas y transformadas en vitelinas que se almacena para su posterior uso durante la embriogénesis (TUFAIL, 2008).

La entrada de material vitelogénico se prolonga hasta que el ovocito alcanza su longitud máxima. Cuando finaliza la vitelogénesis la membrana vitelina se condensa y las células foliculares depositan las distintas capas del corion dando inicio a la etapa conocida como coriogénesis (STOKA & SALOMÓN, 1987). Al finalizar la última fase de desarrollo el huevo, éste está listo para ser ovulado, el tapón epitelial degenera y se produce la apertura del canal que comunica con el oviducto lateral por donde será transportado pasando por el oviducto común, una vez que llega a la *bursa copulatrix* se produce la fecundación. En este momento el huevo ya fecundado está totalmente desarrollado y listo para ser ovipuesto, nutrir y permitir el crecimiento del embrión finalizando el evento reproductivo.

### **Eficiencia reproductiva y alimentación en triatominos**

La eficiencia reproductiva de los triatominos se encuentra determinada por parámetros relacionados con la fecundidad y la fertilidad (GUARNERI *et al.*, 2000; ALDANA *et al.*, 2009). Estos parámetros pueden variar inter e intraespecíficamente de acuerdo a las características ambientales y al tipo de hábitat donde las poblaciones de estos insectos se desarrollan

(GUARNERI *et al.*, 2000; SALAZAR *et al.* 2007), ya que se ven notablemente afectados por diversos factores como la disponibilidad y el tipo de recurso alimentario, densidad poblacional de insectos, temperatura, humedad y fotoperíodo (ZELEDÓN & RABINOVICH, 1981; ZELEDÓN, 1983; STOKA & SALOMÓN., 1987; GORLA & SCHOFIELD, 1989; GUARNERI *et al.*, 2000; BRAGA & LIMA, 2001).

En el caso de los triatomíneos, la eficiencia reproductiva está fuertemente asociada con la ingesta sanguínea y es afectada diferencialmente en machos y hembras (STOKA & SALOMÓN, 1987; LEHANE, 1991). En hembras la sangre ingerida aporta los nutrientes para la formación de huevos y el estímulo necesario para la secreción de hormonas que son indispensables para el desarrollo folicular (ATELLA, 2005; RAIKHEL, 2005; DAVEY, 2007) y la ovulación (DAVEY, 1967). Por lo tanto, los nutrientes ingeridos por las hembras afectan el desarrollo gonadotrófico regulando así la fecundidad, el ritmo de postura de huevos y la fertilidad de los mismos (DAVEY, 1967; RABINOVICH, 1985).

GUARNERI *et al.* (2000) señalaron que la eficiencia reproductiva de una especie analizada en términos de fecundidad, no solo se encuentra condicionada por la cantidad de sangre ingerida, sino que también por la capacidad de conversión de esa sangre en huevos. Esta característica varía inter e intraespecíficamente, como reflejo de la disponibilidad y tipo de recurso alimenticio presente en el hábitat donde las poblaciones se han desarrollado. Siendo mayor esa capacidad en colonias peridomiciliarias de triatomíneos donde la dificultad para acceder a la fuente de alimento hace que destinen mayor cantidad de sangre ingerida para reproducirse que para mantenerse, ocurriendo lo opuesto en aquellas que se encuentran en hábitats donde la fuente de alimento es frecuente como el domiciliario, o nidos de aves y de mamíferos en el ambiente silvestre.

La fuerte reducción de la infestación por *T. infestans* en el hábitat domiciliario, debido a las intensas intervenciones de control vectorial llevadas a cabo durante las últimas décadas,

aumentó la importancia relativa de otras especies de Triatominae que se encuentran ocupando los peridomicilios, hábitats que tienen un papel fundamental en los procesos de reinfestación y/o colonización del domicilio. Bajo estas condiciones se plantea la necesidad de profundizar estudios sobre aspectos que permitan comprender mejor la capacidad de domiciliación de las especies de triatomíneos presentes en los peridomicilios, y del rol epidemiológico que cumplen estos vectores por su relación con los distintos ciclos de transmisión de *T. cruzi* (ciclo silvestre, peridomiciliario y domiciliario).

Entre estas poblaciones de triatomíneos presentes en los peridomicilios de Argentina se ha registrado la presencia de híbridos de *T. infestans* y *T. platensis* (MARTÍ *et al.*, 2014). La finalidad de este trabajo fue caracterizar la eficiencia reproductiva en relación con la alimentación considerando aspectos morfohistológicos y comportamentales de híbridos de primera generación entre *T. infestans* y *T. platensis*.

## **OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS**

### **Objetivo general**

Caracterizar aspectos de la biología reproductiva de híbridas experimentales de *T. infestans* y *T. platensis* enfocados en la eficiencia reproductiva y su relación con la alimentación.

### **Objetivos específicos**

Se trabajó con insectos adultos híbridos experimentales de *T. infestans* y *T. platensis* con el propósito de:

1. Establecer los parámetros reproductivos relacionados a la fecundidad y fertilidad.
2. Caracterizar mediante estudios morfohistológicos el patrón de desarrollo folicular.
3. Estimar el índice de consumo y la eficiencia de conversión de sangre ingerida.
4. Establecer la relación entre consumo de sangre y producción de huevos.

5. Comparar la eficiencia reproductiva del híbrido con datos obtenidos por otros autores para las especies parentales.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Obtención del material biológico**

Para obtener los triatomínicos híbridos se formó una colonia fundadora de 20 hembras adultas de *T. infestans* provenientes de campo y 20 machos adultos de *T. platensis* de primera generación obtenidas en laboratorio, todos como ninfas quinto estadio. La elección de este cruce interespecífico se debió a que la fecundidad (nº de huevos/hembra) considerada es más alta que la observada para el caso inverso (hembra *T. platensis* – macho *T. infestans*) (comunicación personal Bióloga ANA LÓPEZ).

Los triatomínicos híbridos obtenidos fueron mantenidos hasta el cuarto estadio en el laboratorio de cría del Centro de Referencia de Vectores (CEREVE, Ministerio de Salud, Santa María de Punilla, Córdoba, Argentina). A partir del quinto estadio ninfal los insectos fueron sexados (BREWER *et al.*, 1983) y trasladados al Laboratorio de Cría de la Facultad Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba en el cual se mantuvieron hasta la muda al estado adulto.

En ambos laboratorios los insectos fueron mantenidos en frascos de vidrio cilíndricos (500 cc), cubiertos por una red de plástico y provistos de un papel en posición vertical, bajo condiciones controladas de temperatura ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ), humedad relativa ( $60 \pm 10\%$ ) y fotoperíodo (12:12 luz-oscuridad). Cada 15 días se les ofreció alimento sobre paloma (*Columba livia* Gmelin 1789) con movimiento restringido y sin anestésiar.

### **Parámetros reproductivos relacionados a fecundidad y fertilidad**

Se realizó el seguimiento de 14 parejas de insectos adultos formadas por hembras



vírgenes y machos, ambos recién mudados al estado adulto. Cada pareja se mantuvo en frascos individuales y se les ofreció alimento cada siete días durante 30 minutos (NATTERO *et al.* 2002). Las parejas fueron controladas semanalmente hasta la muerte de la hembra registrándose las fechas de posturas, el número de huevos puestos y la fecha de muerte del insecto. Los huevos puestos por hembra por semana fueron colectados y aislados en tubos Eppendorf hasta la eclosión de la ninfa. Estas variables permitieron estimar la eficiencia reproductiva a través del cálculo de los siguientes parámetros reproductivos relacionados con la fecundidad y fertilidad:

- Número de semanas reproductivas: semanas transcurridas entre la primer y última ovipostura.
- Inicio de ovipostura: días transcurridos desde que la hembra coloca huevos.
- Inicio de cópula: días transcurridos desde la formación de la pareja hasta la primera cópula.
- Fecundidad (F): número total de huevos puestos por hembra.
- Fecundidad específica (FE): promedio de huevos puestos por hembra por semana.

$$FE = \frac{N^{\circ} \text{ huevos}}{\frac{\text{Hembra}}{\text{Semana}}}$$

- Fertilidad: porcentaje de huevos eclosionados

$$\text{Fertilidad} = \frac{N^{\circ} \text{ huevos eclosionados}}{N^{\circ} \text{ total de huevos puestos}} \times 100$$

- Longevidad: días transcurridos desde que la hembra muda a estado adulto hasta que muere.

- Índice de ovipostura (IO): relación entre el número de huevos puestos y la longevidad de las hembras en días (ARÉVALO *et al.* 2007).

$$IO = \frac{N^{\circ} \text{ huevos puestos}}{\text{Longevidad}}$$

### **Patrón de desarrollo folicular y obtención de las muestras para estudios morfohistológicos**

Para determinar el patrón de desarrollo folicular de los híbridos, se analizaron los cambios morfológicos que ocurrieron en los folículos basales. Para ello se emplearon hembras alimentadas a repleción al séptimo día posterior a la muda y emparejadas con un macho híbrido bien alimentado. Una vez comprobada al menos una cópula, a través de la presencia del espermátforo, el macho fue retirado. Luego de la primera alimentación y transcurridos 40 días de ayuno, a los fines de asegurar el vaciamiento del promesenterón y llevar los ovarios a un estado basal, las hembras fueron nuevamente alimentadas (CATALÁ DE MONTENEGRO 1983; 1989). Se registró el peso de las hembras antes y después de cada ingesta a fin de obtener la cantidad de sangre ingerida, método comprobado como eficiente para estimar la ingesta en *T. infestans* (FREITAS & GUEDES, 1961).

A partir de la segunda alimentación las hembras se separaron en siete grupos de cinco individuos cada uno según los días transcurridos desde la ingesta (días 0, 3, 5, 7, 10, 14 y 16). Al cabo del correspondiente tiempo, las hembras se pesaron nuevamente y se sacrificaron. Los insectos procesados antes de ofrecerles la segunda alimentación conformaron el grupo correspondiente al día 0.

De cada ejemplar se extrajeron los ovarios y se fijaron en buffer fosfato salino (PBS) a pH=7. A cada órgano se le registró el peso fresco. Para determinar el grado de desarrollo de

los folículos basales se quitaron las tráqueas y la membrana peritoneal de las ovariolas de un ovario, y se analizaron según la clasificación de ASÍN & AYERBE (1989) en folículos con ovocitos en previtelogénesis (PV), vitelogénesis (V), coriogénesis (C) y ovulados (O).

La morfología del ovario se analizó mediante el empleo del software Image J 1.33K (National Institutes of Health, USA) a partir de imágenes obtenidas con una cámara digital AxioCam Erc 5s Carl Zeiss adosada a un microscopio estereoscópico Olympus SZ61, permitiendo medir la longitud y el diámetro de los folículos basales, valores utilizados en el cálculo del volumen de cada uno de ellos aplicando la fórmula propuesta por ASÍN & CROCCO, (1989).

$$Volumen = \pi\left(\frac{d}{2}\right)^2(l - d) + \frac{4}{3}\pi\left(\frac{d}{2}\right)^3$$

donde;

*d*: diámetro del folículo basal

*l*: longitud del folículo basal

Para describir las características morfohistológicas, los ovarios de un ejemplar por grupo se deshidrataron en soluciones de alcohol de graduación creciente, se aclararon en xilol e incluyeron en parafina. Posteriormente se realizaron cortes a 7 µm y se colorearon con hematoxilina-eosina (TOLOSA *et al.*, 2003). A partir de los mismos se obtuvieron fotografías empelando una cámara digital AxioCam Erc 5s Carl Zeiss adosada a un microscopio Primo Star Carl Zeiss. A partir de las fotografías se ordenaron las distintas fases del desarrollo folicular permitiendo analizar la foliculogénesis desde la histología.

### **Eficiencia de conversión de sangre ingerida y del alimento ingerido a producción ovárica**

Para determinar la eficiencia de conversión de sangre (ECS) de las hembras fue necesario estimar antes la reserva de sangre contenida en el promesenterón (SCP), para lo cual

se utilizó el peso del insecto al momento del sacrificio y el peso seco del promesenterón según el método propuesto por CATALÁ DE MONTENEGRO (1983). Posteriormente se calculó la ECS definida como el porcentaje de sangre ingerida que se transforma en sustancia corporal empleando la fórmula de WALDBAUER (1964) modificada por CATALÁ & PASINA (1984).

$$ECS = \frac{G \pm DP}{(Bi + F) - Be}$$

donde;

*G*= peso ganado durante el período experimental, entendido como la diferencia de peso al final y el peso al inicio del experimento.

*DP*= diferencia en el contenido de sangre en el promesenterón entre el comienzo y el final del experimento (se estimó a partir de la ecuación que se obtuvo del cálculo de SCP).

*Bi*= contenido de sangre en el promesenterón al comienzo del experimento.

*F*= sangre ingerida (suma de la ingesta).

*Be*= sangre contenida en el promesenterón al final del experimento.

La producción ovárica (PO) y la eficiencia del alimento consumido a producción ovárica (ECCPO) se obtuvieron utilizando los pesos de los ovarios y huevos registrados al inicio del período experimental (*t*<sub>0</sub>) y a los 16 días post alimentación (*t*<sub>x</sub>).

$$PO = \text{Peso fresco de Ovario } t_x + \text{Peso fresco de huevos} - \text{Peso fresco de Ovario } t_0$$

Por otro lado, se determinó el consumo de sangre (CS) siguiendo la fórmula propuesta por CATALÁ & PASINA (1984).

$$CS = \text{Peso Fresco Prom } t_0 + \text{Cant. de sangre ingerida} - \text{Peso Fresco Prom } t_x$$

donde;

$t_0$ = promedio de los pesos frescos de promesenterón es al tiempo 0 días.

$t_x$ = promedio de los pesos frescos de promesenterón es al tiempo 16 días.

Con los valores obtenidos de la PO y del CS se pudo obtener el ECCPO (CATALÁ DE MONTENEGRO, 1989).

$$ECCPO = \left(\frac{PO}{CS}\right) \times 100$$

donde;

PO= producción ovárica.

CS= consumo de sangre.

Todos los pesos se expresan en mg y fueron tomados mediante el empleo de una balanza Mettler de precisión +/- 0,001 g. Los pesos secos fueron obtenidos colocando el material biológico en estufa a 35° C hasta registrar un peso constante.

### **Análisis estadístico**

Los datos obtenidos para cada una de las variables fueron analizados a través de estadísticos descriptivos. Los valores medios de las variables estudiadas fueron comparados entre los distintos grupos experimentales (días 0, 3, 5, 7, 10, 14 y 16) y fases de desarrollo del folículo basal (previtelogénesis, vitelogénesis y coriogénesis) a través de ANOVA. Para aquellas variables que no presentaron distribución normal (Test de Shapiro- Wilk) ni homogeneidad de varianzas (Test de Levene) se realizó test de Kruskal Wallis. Además, se realizaron análisis de Correlación Pearson y de Spearman según las características de las variables. La prueba de diferencia de proporciones se utilizó para comparar porcentajes. Se

consideraron diferencias estadísticamente significativas cuando los valores  $p$  fueron  $< 0,05$  (MARTÍNEZ GONZÁLEZ *et al.*, 2006).

## RESULTADOS

### Parámetros reproductivos relacionados a fecundidad y fertilidad

Del total de parejas formadas el 85,71% ovipusieron al menos una vez. Para el análisis de los parámetros reproductivos se consideraron solo las parejas cuyas hembras ovipusieron. La longevidad promedio de estas hembras fue de  $181,33 \pm 102,57$  días. La ingesta media fue de  $1317,41 \pm 671,02$  mg. El inicio de la ovipostura se registró a los  $18,08 \pm 10,68$  días luego de la formación de la pareja y el período reproductivo fue de  $13,15 \pm 8,60$  semanas. Se verificó una fecundidad media de  $59,58 \pm 34,06$  huevos/ hembra y una fecundidad específica de  $4,93 \pm 2,05$  huevos/hembra/semana. El índice de ovipostura que corresponde a la relación entre el número de huevos puestos y la longevidad de la hembra fue de  $0,36 \pm 0,18$  huevos/día.

Del total de parejas cuyas hembras ovipusieron el 91,67% de las parejas copularon al menos una vez, con un promedio de  $6,09 \pm 4,30$  cópulas desde la formación de la pareja hasta la muerte de la hembra, registrándose un máximo de 14 cópulas. El tiempo transcurrido desde la formación de la pareja hasta el inicio de la primera cópula fue de  $3,73 \pm 4,20$  días. El 54,54% colocaron huevos fértiles siendo el porcentaje de fertilidad del  $40,26 \pm 44,02\%$ .

Para determinar la relación entre los distintos parámetros reproductivos, se realizaron análisis de regresión y correlación de Pearson, y de correlación de Spearman. La fecundidad (huevos/hembra) mostró un coeficiente de correlación significativo con el número de semanas reproductivas ( $R=0,74$ ;  $p=0,005$ ). Además, se realizó un análisis de regresión y correlación entre el número de cópulas y fecundidad (huevos/hembras) que mostró una asociación directa y moderada entre ambas variables ( $r=0,62$ ;  $p=0,032$ ) (Fig. 2).

Por otro lado, debido a que la sangre ingerida es esencial para la producción de huevos, ésta variable se correlacionó con la fecundidad (huevos/hembra) obteniéndose una asociación directa y fuerte ( $r=0,78$ ;  $p = 0,003$ ) (Fig. 3). También se encontró correlación entre la ingesta total y el porcentaje de fertilidad con un coeficiente de  $R=0,70$  ( $p= 0,011$ ).

### **Patrón de desarrollo folicular y análisis de estudios morfohistológicos**

Para determinar el patrón de desarrollo ovárico de los híbridos, se analizaron los cambios morfológicos que ocurrieron en los folículos basales al cabo del tiempo experimental desde el día 0 (pre- ingesta) hasta los 16 días post- ingesta. Para ello se midió la longitud y el ancho de cada folículo basal, y se calculó el volumen (Tabla I). En hembras ayunadas (día 0) se obtuvieron los mínimos valores de longitud, ancho y volumen de los folículos basales. Luego de la ingesta se observó un aumento significativo de los valores registrados desde los 3 días hasta el día 5 donde los valores se mantuvieron constante hasta los 10 días post- ingesta. A los 14 y 16 días post-ingesta se obtuvieron valores de ancho, longitud y volumen similares a los registrados a los 3 días (Fig. 4 y 5).

Los resultados obtenidos de los análisis comparativos de las medias de los folículos basales entre los distintos días permitieron constituir cuatro grupos de desarrollo. El primero se conformó por las hembras pertenecientes al grupo 0 día, el segundo por aquellas sacrificadas a los 3 días post- ingesta, el tercero con las sacrificadas a los 5, 7 y 10 días post- ingesta y el cuarto correspondió a hembras muertas a los 14 y 16 post- ingesta. Es importante señalar que entre el segundo y cuarto no hay diferencias significativas.

A partir del análisis morfométrico y siguiendo los criterios de ASÍN & AYERBE (1989) se caracterizaron tres fases de desarrollo de los folículos basales con ovocitos en previtelogénesis, vitelogénesis y coriogénesis. En la Tabla II se presentan los valores de las variables longitud, ancho y volumen de los folículos basales considerando la fase de desarrollo.

Se analizaron en total 223 folículos basales. Se observó un incremento significativo en las tres variables desde la fase de previtelogénesis hasta coriogénesis; al tercer día post- ingesta se registraron los primeros ovocitos ovulados.

En la Figura 6 se puede observar la secuencia de aparición de las distintas fases de desarrollo folicular según los diferentes días pre y post- ingesta. Las hembras sacrificadas al día 0 presentaron un bajo desarrollo folicular, encontrándose un 93,55% de los folículos basales en previtelogénesis y 6,45% en vitelogénesis. Las hembras sacrificadas a los 3 días post- ingesta exhibieron una disminución de folículos en previtelogénesis (41,67%) y un aumento de vitelogénicos (54,17%) en comparación al día 0, demostrando la importancia de la alimentación en la reproducción. Cabe destacar que a este tiempo se observaron los primeros folículos basales con ovocitos corionados (4,17%), lo que indicaría que las hembras son capaces de completar el desarrollo del huevo a los 3 días de haberse alimentado. A los 5 días post- ingesta se detectó un aumento importante de folículos basales con ovocitos corionados (34,15%), además de vitelogénicos (65,85%) y ausencia de fases previtelogénicas. Los ovocitos en coriogénesis aumentaron de manera significativa desde el día 5 hasta el día 10 lo que indicaría que el ciclo de producción de huevos (desde vitelogénesis a coriogénesis) duraría aproximadamente 10 días. A los 14 días se observa nuevamente un aumento de folículos basales con ovocitos en previtelogénesis (32,14%), registrándose, además, un porcentaje similar de vitelogénicos al día 5 (64,29%) y una disminución notable de corionados (3,57%). Al día 16, se observó el porcentaje más alto (79,31%) de folículos basales con gametas en vitelogénesis y no se registraron corionados.

Por otro lado, al analizar la variación del peso fresco de los ovarios antes de la ingesta y a los distintos días post- ingesta se observó un patrón similar al del desarrollo de los folículos basales, es decir, a medida que aumentaron los ovocitos en vitelogénesis y coriogénesis, aumentó



el peso de los ovarios. Así mismo, a medida que la hembra ovipuso el peso de las gónadas disminuyó (Fig. 7).

La relación entre el peso fresco de los ovarios y la cantidad de huevos ovulados, demostró ser significativa con un coeficiente de correlación de Spearman de  $R=0,79$  ( $p<0,001$ ).

Las diferentes fases de desarrollo de los folículos basales propuestos en este trabajo fueron analizadas además mediante cortes histológicos. El proceso de desarrollo folicular comenzó con los ovocitos de los folículos basales en previtelogénesis temprana, fase caracterizada por presentar un ooplasma de estructura fibrosa y homogénea, y un volumen muy reducido, además de carecer de gránulos de vitelo en su interior (Fig. 8A). Nutriendo a la gameta en ésta fase se encontró el cordón trófico que conecta a la célula en desarrollo con el estroma del germario, el mismo manifestó características histológicas similares a las observadas para el ooplasma (Fig. 8B). Luego los ovocitos mostraron un importante crecimiento en volumen, el citoplasma aumentó mucho de tamaño debido a la acumulación de nutrientes provenientes del germario conservando la estructura fibrosa, finalizando la fase de previtelogénesis (Fig. 8C). Cuando los ovocitos crecieron lo suficiente, entraron en fase de vitelogénesis temprana y los cordones tróficos degeneraron. A medida que se almacenaron los gránulos de vitelo desde la periferia, el ooplasma se fue recluyendo hacia el centro (Fig. 8D). Una vez finalizado el proceso de acumulación de vitelo, el interior de la gameta se encontró completamente lleno de gránulos y sustancias de reserva que aumentaron rápidamente su volumen en vitelogénesis tardía (Fig. 8E). En este momento el ovocito está listo para la producción de corion secretado por el epitelio finalizando el proceso de desarrollo folicular.

En relación al desarrollo del epitelio folicular se pudieron observar cambios en las diferentes fases de desarrollo. En previtelogénesis temprana, el folículo basal presentó un epitelio simple de células pequeñas y fusiformes, mononucleadas con núcleo también fusiforme y pequeño con cromatina condensada denotando poca actividad (Fig. 9A). Una vez

que comenzó el desarrollo, las células del tejido se volvieron cilíndricas altas con núcleos redondeados en posición central y cromatina laxa encontrándose en fase de previtelogénesis tardía (Fig. 9B). Posteriormente, el ovocito comenzó a almacenar gránulos de vitelo en la vitelogénesis temprana, a nivel del epitelio ocurrió división mitótica, de modo que todas las células se observan como binucleadas, voluminosas y cilíndricas con límites nítidos, presentando su extremo basal en contacto estrecho con el espacio perioocítico y el extremo apical en contacto con la membrana peritoneal que separa al ovocito de la hemolinfa, además el volumen de ambos núcleos también aumentó observándose una cromatina aún más laxa que en la fase anterior (Fig. 9C). En la fase de vitelogénesis tardía, se produjo un estiramiento del epitelio folicular producto del aumento rápido de volumen que sufrió la gameta por el ingreso de sustancias de reserva y agua generando un achatamiento del tejido, en esta situación las células se volvieron cúbicas, de menor tamaño manteniendo el carácter binucleado con núcleos pequeños y redondeados (Fig. 9D).

### **Eficiencia de conversión de sangre ingerida y eficiencia del alimento ingerido a producción ovárica.**

Teniendo en cuenta que el consumo de sangre es esencial para la formación de huevos se analizó la relación entre consumo de sangre y producción ovárica a través de una regresión y correlación de Pearson. El valor obtenido de  $r = 0,55$  ( $p < 0,05$ ), indicando una asociación directa y moderada entre ambas variables (Fig. 10).

En la Figura 11 se observa la relación existente entre el peso seco del promesenterón y el peso de la hembra al momento de la disección. Esta relación permitió calcular la sangre contenida en el promesenterón. Una vez obtenida se calculó la ECS ( $36,55\% \pm 24,55$ ) y la ECCPO ( $14,44\% \pm 15,80$ ).

Tanto el ECS como el ECCPO son un promedio general para los 16 días de experimentación, indicando que del 36,55% de sangre fue convertida en sustancia corporal y de ese porcentaje, el 14,43% fue destinado a la producción ovárica.

## DISCUSIÓN

La eficiencia reproductiva de los triatomíneos es un factor relevante que regula la dinámica poblacional, y que influye al momento de la colonización o recolonización de un ecotopo (RABINOVICH, 1985; DAFLON-TEIXEIRA *et al.*, 2009). Entre las distintas especies de triatomíneos la eficiencia reproductiva puede variar, y está determinada por parámetros relacionados con la fecundidad y la fertilidad (GUARNERI *et al.* 2000; ALDANA *et al.* 2009).

Los valores de las variables reproductivas obtenidas en este trabajo para el híbrido de *T. infestans* y *T. platensis* fueron menores a los registrados por otros autores para las especies parentales, indicando una menor eficiencia reproductiva (BAR *et al.* 1993; NATTERO *et al.* 2011; RODRÍGUEZ *et al.* 2014). Teniendo en cuenta los parámetros relacionados con la fecundidad, se observó que el híbrido inicia la ovipostura tempranamente en relación a sus parentales. RODRÍGUEZ *et al.* (2014) cita para *T. infestans* 56,40 días luego de la formación de la pareja, mientras que para *T. platensis* BAR *et al.* (1993) señalan que tal evento ocurre a los 68,4 días. Esto podría deberse a que el organismo de interés demoró significativamente menos tiempo en copular por primera vez (3,73 días) que, *T. infestans* que lo hace a los 37,22 días (RODRÍGUEZ *et al.* 2014). Al respecto, STOKA & SALOMÓN (1987) señalan que la cópula actúa en la motilidad ovárica que produce la ovulación y descenso del huevo, a través de miotropinas secretadas por vía nerviosa. La fecundidad y el número de semanas reproductivas del híbrido fueron menores que las registradas para las especies parentales. Para *T. infestans* se reporta una fecundidad superior a 150 huevos/hembra (RABINOVICH, 1972; RODRÍGUEZ *et al.*, 2014). Para *T. platensis* la fecundidad es de 276 huevos/hembra (BAR *et al.* 1993).

La fertilidad del híbrido fue menor a la registrada para *T. infestans*, la cual oscila entre el 85,57% (RAVINOVICH, 1972) y el 61,79% (RODRÍGUEZ *et al.*, 2014); para *T. platensis* es de 75,60% (BAR *et al.*, 1993). La diferencia entre los parentales y el híbrido puede ser explicada por un menor número de cópulas registradas para el híbrido (16,95 cópulas para *T. infestans* reportado por RODRÍGUEZ *et al.*, 2014). Si bien el número de cópulas necesarias para garantizar la fertilidad, varía entre las diferentes especies de triatomíneos (DEL PONTE, 1921; WIGGLESWORTH, 1948; DA SILVA CUNHA & FERREIRA BRASILEIRO, 1988), un mayor número de cópulas estimularían la secreción de miotropinas cerebrales que accionarían, aún más, la motilidad ovárica generando un aumento en la cantidad de huevos colocados. Además, la gran cantidad de espermatozoides almacenados en la espermateca de la hembra permitirían que esos huevos ovulados sean eficientemente fecundados (DAVEY, 2007).

Es un hecho que la alimentación juega un rol relevante en la eficiencia reproductiva de los triatomíneos. Ésta relación ha sido estudiada en distintas especies (BRAGA & LIMA, 2001; DAVEY, 2007; DAFLON-TEIXEIRA *et al.* 2009; NATTERO *et al.* 2012), incluyendo *T. infestans* (CATALÁ *et al.* 1984; ASÍN & AYERBE, 1989; RODRÍGUEZ *et al.* 2014) y *T. platensis* (BAR *et al.* 1993), donde se observó que la ingesta sanguínea se encuentra íntimamente relacionada con parámetros reproductivos relacionados a la fecundidad y fertilidad de las hembras.

En relación a los resultados obtenidos para los híbridos de *T. infestans* y *T. platensis* los valores registrados para fecundidad y fertilidad se encontraron relacionados con la ingesta sanguínea y el número de cópulas. Este resultado fue similar al reportado para la especie parental *T. infestans* (RODRÍGUEZ *et al.*, 2014), sugiriendo que aquellas hembras que consumen una mayor cantidad de sangre y copulan más veces colocan un mayor número de huevos. Al respecto el desarrollo folicular y por lo tanto la fecundidad de las hembras de triatomíneos están regulados por la hormona juvenil cuya secreción es estimulada por un aumento en la concentración de aminoácidos y proteínas en la hemolinfa, que son producto de la digestión de

la sangre consumida. Este aumento es censado por receptores de rapamicina ubicados en el cuerpo graso dónde se genera una señal hacia el cerebro activando la liberación de neuropéptidos (allatotroínas) que actúan estimulando la glándula *corpora allata* para que libere hormona juvenil. Este sesquiterpenoide es transportado hasta el cuerpo graso por la hemolinfa unido a proteínas de transporte donde activa la producción de vitelogeninas y lipoforinas que, posteriormente formarán el vitelo en los ovocitos (DAVEY, 2007; NORIEGA, 2014).

El desarrollo de las gametas en lo ovarios de triatominos es un proceso de cambios morfológicos, histológicos y morfométricos complejos en el que actúan una gran diversidad de mecanismos que controlan la maduración de las mismas. Al analizar las mediciones obtenidas de los folículos basales se logró determinar un patrón cuantitativo de desarrollo en hembras híbridas que permitió reconocer tres fases por las que pasa el ovocito hasta la ovulación. La primera fase de desarrollo, denominada previtelogénesis, se encontró bien representada en hembras ayunadas, en ésta fase la longitud media de los folículos basales fue 0,923 mm. También se registró un bajo porcentaje de ovocitos vitelogénicos, hecho observado solo en una hembra, probablemente debido a que la misma no tuvo suficiente tiempo de ayuno antes de la disección para llevar sus ovariolas al estado basal ya que quizás tuvo mayores reservas sanguíneas en su sistema digestivo y presencia de un cuerpo graso de mayor tamaño que sus pares como sugiere COLLIER *et al.* (1981).

Luego de la ingesta y pasados 3 días, se registró un aumento considerable en el tamaño de los folículos que alcanzaron una longitud media de 1,989 mm, indicando que el ovocito se encontraba en la fase vitelogénica, además se registró la presencia de los primeros huevos corionados con longitudes medias de 3,139 mm hecho que permite inferir que el proceso de vitelogénesis en hembras híbrido duraría entre 48 y 72 horas coincidiendo con lo registrado por CATALÁ DE MONTENEGRO (1989) y ASÍN & CROCCO (1989) para *Triatoma infestans*.

Si bien hasta el día 5 post- ingesta un bajo porcentaje de hembras habían ovulado u ovipuesto, fue notorio el aumento de ovocitos corionados hasta el día 10, mientras que a los 14 días post- ingesta todas las hembras habían ovulado u ovipuesto observándose un importante aumento de gametas en previtelogénesis y vitelogénesis seguidos por una disminución de los ovocitos corionados. Esto último indicaría que el híbrido demoraría 10 días aproximadamente luego de la ingesta para completar el desarrollo folicular, condición similar a lo reportado para *T. infestans* (CATALÁ DE MONTENEGRO, 1989). Estos valores fluctúan entre las distintas especies de triatominos, por ejemplo, *Triatoma patagonica* Del Ponte 1929 demoró tres días (LOBBIA, 2009), *Triatoma barberi* Usinger 1939 cinco días (RAMÍREZ CRUZ *et al.* 2003, RAMÍREZ CRUZ *et al.* 2005), *Panstrongylus megistus* Burm 1835 cuatro días (BRASILEIRO *et al.* 1988), *Triatoma protracta* Uhler 1894 ocho días (MUNDAL & ENGELMAN, 1977).

Las longitudes de los folículos basales del híbrido durante las tres fases de desarrollo analizadas en el presente trabajo, fueron mayores comparadas con la de su parental *T. infestans* y con respecto a otros triatominos. ASÍN & CROCCO (1989) para *T. infestans* obtuvieron longitudes medias de 0,70 mm, 1,69 mm y 2,63 mm para folículos previtelogénicos, vitelogénicos y corionados respectivamente, mientras que para otros triatominos como por ejemplo para *T. barberi* RAMÍREZ CRUZ *et al.* (2003) citan longitudes medias de 0,63mm, 1,30 mm y 1,70 mm, o LOBBIA (2009) quién registró para *T. patagonica* longitudes medias iguales a 0,52 mm, 1,40 mm y 1,84 mm para folículos previtelogénicos, vitelogénicos y corionados respectivamente. Cabe aclarar que no se contó con datos bibliográficos sobre las medidas morfométricas de los folículos basales de *T. platensis* para realizar la comparación.

En relación a los cambios ocurridos a nivel de las ovariolas se pudo constatar que el desarrollo de los folículos es asincrónico entre ellas. Ésta marcada asincronía entre las 14 ovariolas también se registró en *T. infestans* (ASÍN & CROCCO, 1989). Por otro lado, apenas el ovocito basal fue ovulado, el penúltimo que se encontraba detenido en previtelogénesis pasó a

la fase de vitelogénesis. Estas características conducen a una superposición de fases del desarrollo en un mismo ovario por lo que ASÍN & CROCCO (1989) proponen no hablar de la existencia de un ciclo gonadotrófico.

Considerando el peso de los ovarios luego de la ingesta pudo observarse un aumento gradual hasta el día 10 coincidiendo con el desarrollo de los folículos ya que en este período de tiempo es donde se registró el mayor porcentaje de ovocitos corionados, luego al día 14 el peso de los órganos disminuyó coincidiendo con la disminución de gametas corionadas por lo que puede concluirse que el peso del ovario se encuentra íntimamente relacionado al desarrollo de los huevos por lo que puede ser un buen indicador del estado reproductivo de la hembra. Es de destacar que al momento pre- alimentación se obtuvo el peso mínimo de los ovarios, esto fue debido a que los mismos se encontraban en una etapa de atresia en donde la maquinaria reproductiva no estaba activa producto de la escasez de recursos alimentarios, coincidiendo con *Dipetalogaster maxima* Uhler 1894 (LEYRIA *et al.* 2015).

En relación a los cambios ocurridos a nivel histológico en los folículos basales, al igual que *Triatoma infestans* (BARTH, 1973) y *Rhodnius prolixus* (VANDERBERG, 1963; HUEBNER *et al.* 1972), las fases de desarrollo folicular se encontraron bien definidas presentando una fase inicial de previtelogénesis en la cual el ovocito mostró un citoplasma filamentoso de volumen reducido, al igual que lo reportado por BARTH (1973) para *T. infestans* y HUEBNER *et al.* (1972) para *R. prolixus*, además fue clara la presencia de un cordón trófico que nutrió al ovocito durante esta primera fase característico de un ovario telotrófico. Durante la fase de vitelogénesis, los núcleos del epitelio folicular experimentaron una mitosis sin citocinesis que produjo un tejido con células binucleadas.

El análisis de PO y CS demostró que ambas variables se encontraban relacionadas en las hembras híbridas tal como lo observó CATALÁ DE MONTENEGRO (1989) para *T. infestans*. El consumo mínimo de sangre que debió ingerir la hembra híbrida para poder iniciar la

producción ovárica fue de 32,57 mg de sangre, valor similar al reportado por CATALÁ (1984) para *T. infestans* que calculó una ingesta mínima de 35 mg, mientras que ASÍN & CROCCO (1989) estimaron para esta misma especie un valor de ingesta mínimo de 50 mg. Esta diferencia puede estar relacionada al estado nutricional de la hembra al momento de la muda a imago, ya que un déficit nutricional en el último estadio ninfal ocasionaría un gasto de todas las reservas grasas al momento de la muda, por lo que al llegar al estado adulto ésta debería ingerir una cantidad mayor de sangre antes de comenzar la producción de huevos.

Con respecto a la ECS para las hembras híbridas se obtuvo un valor de 36,55% mientras que para *T. infestans* CATALÁ & PASINA (1984) obtuvieron uno de 22,94%. Esta diferencia indicaría que la hembra híbrida utiliza las reservas nutricionales de manera más eficiente que la especie parental para destinarla a masa corporal. Finalmente, en relación a la ECCPO de hembras híbridas, ésta fue menor a la reportada por CATALÁ DE MONTENEGRO (1989) para hembras de *T. infestans* fecundadas (26,69%) e igual que para hembras vírgenes de la especie parental (14,93%). Un valor similar reportó BRASILEIRO (1983) para *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 que citó un valor de 14,60% en hembras vírgenes. Es decir, que la hembra híbrida destinó menor cantidad de sangre para producir huevos, mostrando valores de ECCPO similares a los obtenidos para hembras vírgenes de otras especies de triatomíneos, lo que resulta interesante si se considera que los insectos utilizados en este trabajo habían copulado.

El bajo valor obtenido de ECCPO en las hembras híbridas comparado con el de la especie parental *T. infestans* estaría en concordancia con los valores de fecundidad y fertilidad registrados ya que pone de manifiesto que el híbrido destina menos cantidad de nutrientes al evento reproductivo, afectando negativamente a la producción de huevos y al porcentaje de eclosión de los mismos. Este hecho podría explicarse ya que no se contaría con suficiente alimento para producir cantidades similares de huevos a las producidas por su parental. Por otro lado, estos huevos formados podrían estar conteniendo nutrientes de menor calidad en el



vitelo que utilizaría el embrión en su desarrollo, derivando en un menor porcentaje de huevos eclosionados, por lo que se recomendaría estudiar la cantidad, composición y calidad de las reservas en el huevo para compararlo con sus parentales y otras especies de triatominos.

Finalmente este trabajo aporta datos sobre de la biología reproductiva del híbrido entre *T. infestans* y *T. platensis* que permiten construir las bases para plantear nuevas incógnitas referidas a este organismo, por lo que sería interesante estudiar el efecto de la alimentación en los parámetros reproductivos del híbrido pero sobre otro hospedero (mamífero) ya que, como lo observaron ALDANA *et al.* (2009) y NATTERO *et al.* (2011), los triatominos tienen la capacidad de explotar de manera diferencial la sangre de distintos organismos dependiendo del ecotopo que habitan, y dicha utilización afecta directamente al evento reproductivo de estos insectos. Por otro lado, se debería llevar a cabo estudios sobre la eficiencia reproductiva del híbrido de generaciones siguientes con el fin de conocer si esta característica se mantiene o no, dato interesante para inferir si las poblaciones del híbrido pueden subsistir. Cabe destacar que no se contó con datos bibliográficos sobre el patrón de desarrollo folicular de *T. platensis*, por lo que se deberían ampliar los estudios en este sentido a fin de complementar el conocimiento del híbrido ya que permitiría una comparación más completa con los datos obtenidos en este trabajo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIRRE, S. A.; FREDE S.; RUBIOLO E. R. & CANAVOSO L. E. 2008. Vitellogenesis in the hematophagous *Dipetalogaster maxima* (Hemiptera: Reduviidae), a vector of Chagas' disease. **Journal of Insect Physiology** **54**: 393-402.
- ALDANA E.; JÁCOME D. & LIZANO E. 2009. Efecto de la alternación de fuentes sanguíneas sobre la fecundidad y la fertilidad de *Rhodnius prolixus* Stål (Heteroptera: Reduviidae). **Entomo Brasilis** **2** (1): 17-23.
- ALMEIDA, C. E.; OLIVERA, H. L.; CORREIA, N.; DORNAK L.; GUMIEL, M.; NEIVA, V. L.; HARRY, M.; MENDOÇA, V. J.; JANE COSTA, J. & GALVÃO, C. 2012. Dispersion capacity of *Triatoma sherlocki*, *Triatoma juazeirensis* and laboratory-bred hybrids. **Acta Tropica** **122** (2012): 71-79.
- ARÉVALO, A.; CARRANZA, J.; GUHL, F.; CLAVIJO, J. & VALLEJO, G. 2007. Comparación del ciclo de vida de *Rhodnius colombiensis* Moreno, (JURBERG & GALVAO, 1999) y *Rhodnius prolixus* (Stål, 1872) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) en condiciones de laboratorio. **Biomédica** **27**: 119-129.
- ASÍN, S. & CROCCO DE AYERBE, L. B. 1989. Crecimiento postemergencia de los folículos ováricos de *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). **Physis** **747**: 7- 14.
- ATELLA, G. C.; GONDIM, K. C.; MACHADO, E. A.; MEDEIROS, M. N.; SILVA-NETO, M. A. C. & MASUDA, H. 2005. Oogenesis and egg development in triatomines: a biochemical approach. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, **77**: 105-430.
- BAR, M. E. & WISNIVESKY-COLLI, C. 2001. *Triatoma sordida* Stål 1859 (Hemiptera, Reduviidae: Triatominae) in palms of northeastern Argentina. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz** **96**: 895-899.

- BAR, M. E.; OSCHEROV, E. B. & DAMBROSKY, M. P. 1986. Ciclo biológico de *Triatoma platensis* Neiva, 1913 (Reduviidae: Triatominae) bajo condiciones controladas de laboratorio. II parte. Comportamiento alimentario. **Historia Natural** 6: 101-104.
- BAR, M. E.; OSCHEROV, E. B. & DAMBROSKY, M. P. 1993. Ciclo biológico de *Triatoma platensis* (Neiva) (Heteroptera: Reduviidae). III. Longevidad de los adultos, y fecundidad y fertilidad de las hembras. **Sociedad Entomológica de Argentina** 52 (1-4): 73-78.
- BAR, M. E.; OSCHEROV, E. B.; ÁVALOS, G. & DAMBROSKY, M. P. 1996. Infección natural de *Triatoma sordida* por *Trypanosoma cruzi* en ecótopos silvestres de la provincia de Corrientes, Argentina. En: **V Jornadas Paraguayas de Biología, Asunción**. p.32.
- BARGUES, M. D.; KLISIEWICZ, D. R.; PANZERA, F.; NOIREAU, F.; MARCILLA, A.; PÉREZ, R.; ROJAS M. G.; O'CONNOR, J. E.; GONZALES-CANDELAS, F.; GALVÃO, C.; JURBERG, J.; CARCAVALLO, R. U.; DIJARDIN, J. P. & MAS-COMA, S. 2006. Origin and phylogeography of the Chagas disease main vector *Triatoma infestans* based on nuclear rDNA sequences and genome size. **Infection, Genetics and Evolution** 6: 46-62.
- BARGUES, M. D.; SCHOFIELD, C. J. & DUJARDIN, J. P. 2010. Classification and phylogeny of the Triatominae. In: TELLERIA, J. & TIBAYRENC, M. (eds.), **American Trypanosomiasis: Chagas Disease - One Hundred Years of Research**. pp. 117-147.
- BARRETO, M. P. & CARVALHEIRO, J. R. 1966. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*: inquérito preliminar sobre triatomíneos silvestres no município de Uberaba, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Biologia** 26: 5-14
- BELLO, A. 1978. Diferenças fenotípicas externas entre híbridos interespecíficos e suas respectivas espécies vectoras da doença de Chagas no Brasil (Triatominae, Reduviidae). **Revista Brasileira de Biologia** 38: 45-54.
- BRAGA, M. V. & LIMA, M. M. 2001. Efeitos de níveis de privação alimentar sobre a oogênese de *Panstrongylus megistus*. **Revista Saúde Pública** 35: 312-314.

- BRASILEIRO, V. L. F.; HADJ IDRIS A. E. & FURTADO A. F. 1988. Aspectos morfológicos e histológicos do desenvolvimento ovariano da fêmea adulta de *Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Reduviidae). **Revista Brasileira de Entomologia** **32** (2): 239-252.
- BRASILEIRO, V. L. 1983. Fecundidade e fertilidade da fêmea de *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera, Reduviidae). I) Influencia da copula e da longevidade. **Revista Brasileira de Biologia** **42** (1): 1-13
- BREWER, M.; GARAY, M.; GORLA, D.; MURUA, F. & FAVOT, R. 1983. Caracterización de los estadios ninfales del género *Triatoma* Laporte 1833. II. *Triatoma platensis* Neiva 1913, *Triatoma delpontei* Romaña y Abalos 1947, *Triatoma sordida* Stål 1859, (Hemiptera, Reduviidae). **Revista de la Sociedad Entomológica de Argentina** **42**: 219-241
- CABELLO, D. R.; LIZANO, E. & VALDERRAMA, A. 1988. Efecto de la frecuencia alimentaria sobre algunos parámetros poblacionales de *Rhodnius neivai*. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz** **83**: 441-446.
- CANALE, D. M. 2005. Triatominae: Vinchucas. En OD SALOMÓN (ed.), *Artrópodos de Interés Médico en Argentina*, Serie Enfermedades Transmisibles, Fundación Mundo Sano, p. 31-37.
- CATALÁ DE MONTENEGRO, S. S. 1983. Determinación de las reservas alimenticias en *Triatoma infestans* Klug, 1834 (Hemiptera, Reduviidae) en base a caracteres externos. I. Adultos. **Physis** **41**: 159-167.
- CATALÁ, S. S. & PASINA, L. 1984. Consumo y utilización del alimento en adultos de *Triatoma infestans* Klug, 1834 (Hemiptera, Reduviidae). **Physis** **42** (103): 127-133.
- CATALÁ DE MONTENEGRO, S. S. 1989. Relaciones entre consumo de sangre y ovogénesis en *Triatoma infestans* Klug 1834 (Hemiptera: Reduviidae). **Chagas** **5**: 3-10.
- CATALÁ, S.; GIOJALAS, L. & CROCCO, L. 1992. Temperature effect upon blood consumption in *Triatoma infestans*. **Memorias do Instituto do Oswaldo Cruz** **87**: 473-476.

- CARCAVALLO, R. U.; CURTO DE CASAS, S.; SHERLOCK, I. A.; GALÍDEZ GIIRÓN, J.; JURBERG, J.; GALVÃO, C.; MENCA SEGURA, C. A. & MOIREU, F. 1999. Geographical distribution and altitudinal and latitudinal dispersión. In: CARCAVALLO, R. U.; GALÍDEZ GIRÓN, I.; JURBERG, J. & LENT, H. (eds.). **Atlas of Chagas disease vectors in the Americas. Vol. 3, Fiocruz, Río de Janeiro**, p. 747-792.
- CARCAVALLO, R. U. & MARTÍNEZ, A. 1985. Biología, ecología y distribución geográfica de los triatomíneos americanos. In: CARCAVALLO, R. U.; RABINOVICH, J. & TONN, R. J. (eds.). **Factores biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas. Vol. 1. CPEHS OPC/OMS, Ministerio de Salud y Acción Social, Buenos Aires, Argentina**, p. 149-208.
- COLLIER, B. D.; BOSQUE, C. & RABINOVICH, J. 1981. An energy budget for *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae) under laboratory conditions. **Journal of Medical Entomology** **18** (4): 257-265.
- COSTA, J. M.; JURBERG, J. & RIBEIRO DE ALMEIDA, J. 1987. Estudos binômicos de *Dipetalogaster maximus* (Uhler, 1894) (Hemiptera- Triatominae). II- Influência da dieta sobre el ciclo biológico e resistênciã ao jejum. **Memoria do Instituto Oswaldo Cruz** **82**: 111-118.
- DAFLON-TEIXEIRA, N. F.; CARVALHO-COSTA, F. A.; CHIANG, R. G. & LIMA, M. M. 2009. Influence of blood meal and mating in reproduction patterns of *Triatoma brasiliensis* females (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. **Memoria do Instituto Oswaldo Cruz** **104**: 1031-1034.
- DA SILVA CUNHA, C. & FERREIRA BRASILEIRO, V. L. 1988. Maturidade sexual e reprodução en femeas de *Panstongylus megistus* Burmeister, 1835 (Hemiptera – Reduviidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Entomologia** **32** (3/4): 471-478
- DAVEY, K. G. 1967. Some consequences of copulation in *Rhodnius prolixus*. **Journal of Insect Physiology** **13**: 1629-1636.

- DAVEY, K. G. 2007. The interaction of feeding and mating in the hormonal control of egg production in *Rhodnius prolixus*. **Journal of Insect Physiology** **57**: 208-215.
- DAVEY, K. G. & HUEBNER, E. 1974. The response of follicle cells of *Rhodnius prolixus* to juvenile hormone antigonadotropin in vitro. **Canadian Journal of Zoology** **52**(11):1407-12.
- DE FREITAS, J. R. & GUEDES, A. S. 1961. Determination by radioactive iron ( $^{59}\text{Fe}$ ) of the amount of blood ingested by insect. **Bulletin of the World Health Organization** **25**: 271-273.
- DEL PONTE, E. 1921. Contribución al estudio del Género *Triatoma* (Lap). **Revista del Instituto Bacteriológico** **2** (6): 1-64.
- DIAS, J. C. P. & DIOTAIUTI, L. 1998. Vectores secundarios de la enfermedad de Chagas en el Brasil y perspectivas para su control. In: GUHL, F. & JARAMILLO, C.A. **Curso Taller**. Control de Tripanosomiasis Americana y Leishmaniosis: Aspectos Biológicos, Genéticos y Moleculares, Corcas Editores Ltda., Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia, p. 154-159.
- DUJARDIN, J. P.; PANZERA, F. & SCHOFIELD, C. J. 1999. Triatominae as a model of Morphological Plasticity under Ecological Pressure. **Memoria do Instituto Oswaldo Cruz** **94**: 223-228.
- DUJARDIN, J. P. & SCHOFIELD, J. C.; PANZERA, F. 2002. Los vectores de la enfermedad de Chagas, Sér 25, Académie Royale des Sciences d'Outre Mer, **Classe des Sciences Naturelles et Médicales**, p. 189.
- DUQUE, M.; RAMÍREZ, J. D.; RENDÓN, L. & GUHL, F. 2011. Evaluación de la variabilidad genética de aislamientos colombianos de *Trypanosoma cruzi* I mediante marcadores microsatélites. **Infection** **15**: 4.
- FRANCA, M. E.; YOUNG, D. G. & LOZANO, M. 1979. Estudio sobre los descendientes entre *Triatoma infestans* (Klug, 1934) y *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843), (Hemiptera, Reduviidae). **Revista Biológica de Uruguay** **7**: 101-105.

- FRUTTERO, L. L.; FREDE, S.; RUBIOLLO, E. R. & CANAVOSO, L. E. 2010. The storage nutritional resources during vitellogenesis in *Panstrongylus megistus* (Hemiptera: Reduviidae): The pathways of lipophorin in lipid delivery to developing oocyte. **Journal of Insect Physiology** **57** (2011) 475-486.
- GALVÃO, C.; CARCAVALLO, R.; SILVA ROCHA, D. & JURBERG, J. 2003. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. **Zootaxa** **202**: 1-36.
- GIRALDEZ, E.; ROVERANO, R. & REMONTE, M. 1997. Presencia de *Triatoma platensis*, Neiva 1913, infectados en las inmediaciones de la vivienda humana. **Med** **55**: 84.
- GORLA, D.; PORCASI, X.; HRELLAC, H. & CATALÁ, S. 2009. Spatial stratification of house infestation by *Triatoma infestans* in La Rioja, Argentina. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** **80**: 405-409.
- GORLA, D. E. 2002. Variables ambientales registradas por sensores remotos como indicadores de la distribución geográfica de *Triatoma infestans*. **Ecología Austral** **12**: 117-127.
- GORLA, D. E. & SCHOFIELD, C. J. 1989. Population dynamics of *Triatoma infestans* under natural climatic conditions in the Argentine Chaco. **Medical and Veterinary Entomology** **3**: 179-194.
- GUARNERI, A. A.; PEREIRA, M. H. & DIOTAIUTI, L. 2000. Influence of the blood meal source on the development of *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma sordida* and *Triatoma pseudomaculata* (Heteroptera: Reduviidae). **Journal of Medical Entomology** **37**: 373-379.
- GUHL, F. 2007. Chagas disease in Andean countries. **Memoria do Instituto Oswaldo Cruz** **102**: 29-38.

- GUREVITZ, J. M.; CEBALLOS, L. A.; KITRON, U. & GÜRTLER, E. 2006. Flight initiation of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) under natural climatic conditions. **Journal of Medical Entomology** **43**:143- 150.
- HUEBNER, E. & ANDERSON, E. 1972. A cytological study of the ovary of *Rhodnius prolixus*. I. The ontogeny of the follicular epithelium. **Journal of morphology** **136**: 459- 493
- JURBERG, J. & GALVÃO, C. 2006. Biology, ecology and systematics of Triatominae (Heteroptera - Reduviidae) vectors of Chagas disease and implications for human health. **Denisia** **19**:1096-1116.
- LEHANE, M. J. 1991. Biology of Blood Sucking Insects. **Harper Collins, London**, 288 pp.
- LEYRA, J.; FRUTTERO, L. L.; NAZAR, M. & CANAVOSO, L. E. 2015. The role of DmCat,  $\alpha$  Cathepsin D-Like peptidase, and Acid Phosphatase in the process of follicular atresia in *Dipetalogaster maxima* (Hemiptera: Reduviidae), a vector of Chaga disease. **PLoS ONE** **10** (6), 25 pp.
- LÓPEZ, A.; RODRÍGUEZ, C.; LOBBIA, P. & CROCCO, L. 2015. Híbridos experimentales entre *Triatoma infestans* (Klug) y *Triatoma platensis* (Neiva) (Hemiptera: Reduviidae): eficiencia reproductiva. **Libro de resúmenes Sociedad Argentina de Protozoología XXVII Reunión Anual**, pág. 53.
- MARTI, G. A.; ECHEVERRIA, M. G.; WALECKX, E.; SUSEVICH, M. L.; BALSALOBRE, A. & GORLA D. E. 2014. Triatominae in furnariid nests of the Argentine Gran Chaco. **Journal of Vector Ecology** **39** (1): 66-71.
- MARTINEZ GONZALES, M. A.; SANCHEZ VILLEGAS, A. & FAULIN FAJARDO, J. 2006. Bioestadística amigable. **Diaz de Santo, Madrid**. 914 p.
- MINISTERIO DE SALUD. 2007. Guía de nociones generales para abordar la problemática de Chagas con la comunidad. Buenos Aires: Ministerio de Salud Presidencia de la Nación (Programa Federal de Chagas).



- MONCAYO, A. & SILVEIRA, A. C. 2009. Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology, surveillance and health policy. **Memoria do Instituto Oswaldo Cruz** **104**: 17-30.
- MONTENEGRO, S. S. & PASINA, L. 1984. Consumo y utilización del alimento en adultos de *Triatoma infestans* Klug, 1834 (Hemiptera, Reduviidae). **Physis** **42**: 127-133.
- MUNDAL, E. & ENGELMANN, F. 1977. Endocrine control of vitellogenin synthesis and vitellogenesis in *Triatoma protracta*. **Journal of insect Physiology** **23**: 825-836.
- MUNDAL, E. 1978. Oviposition in *Triatoma protracta*: role of mating and relationship to egg growth. **Journal of Insect Physiology** **24**: 331-323.
- LOBBIA, P. A. 2009. **Tesis grado**. Patrón de desarrollo ovárico en hembras de *Triatoma patagonica* Del Ponte, 1929 (Hemiptera: Reduviidae). **FCEFN.UNC** 28 pp.
- NATTERO, J.; CROCCO, L. B. & RODRÍGUEZ, C. S. 2002. Feeding and defecation behavior of *Triatoma patagonica* (Del Ponte, 1929) (Hemiptera: Reduviidae). **Journal of Medical Entomology** **29**: 273-277.
- NATTERO, J.; LEONHARD, G.; RODRÍGUEZ, C. & CROCCO, L. 2011. Influence of the quality and quantity of blood ingested on reproductive parameters and life-span in *Triatoma infestans* (Klug). **Acta Tropica** **119** (3): 183-187.
- NATTERO, J.; RODRÍGUEZ, C. S. & CROCCO, L. 2012. Effect of blood meal source on food resource use and reproduction in *Triatoma patagonica* Del Ponte (Hemiptera, Reduviidae). **Journal of Vector Ecology** **38**: 127-133
- NOIREAU, F.; FLORES, R.; GUTIERREZ, T. & DUJARDIN, J. P. 1997. Detection of wild dark morphs of *Triatoma infestans* in the Bolivian Chaco. **Memoria do Instituto Oswaldo Cruz** **92**: 583-584.
- NOIREAU, F.; FLORES, R.; GUTIERREZ, T.; ABAD-FRANCH, F.; FLORES, E.; VARGAS, F. 2000. Natural ecotopes of *Triatoma infestans* dark morph and other sylvatic triatomines in the

- Bolivian Chaco. **Transaction of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** **94**: 23-27.
- NOIREAU, F.; CARBAJAL DE LA FUENTE, A. L.; LOPES, C. M. & DIOTAIUTI, L. 2005. Some considerations about the ecology of Triatominae. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** **77**: 431-436.
- NORIEGA, F. G. 2014. Juvenile Hormone biosynthesis in Insect: What is new, what do we know, and what questions remain? **International scholarly research**. Vol. **2014** pp16.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). 2015. La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/>.  
Accedido en octubre 2015.
- PANZERA, F.; PEREZ, R. & PANZERA, Y. 1995. Karyotype evolution in holocentric chromosomes of three related species of triatomines (Hemiptera-Reduviidae). **Chromosome Research** **3**: 143-150
- PEREIRA, J.; DUJARDIN, J. P.; SALVATELLA, R. & TIBAYREC, M. 1996. Enzymatic variability and phylogenetic relatedness among *Triatoma infestans*, *T. platensis*, *T. delpontei* and *T. rubrovaria*. **Heredity** **77**: 47-54.
- PEREZ, R.; HERNÁNDEZ, M.; QUINTEROS, O.; SCVORTZOFF F, E.; CANALE, D.; MÉNDEZ, L.; COHANOFF, C.; MARTINO, M. & PANZERA, F. 2005. Cytogenetic analysis of experimental hybrids in species of Triatominae (Hemiptera-Reduviidae). **Genetica** **125**: 261–270.
- PERLOWAGORA-SZUMLEWICS, A. & CORREIA, M. V. 1972. Induction of male sterility manipulation of genetic mechanisms present in vector species of Chagas disease (remarks on integrating sterile-male release with insecticidal control measures against vectors of Chagas disease). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo** **14**: 360-371.
- PINTO-SOARES, R. P.; DAS GRAÇA, L. E.; LARANJA, L. & DIOTAIUTI, L. 2000. Population dynamics and feeding behavior of *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma pseudomaculata*, main

- vectors of Chagas disease in Northeastern Brazil. **Memoria do Instituto Oswaldo Cruz** 95: 151-155.
- RAABE, M. 1986. Insect reproduction: Regulation of successive steps. **Advances of Insect Physiology** 19: 29-154.
- RAMIREZ-CRUZ A.; NOGUEDA- TORRES B. & MARTÍNEZ MORALES I. 2005. Madurez ovárica y proteínas del vitelo en hembras de *Triatoma barberi* Usinger, 1939 (Hemiptera: Reduviidae, Triatominae) infectadas experimentalmente con *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) (Protozoa: Trypanosomatide). **Acta Zoológica Mexicana** 21 (2): 101-107.
- RAMIREZ-CRUZ A.; NOGUEDA- TORRES B. & MARTÍNEZ MORALES I. 2003. Maduración ovárica en *Triatoma barberi* Usinger, 1939 (Hemiptera: Triatominae) bajo condiciones de laboratorio. **Folia Entomológica Mexicana** 42 (1): 21-26.
- RAVINOVICH, J. E. 1985. Ecología poblacional de Triatominos. **In:** CARCAVALLO, R., RABINOVICH, JE & TONN, R. (Ed.): **Factores biológicos y ecológicos de la Enfermedad de Chagas, OMS, Tomo I**, 13: 121-147.
- RAVINOVICH, J. E. 1972. Vital statistic of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) under laboratory conditions. I. *Triatoma infestans* Klug. **Journal of Medical Entomology** 9: 451-370.
- RAIKHEL, A. S. 2005. Vitellogenesis of disease vectors, from physiology to genes. In: MARQUARDT, W. C. (ed.), **Biology of disease vectors Elsevier Academic Press, London, UK**, p. 329-346.
- RODRÍGUEZ, C.; LOBBIA, P. A.; NATTERO, J.; CATALÁ, S. S.; CROCCO, L. 2014. Effect of feeding frequencies on the reproductive efficiency of two species of *Triatoma* (Hemiptera: Reduviidae) of different epidemiological importance. **Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 47: 430-436.

- RODRÍGUEZ, C. 2011. Características de *Triatoma patagonica* (Hemiptera: Reduviidae) relacionadas con la capacidad de colonizar el hábitat intradomiciliar. **Tesis Doctoral**. Doctorado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba.
- SALAZAR, S. P. M.; ROSALES, P. J. S.; ROJAS, W. G.; CABRERA, B. M.; VENCES, B. M. & LÓPEZ, C. J. 2007. *Triatoma mexicana* (Hemiptera: Reduviidae) in Guanajuato, México: house infestation and seasonal variation. **Memoria do Instituto Oswaldo Cruz 102**: 803-808.
- SALVATELLA, R. 1987. Distribución de *Triatoma platensis* Neiva, 1913 (Hemiptera, Triatominae) en Uruguay. **Revista de la Sociedad Uruguaya de Parasitología 1(1)**:51-56.
- SALVATELLA, R.; ROSA, R.; BRIANO, D.; BASMADJIAN, Y. & MARTÍNEZ, M. 1990. Hallazgo de híbridos naturales de *Triatoma infestans* (Klug, 1834) y *Triatoma rubrovaria* (Blanchard, 1843) (Hemiptera, Triatominae) en el Uruguay. **III Congreso Argentino de Protozoología y /Reunión sobre enfermedad de Chagas. En-4**, p. 20.
- SALVATELLA, R.; BASMADJIAN, Y.; ROSA, R.; MARTÍNEZ, M.; MEDRANO, G. & CIVILA, E. 1991. *Triatoma platensis*. Hallazgo de *Triatoma platensis* Neiva, 1913 (Hemiptera, Triatominae) en el estado brasileño de Río Grande do Sul. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo, 33**: 1-5
- SALVATELLA, R. A. 2007. Achievements in Controlling Chagas Disease in Latin America, WHO, Geneva.
- SCHOFIELD, C. J.; JANNIN, J. & SALVATELLA, R. 2006. The future of Chagas disease control. **Trends in Parasitology 22**: 583-588.
- SCHOFIELD, C. J. & GALVÃO, C. 2009. Classification, evolution and species group within the Triatominae. **Acta Tropica 110**: 88-100.

- STOKA, A. M.; SALOMÓN, O. D. & NORIEGA, F. G. 1987. Physiology of Triatominae's reproduction. En RB Brenner, AM Stoka (eds.), **Chagas' disease vectors, vol. 2, CRC Press, Florida**, p. 109-129.
- TELFER, W. H. 1954. Immunological studies of insect metamorphosis. II. The role of a sex limited blood protein in egg by the *Cecropia* silkworm. **The Journal of General Physiology** **37** (4): 539-558.
- TOLOSA, E. M. C.; RODRIGUES, C. J.; BEHMER, O. A. & NETO, A. G. F. 2003. **Manual de técnicas para histología normal e patológica. São Paulo. Manole**. p. 34-41.
- TUFAIL, M. & TAKEDA, M. 2008. Molecular characteristics of insect vitellogenins. **Journal of Insect Physiology** **54**: 1447-1458
- VANDERBERG, J. P. 1963. Synthesis and transfer of DNA, RNA, and protein during vitellogenesis in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera). **The biological bulletin** **125**: 556-575.
- WALDBAUER, G. P. 1968. The consumption and utilization of food by insect. **Advances of Insect Physiology** **5**: 229-288.
- WALECKX, E.; SALAS, R.; HUAMÁN, N.; BUITRAGO, R.; BOSSENO, M. F.; ALIAGA, C.; BARNABÉ, C.; RODRIGUEZ, R.; ZOVEDA, F.; MONJE, M.; BAUNE, M.; QUISBERTH, S.; VILLENA, E.; KENGNE, P.; NOIREAU, F. & BRENIERE, S. F. 2011. New insights on the Chagas disease main vector *Triatoma infestans* (Reduviidae, Triatominae) brought by the genetic analysis of Bolivian sylvatic populations. **Infections, Genetics and Evolution** **11**: 1045-1057.
- WHO. 2007. World Health Organization. Grupo de Trabajo Científico sobre la enfermedad de Chagas. TDR/ GTC/ 09, Geneva.
- WIGGLESWORTH, V. B. 1948. The functions of the corpus allatum in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera). **Journal Experimental Biology** **25**: 1-14
- WISNEVSKY-COLLI, C. 1993. La importancia del peridomicilio en un programa de eliminación de *T. infestans*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **26**: 55-63.

ZELEDÓN, R. 1983. Vectores de la enfermedad de Chagas y sus características ecofisiológicas.

**Interciencia 8:** 384-395.

ZELEDÓN, R. & RAVINOVICH, J. E. 1981. Chagas disease: an ecological appraisal with special emphasis on its insect vectors. **Annual Review of Entomology 26:** 101-133.

ZINGALES, B.; MILES, M. A.; CAMPBELL, D. A.; TIBAYREC, M.; MACEDO, A. M.; TEIXEIRA, M. M.; SCHIJMAN, A. G.; LLEWELYN, M. S.; LAGES-SILVA, E.; MACHADO, C. R.; ANDRADE, S. G. & STURM, N. R. 2012. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. **Infections, Genetics and Evolution; 12:** 240-253.

Tabla I: Longitud, ancho y volumen de los folículos basales de las ovariolas de híbridos de *T. infestans* y *T. platensis* antes de la ingesta (día 0) y a distintos días post-ingesta (3 a 16 días). n: número de folículos basales; longitud a, b y c difieren significativamente entre días post-alimentación (H=120,397; GL=6; p<0,05); ancho a, b y c difieren significativamente entre días post- alimentación (H=119,182; GL=6; p<0,05); volumen a, b y c difieren significativamente entre días post- ingesta (H=123,207; GL=6; p<0,05). Mín (mínimo); Máx (máximo); DS (desvío estandard).

Día post-ingesta	n	Longitud (mm)	Ancho (mm)	Volumen (mm <sup>3</sup> )
		Media±DS (Mín-Máx)	Media±DS (Mín-Máx)	Media±DS (Mín-Máx)
0	31	0,768±0,177 <sup>a</sup> (0,539-1,242)	0,506±0,095 <sup>a</sup> (0,334-0,726)	0,133±0,084 <sup>a</sup> (0,042-0,380)
3	24	1,702±0,891 <sup>b</sup> (0,743-3,437)	0,896±0,376 <sup>b</sup> (0,453-1,698)	1,431±1,823 <sup>b</sup> (0,108-6,128)
5	41	2,385±0,886 <sup>bc</sup> (0,994-3,625)	1,321±0,534 <sup>c</sup> (0,457-2,043)	3,759±2,975 <sup>c</sup> (0,187-8,618)
7	39	2,597±0,619 <sup>c</sup> (0,906-3,505)	1,358±0,330 <sup>c</sup> (0,599-1,932)	3,562±2,141 <sup>c</sup> (0,199-8,038)
10	31	2,668±0,545 <sup>c</sup> (1,459-3,479)	1,470±0,351 <sup>c</sup> (0,781-2,103)	4,167±2,344 <sup>c</sup> (0,574-9,319)
14	28	1,562±0,475 <sup>b</sup> (0,799-2,751)	0,801±0,212 <sup>b</sup> (0,600-1,565)	0,791±0,856 <sup>b</sup> (0,210-4,288)
16	29	1,526±0,445 <sup>b</sup> (0,580-2,828)	0,804±0,211 <sup>b</sup> (0,549-1,434)	0,748±0,676 <sup>b</sup> (0,094-3,546)

Tabla II: Variación en el tamaño de los folículos basales según la fase de desarrollo folicular en hembras híbridas de *T. infestans* y *T. platensis*. n: número de folículos analizados; longitud a, b y c difieren significativamente (H=154,089; GL=2, p<0,0001); ancho a, b y c difieren significativamente (H=149,190; GL=2, p<0,0001); volumen a, b y c: difieren significativamente (H=156,138; GL=2, p<0,0001). Mín (mínimo); Máx (máximo); DS (desvío estándar).

Fases de desarrollo folicular	n	Longitud (mm)	Ancho (mm)	Volumen(mm <sup>3</sup> )
		Media±DS (Mín-Máx)	Media±DS (Mín-Máx)	Media±DS (Mín-Máx)
Previtelogénesis	56	0,923±0,330 <sup>a</sup> (0,539-1,996)	0,555±0,113 <sup>a</sup> (0,334-0,951)	0,204±0,170 <sup>a</sup> (0,042-0,918)
Vitelogénesis	123	1,989±0,627 <sup>b</sup> (0,955-3,437)	1,053±0,353 <sup>b</sup> (0,457-1,956)	1,849±1,645 <sup>b</sup> (0,187-6,602)
Corionados	44	3,139±0,324 <sup>c</sup> (2,305-3,625)	1,705±0,223 <sup>c</sup> (1,075-2,103)	6,037±1,802 <sup>c</sup> (2,414-9,319)



Fig. 1: Sistema reproductor de hembras de triatominos. A-Diagrama extraído de STOKA & SALOMÓN, 1987. B- Fotografía digital perteneciente a hembra híbrida de *T. infestans* y *T. platensis* a los 7 días post-ingesta. Filamento terminal (a); ovario (b); ovariola (c); cáliz (d); oviducto lateral (e); oviducto común (f); espermateca (g); vagina (h).

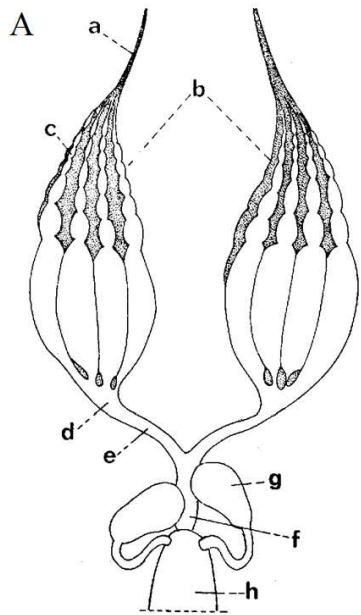


Fig. 2: Regresión lineal entre número de cópulas y fecundidad (huevos/ hembra) en parejas de adultos de *T. infestans* y *T. platensis*. Coeficiente de Pearson  $r=0,62$  ( $p=0,032$ );  $n= 12$ ;

$$\text{Fecundidad} = 33,265 + 4,7137 * \text{N}^\circ \text{ cópulas}$$

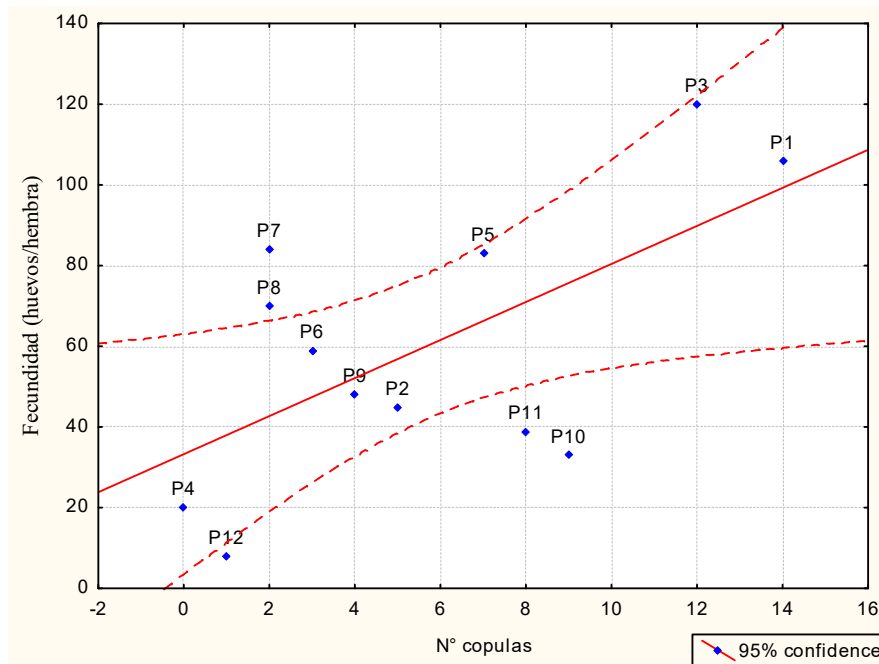


Fig. 3: Regresión lineal entre fecundidad (huevos/hembra) e ingesta total (mg) en hembras híbridas de *T. infestans* y *T. platensis*. Coeficiente de Pearson  $r=0,78$  ( $p=0,003$ );  $n= 12$ ; Fecundidad =  $7,3319 + 0,0397 * \text{Ingesta total (mg)}$ .

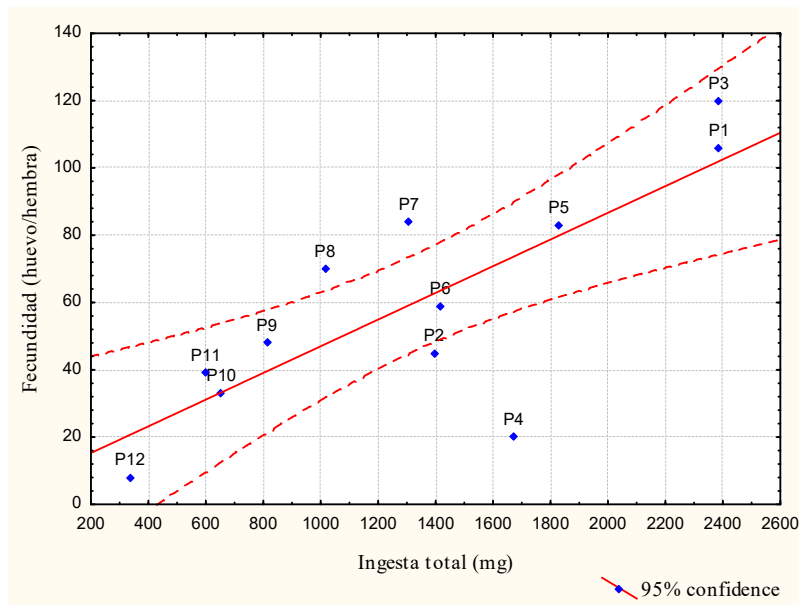


Fig. 4: Variación del crecimiento (longitud y ancho) del folículo basal de las ovariolas en hembras híbridas de *T. infestans* y *T. platensis* antes de la ingesta (día 0) y a distintos días post-ingesta (3 a 16 días).

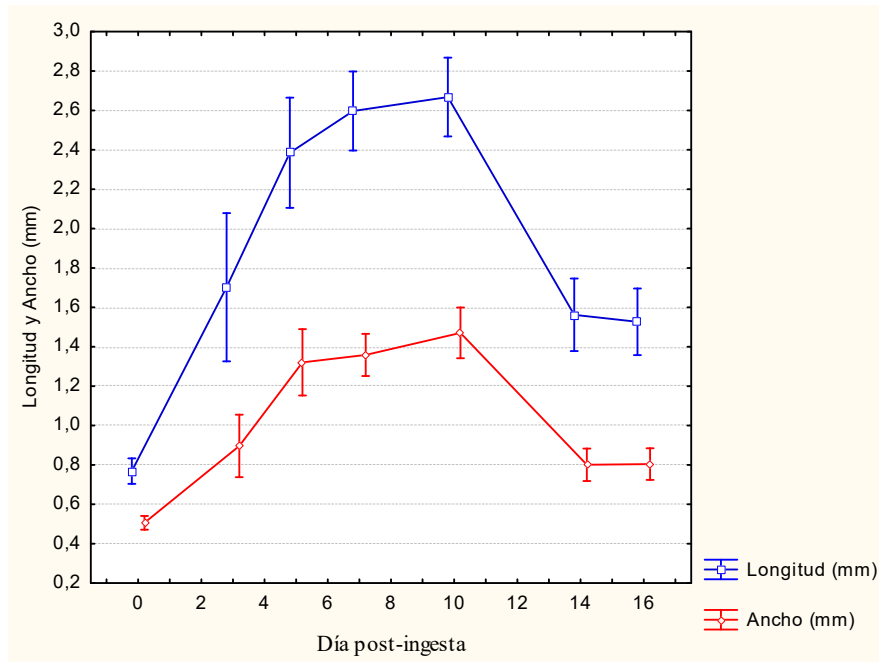


Fig. 5: Variación del volumen del folículo basal de las ovariolas en hembras híbridas de *T. infestans* y *T. platensis* antes de la ingesta (día 0) y a distintos días post-ingesta (3 a 16 días).

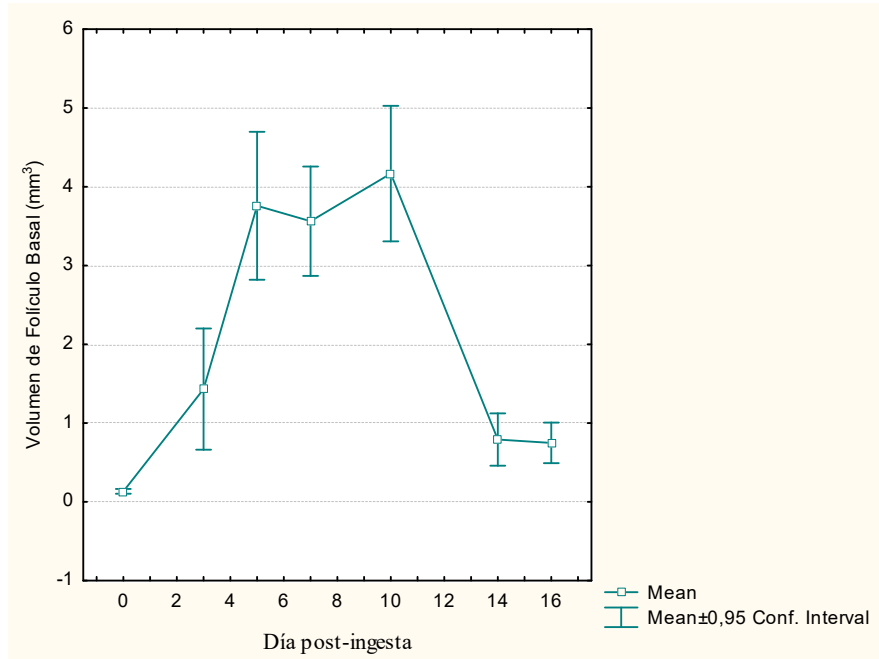


Fig. 6: Porcentaje de folículos basales en distintas fases de desarrollo en hembras híbrido de *T. infestans* y *T. platensis* antes de la ingesta (día 0) y a distintos días post- ingesta (3 a 16 días).

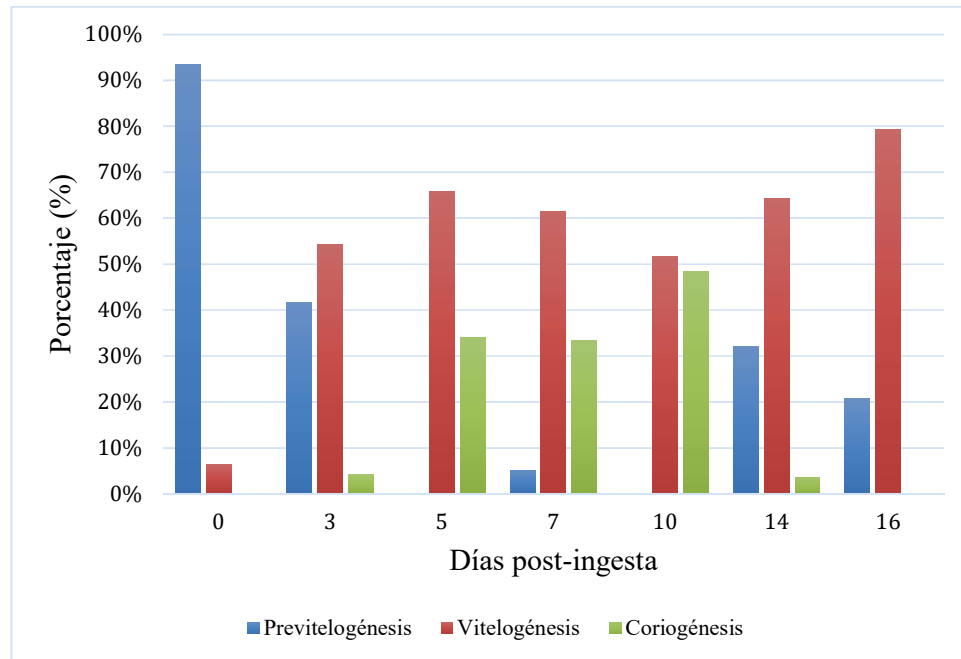


Fig. 7: Variación del peso fresco de los ovarios (mg) en hembras híbridas de *T. infestans* y *T. platensis* antes de la ingesta (día 0) y a distintos días post-ingesta (3 a 16 días). a y b difieren significativamente ( $F=3,3990$ ;  $GL=6$ ,  $p=0,0108$ ).

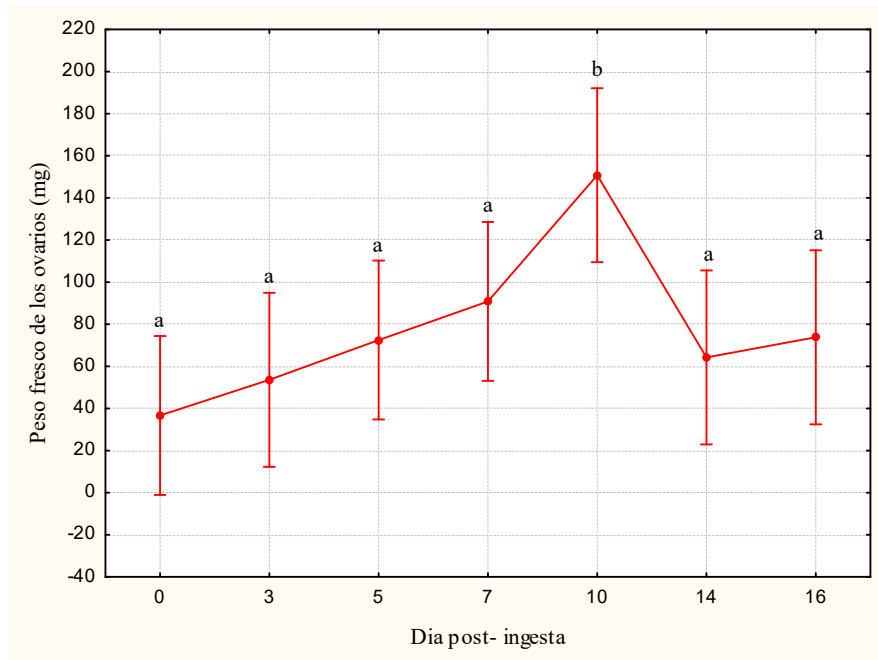


Fig. 8: Secuencia de desarrollo folicular en ovarios de hembras híbridas de *T. infestans* y *T. platensis* (A-E). A: ovocito en previtelogénesis temprana (corte transversal) (10X HE). B: ovocito en previtelogénesis temprana (corte longitudinal) (20X HE). C: ovocito en previtelogénesis tardía (20X HE). D: ovocito en vitelogénesis temprana (10 X HE). E: ovocito en vitelogénesis tardía (10X HE). Mp: membrana peritoneal; Ef: Epitelio Folicular; Po: espacio perioocítico; Oo: ooplasma; Ct: cordón Trófico.

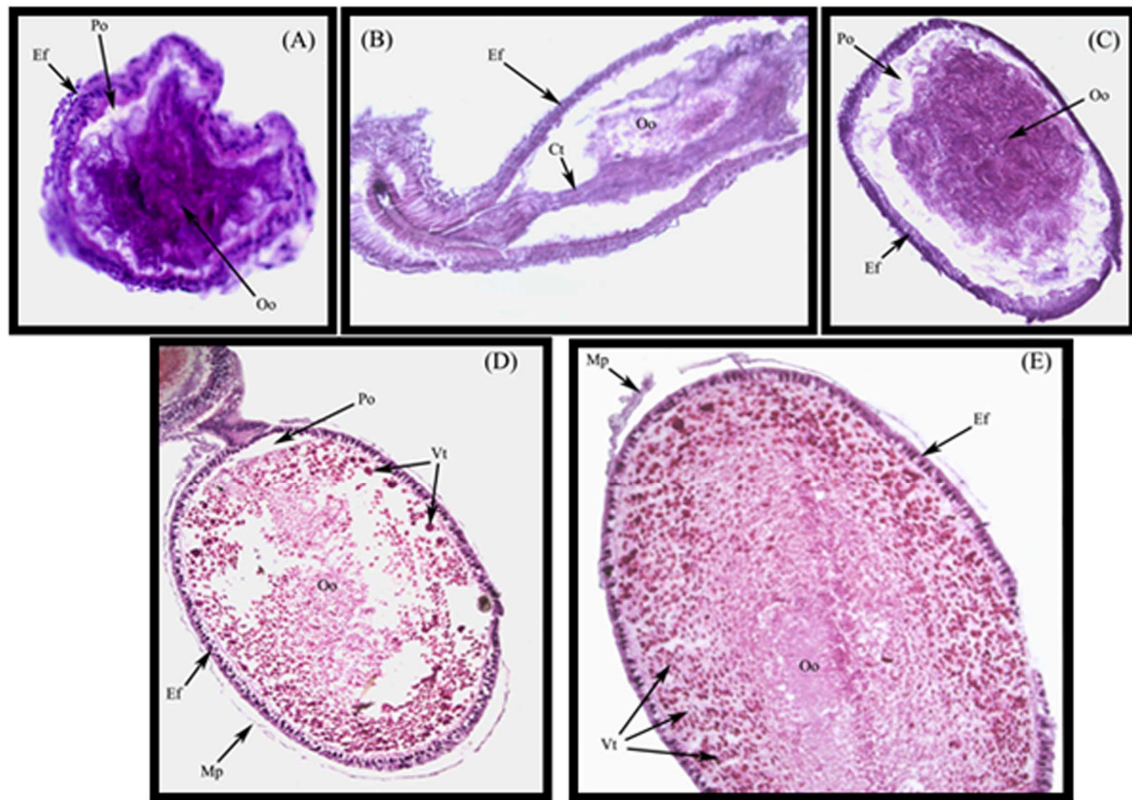




Fig. 9: Secuencia de desarrollo de las células del epitelio del folículo basal en ovarios de hembras híbridas de *T. infestans* y *T. platensis* (A-D). F: epitelio folicular de ovocito en previtelogénesis temprana (80X HE). B: epitelio folicular de ovocito en previtelogénesis tardía (80X HE). C: epitelio folicular binucleado de ovocito en vitelogénesis temprana (80X HE). D: epitelio folicular de ovocito en vitelogénesis tardía (80X HE). N: núcleo; Po: espacio perioocítico; Oo: ooplasma; Vt: vitelo.

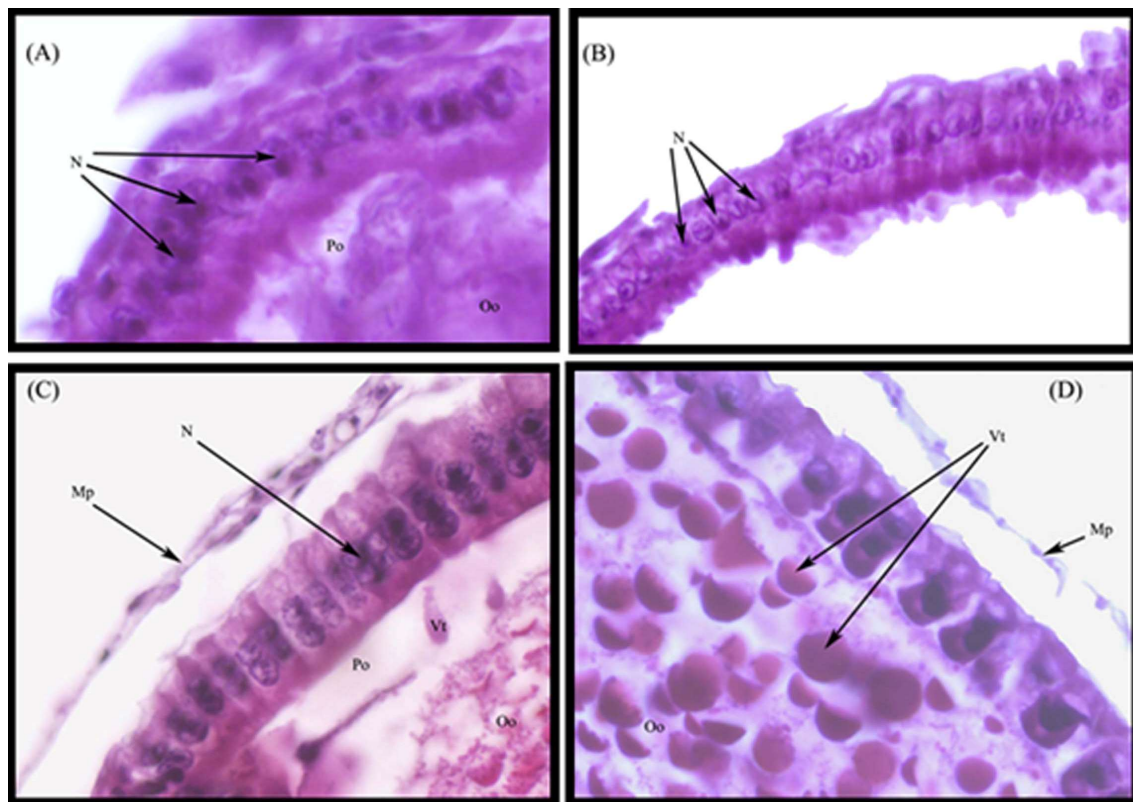


Fig. 10: Regresión lineal entre consumo de sangre (mg) y producción ovárica (mg) en hembras híbridas de *T. infestans* y *T. platensis*. Coeficiente de Pearson  $r=0,55$  ( $p=0,0027$ );  $n=32$ ; Producción ovárica (mg) =  $-9,3919 + 0,5444 * \text{Consumo de sangre (mg)}$ .

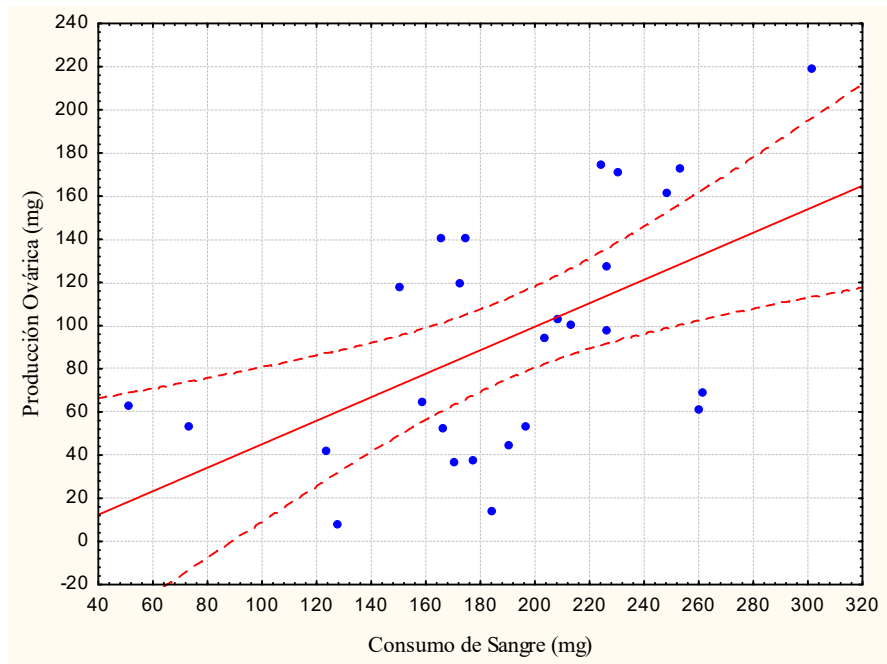


Fig. 11: Regresión lineal peso de hembra (mg) y peso seco del promesenterón (mg) en hembras híbridas de *T. infestans* y *T. platensis*. Coeficiente de Pearson  $r=0,61$  ( $p=0,0002$ );  $n=32$ ; Peso seco del promesenterón =  $-26,1419 + 0,1548 * \text{Peso de la hembra}$ .

