

**PREFERENCIAS LUMÍNICAS de *Panstrongylus chinai* INSECTO TRANSMISOR DE
LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN ECUADOR**

UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Trabajo de Fin de Master Titulado:

**“PREFERENCIAS LUMÍNICAS DE *Panstrongylus chinai* INSECTO TRANSMISOR
DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN ECUADOR.”**

Realizado por:

NICOLE ANAHI CORONEL ROJAS

Director del proyecto:

Anita Gabriela Villacis, Ph.D.

Juan Carlos Navarro, Ph.D

Como requisito para la obtención del título de:

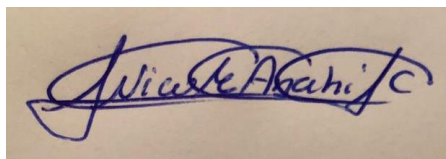
MASTER EN BIOMEDICINA

Quito, 10 de Septiembre de 2021

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, NICOLE ANAHI CORONEL ROJAS, con cédula de identidad 1724062995, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado a calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normativa institucional vigente.

A photograph of a handwritten signature in blue ink on a light-colored surface. The signature is cursive and appears to read 'Nicole Anahi Coronel Rojas'.

FIRMA

1724062995

DECLARATORIA

El presente trabajo de investigación titulado:

**“PREFERENCIAS LUMÍNICAS de *Panstrongylus chinai* INSECTO TRANSMISOR
DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN ECUADOR.”**

Realizado por:

NICOLE ANAHI CORONEL ROJAS

como Requisito para la Obtención del Título de:

MÁSTER EN BIOMEDICINA

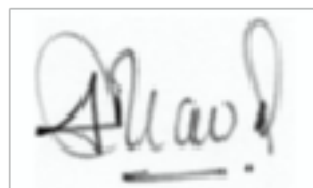
ha sido dirigido por los profesores

ANITA GABRIELA VILLACIS SALAZAR

JUAN CARLOS NAVARRO CASTRO

quien considera que constituye un trabajo original de su autor

FIRMA

A rectangular box containing a handwritten signature in black ink. The signature appears to be 'J. Navarro' with a horizontal line underneath.

FIRMA

LOS PROFESORES INFORMANTES

Los Profesores Informantes:

JOSÉ RUBÉN RAMÍREZ-IGLESIAS

LINO ARISQUETA-HERRANZ

Después de revisar el trabajo presentado,
lo han calificado como apto para su defensa oral ante
el tribunal examinador



FIRMA



FIRMA

Quito, 10 de Septiembre de 2021

El presente Trabajo de Fin de Master ha sido realizado dentro del Proyecto de Investigación de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador:

**EVALUACIÓN DEL IMPACTO DE LA CALIDAD DE LUZ EN LA PRESENCIA DE
TRIATOMINOS, VECTORES DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN
COMUNIDADES DE ECUADOR**

Perteneciente a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Carrera de Ciencias Biológicas.

Y

Bajo el Marco del **Programa de Investigación en Salud Global de la Universidad Internacional SEK, Línea de Investigación en Entomología Médica y Biología de Vectores**

DEDICATORIA

A mis Padres, Ramiro y Shirley, que han sido mi mayor inspiración y soporte para tomar cada decisión en mi vida. A mis hermanas, que han apoyado y animado a seguir adelante. A mis amigos, que han hecho de cada paso de mi vida una aventura incomparable. A mis colegas que formaron parte de este proyecto apoyando en el desarrollo para culminarlo con éxito.

AGRADECIMIENTO

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, al Centro de investigación para la Salud en América Latina (CISeAL), por el aporte logístico y económico para el desarrollo del proyecto “Evaluación del impacto de la calidad de luz en la presencia de triatominos, vectores de la enfermedad de Chagas en comunidades de Ecuador”. Código de proyecto: O13070.

A la Dra. Christiana Katti por brindarme la oportunidad de formar parte del proyecto y aportar en gran manera en el conocimiento y desarrollo de habilidades que contribuyen a mi formación profesional. A la Dra. Anita Villacis que es un soporte fundamental para la culminación de este proyecto.

A la Universidad Internacional SEK y al cuerpo de docentes que forma parte del programa de Maestría en Biomedicina, que han aportado con conocimiento para el desarrollo y presentación de este proyecto.

Para ser enviado:

To be submitted:

Preferencias lumínicas de *Panstrongylus chinai* insecto transmisor de la enfermedad de Chagas en Ecuador

Nicole Coronel^{1,2}, Juan Carlos Navarro^{2,3}, Anita G. Villacís^{1*}, Christiana Katti^{1*}

¹Center for Research on Health in Latin America (CISeAL), School of Biological Sciences,
Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.

²Maestría en Biomedicina, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Internacional SEK,
Quito Ecuador

³Grupo de Investigación en Enfermedades Emergentes, Desatendidas, Ecopidemiología y
Biodiversidad, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Internacional SEK, Quito
Ecuador

*Corresponding author.

Resumen

La enfermedad de Chagas (EC) también se conoce como tripanosomiasis americana, es causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* y se transmite a través de las heces de los insectos chupadores de sangre, Triatominae. Los géneros de Triatominos con importancia epidemiológica son: *Triatoma*, *Rhodnius* y *Panstrongylus*. Algunas especies del género *Panstrongylus* han aumentado su interés en los últimos años, este es el caso de *Panstrongylus chinai* (Del Ponte 1929). Los triatominos son uno de los mejores modelos experimentales en estudios de fisiología sensorial de insectos, muchas investigaciones han revelado que los sentidos térmicos, visuales y olfativos juegan un papel crucial en la orientación de estos insectos hacia el hospedador. Por este motivo, para determinar la preferencia de los Triatominos por diferentes colores de luz en condiciones de laboratorio, se realizó un estudio del sistema visual de *P. chinai*, y su preferencia o repulsión por diferentes colores de luz cuando se exponen a un estímulo olfativo. Los insectos fueron expuestos a luz de varias longitudes de onda en colores rojo, azul y verde. Además, se estudió la preferencia de la oscuridad sobre la luz y el comportamiento de agregación. Este estudio demostró que *P. chinai* tiene: i) una preferencia muy significativa por la oscuridad ($p < 0,0001$). ii) Además, al no tener zona oscura, su preferencia fue altamente significativa hacia el color rojo ($p < 0,0001$) y iii) se evidenció un comportamiento de agregación en el 60% de los individuos. Estos resultados permitieron concluir que los triatominos evitan la luz, agregándose una vez que encuentran un lugar oscuro, como grietas en las paredes, un lugar propicio para esconderse en el intra y peridomicilo. Finalmente, la información sobre el comportamiento visual y las preferencias lumínicas permiten formular una propuesta para el control de la EC al conocer y comprender la orientación de los triatominos hacia los refugios.

Palabras clave: Enfermedad de Chagas, *Panstrongylus chinai*, Señales olfativas, Sistema visual, Triatominos.

Abstract

Chagas disease (CD) is also known as American Trypanosomiasis, it is caused by the flagellated protozoan *Trypanosoma cruzi*, and transmitted through the feces of blood-sucking insects, Triatominae. The genera of Triatomines with epidemiological importance are: *Triatoma*, *Rhodnius* and *Panstrongylus*. Some species of *Panstrongylus* genus have increased their interest in the last years, this is the case of *Panstrongylus chinai* (Del Ponte 1929). Triatomines are one of the best experimental models in sensory physiology studies of insects, much research has revealed that the thermal, visual, and olfactory senses play a crucial role in guiding these insects toward the host. For this reason, to determine the preference of Triatomines for different colors of light under laboratory conditions, we conducted a study of the visual system of *P. chinai*, and their preference or repulsion for different colors of light when exposed to an olfactory stimulus. The insects were exposed to light of various wavelengths in red, blue and green colors. In addition, the preference of darkness over light and the aggregation behavior were studied. This study demonstrated that *P. chinai* has: i) a highly significant preference for darkness ($p < 0.0001$). ii) Furthermore, as it did not have a dark area, its preference was highly significant towards the red color ($p < 0.0001$) and iii) an aggregation behavior was evidenced in 60% of the individuals. These results allowed concluding that triatomines avoid light, adding themselves once they find a dark place, such as cracks in the walls, a propitious place to hide in the intra and peridomicile. Finally, information on visual behavior and light preferences allows formulating a proposal for the control of CD by knowing and understanding the orientation of triatomines towards shelters.

Keywords: Chagas disease, *Panstrongylus chinai*, Olfactory signals, Visual system, Triatomines

INTRODUCCIÓN

La Enfermedad de Chagas (EC) es una enfermedad zoonótica, producida por el parásito extracelular *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida:Trypanosomatidae), el cual se transmite de animales a humanos mediante un insecto vector, la cual ha existido durante miles de años en una relación continua entre el parásito y el reservorio (Briceño-León, 2009; Moncayo & Silveira, 2009; Mosquera et al., 2016). Para que el contagio se produzca, es necesario contar con un conjunto de factores ambientales como presión, temperatura y humedad, además de factores socio-económicos asociados a las condiciones de vida de las comunidades en zonas endémicas de la enfermedad (Briceño-León, 2009). A pesar de existir diversas maneras de transmisión del parásito, la forma principal y la más estudiada ha sido la transmisión vectorial, ésta puede producirse en tres diferentes ambientes: silvestre, domiciliar y peridomiciliar (Coura, 2013).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que existe entre 6 y 7 millones de personas infectadas en América Latina (OMS, 2021; Villacís et al., 2020). En el Ecuador, el control de esta enfermedad todavía sigue siendo unos de los retos por parte del Ministerio de Salud Pública (MSP) (Dumonteil et al., 2016; Quinde-Calderón et al., 2016). Se estima que en Ecuador existen más que 200 000 personas infectadas (OMS, 2019). La vigilancia de la EC requiere conocimientos actuales sobre la distribución e infección de triatomíneos, estos datos también son cruciales para la planificación y evaluación de las intervenciones de control de vectores (Ribeiro et al., 2019). El control de esta enfermedad se basa principalmente en la reducción de la infestación de los triatomíneos en las viviendas por medio de insecticidas piretroides (Laiño et al., 2019; Nattero et al., 2019; Traverso et al., 2017). El nivel de adaptación de los triatomíneos a la vivienda humana es una parte clave de la competencia de los vectores y debe evaluarse con precisión para permitir el diseño de estrategias efectivas de prevención y control (Waleckx et al., 2015).

Los triatominos tienen una distribución amplia en América Latina y mantienen el riesgo potencial de transmisión del parásito causante de la ECh a humanos y animales domésticos (Ribeiro et al., 2019). La importancia médica se debe a que su papel como vectores promueve la diseminación de esta enfermedad en países endémicos donde puede encontrarse el parásito (Sant'Anna et al., 2017). Los triatominos son insectos pertenecientes a la Clase Insecta, Orden Hemiptera, Familia Reduviidae, subfamilia Triatominae (Coura & Borges-Pereira, 2012; Galvão et al., 2003; Justi & Galvão, 2017).

La subfamilia triatominae incluye 5 tribus y se han reportado al menos 151 especies de triatominos en todo el mundo (Justi & Galvão, 2017). En Ecuador se ha registrado la presencia de 16 especies de triatominos, siendo los principales transmisores del parásito, *Rhodnius ecuadoriensis* (Lent & León 1958) y *Triatoma dimidiata* (Latreille 1811) (Grijalva & Villacis, 2009; Villacis et al., 2020). *Triatoma*, *Rhodnius* y *Panstrongylus* son considerados los principales géneros causantes de la EC (CDC, 2020).

El género *Panstrongylus* pertenece a la tribu Triatomini e incluye 14 especies (Ceccarelli et al., 2018). Las especies del género está distribuidas desde Nicaragua hasta Argentina, ocupando hábitats, peridomésticos y domésticos. En Ecuador, se han registrado cinco especies: *Panstrongylus chinai* (Del Ponte 1929), *P. howardi* (Neiva, 1911), *P. rufotuberculatus* (Champion, 1899), *P. geniculatus* (Latreille 1811) y *P. lignarius* (Walker, 1873) / *herrerri* (Wygodzinsky, 1948) (Villacis et al., 2015, 2020).

Las especies muestran pequeñas diferencias morfológicas que pueden estar asociadas a adaptación a diferentes ecotopos selváticos y/o ambientes domésticos (Patterson et al., 2009). Algunas especies de *Panstrongylus* han cobrado importancia epidemiológica en los últimos años, este es el caso de *Panstrongylus chinai* (Del Ponte 1929). Esta especie se distribuye en Ecuador, Perú y Venezuela (Patterson et al., 2009; Villacis et al., 2020). En Perú, se reporta que esta especie es el principal vector doméstico en el Departamento de Piura (Barrett, 1991);

mientras que en Ecuador esta especie ocupa ambientes peridomésticos, incluidos nidos de gallinas y cuyeras, como también en el hábitat domiciliar, particularmente en dormitorios. *P. chinai* se ha registrado en las provincias del sur del país, como Loja y El Oro en altitudes que oscilan entre 175 hasta una altitud de 2,003 metros. No hay reportes silvestres a pesar de los esfuerzos realizados en estas provincias (Abad-Franch et al., 2001; Barrett, 1991; Grijalva, Villacis, Ocaña-Mayorga, et al., 2015).

La morfología de estos insectos está claramente modulada por factores ecológicos (Schofield & Galvão, 2009), y la variación fenotípica puede surgir en respuesta a un entorno diferente (Lazzari et al., 2011; Villacis et al., 2015). Los estudios morfológicos realizados analizan la interacción entre el genotipo y el medio ambiente, y permite la interpretación de las relaciones funcionales, las adaptaciones y la evolución de la especie (Adams et al., 2004).

Los Triatominae: Reduviidae son quizás los mejores modelos experimentales en estudios de fisiología sensorial de insectos, muchas investigaciones han revelado que los sentidos térmicos, visuales y olfativos juegan papeles críticos en la orientación de estos insectos chupadores de sangre hacia los hospedadores (Barrozo et al., 2017). Las ninfas domiciliarias y los insectos adultos de las especies de Triatominae generalmente están ocultos en áreas oscuras durante el día. Su actividad comienza por la noche, buscando al hospedador a través de las señales olfativas o térmicas (Reiseman & Lazzari, 2006).

En los últimos años se han llevado a cabo varios trabajos de investigación relacionados con el comportamiento de los triatominos, para conocer la fisiología del insecto, así como también con el interés de controlar al insecto transmisor de la EC (Lazzari et al., 2013). Dichos trabajos han permitido identificar y caracterizar las fuentes alimentarias de estos insectos hematófagos (Arias-Giraldo et al., 2020; Ocaña-Mayorga et al., 2021), y conocer los diferentes mecanismos fisiológicos del comportamiento al momento de reproducirse o interactuar con el ambiente (Leyria et al., 2020, 2021).

En Ecuador, se han realizado estudios acerca de los ciclos de vida, hábitos de alimentación y defecación (Mosquera et al., 2016; Padilla et al., 2019; Villacís et al., 2008) estudios de morfometría (Santillán-Guayasamín et al., 2017, 2018; Villacis et al., 2010, 2020) y moleculares (Grijalva et al., 2017; Villacis et al., 2020). Sin embargo, se han realizado pocos experimentos que involucran el comportamiento de estos insectos asociados con su sistema visual (Lazzari et al., 1998; Patterson et al., 2009 Villacís et al. 2010).

Los insectos nocturnos prefieren permanecer en lugares oscuros durante el día, estos empiezan su actividad en horas de la noche (Cutler et al., 1995; Sliney, 2016), es el momento en el que salen en búsqueda de alimento, en estos insectos usan principalmente señales térmicas y olfativas para poder identificar al huésped (Reiseman & Lazzari, 2006; Song & Lee, 2018). Este es el caso de *P. chinai* que al igual que las otras especies de triatominos tienen mayor actividad durante la noche (Grijalva, Villacis, Ocana-Mayorga, et al., 2015). El comportamiento mediado por la luz aparentemente resulta importante en la especie de *P. chinai*, estos insectos han demostrado una alta repulsión por la luz (Mosquera et al., 2016; Patterson et al., 2009), este comportamiento puede deberse a la composición de su órgano visual, tanto como al ocelli y se cree que este comportamiento es altamente adaptativo (Lazzari et al., 1998; Reiseman et al., 2002; Reiseman & Lazzari, 2006).

El espectro de iluminación natural cambia con el ciclo diario y los objetos difieren en las propiedades de emisión o reflexión espectral (Spitschan et al., 2016). Como muchos otros animales, los insectos utilizan información cromática para encontrar un hábitat favorable, para localizar de manera eficiente fuentes de alimento (Giurfa et al., 1997). Dentro de los insectos examinadas hasta ahora se ha podido identificar tres tipos espectrales de fotorreceptores con sensibilidades máximas en el ultravioleta (UV, aproximadamente 350 nm), azul (aproximadamente 440 nm) y verde (aproximadamente 530 nm), también en especies como

mariposas o abejas se han podido identificar un pigmento adicional con una sensibilidad máxima (aprox. 600 nm) en la parte roja del espectro (Reiseman & Lazzari, 2006)

Como insectos vectores de la EC, el conocimiento sobre sus sistemas sensoriales brinda la oportunidad de desarrollar métodos sostenibles para reducir y/o prevenir las infecciones parasitarias. Por esta razón, para determinar la preferencia de los triatominos por diferentes colores de luz en condiciones de laboratorio, realizamos un estudio del sistema visual de *P. chinai* y su preferencia o repulsión por diferentes colores de luz mediante la exposición inicial a un estímulo olfativo. Para poder cumplir con este objetivo, nos hemos planteado las siguientes preguntas enfocadas al estímulo visual y olfativo. ¿Qué colores u ondas de luz atraen en mayor o menor proporción estos insectos?, y ¿La presencia o ausencia de un estímulo olfativo afecta en las preferencias lumínicas de estos insectos?

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Los triatominos se recolectaron en cinco comunidades (Vega del Carmen, Tacoranga, El Huayco, Bella María y Chaquizca) de la provincia de Loja (región andina del sur) entre 2006 y 2011 (Figura 1) en las siguientes coordenadas y altitudes: Vega del Carmen -79.544147, -4.460356, 1141m; Tacoranga -79.7074, -4.11105, 1400m; Huayco -79.322817, -4.091017, 1400m; Bella María -79.6103 -4.19718, 1150m; Chaquizhca -79.5901, -4.23263, 1150m. Esta región incluye cinco zonas de vegetación: bosque caducifolio, bosque semi-caducifolio, bosque verde de baja montaña, bosque nuboso y bosque de monte seco (Grijalva et al., 2017; Grijalva, Villacis, Ocaña-mayorga, et al., 2015; Ron, 2020) (Grijalva et al., 2017; Grijalva, et al., 2015). En esta zona se han registrado dos periodos estacionales en las cuales se presentan dos temporadas de lluvias por año, una de febrero a mayo y la otra de octubre a noviembre; y dos

estaciones secas de junio a septiembre y de diciembre a enero (Grijalva et al., 2005). La precipitación media anual es de aproximadamente 400 mm anuales (Ron, 2020).

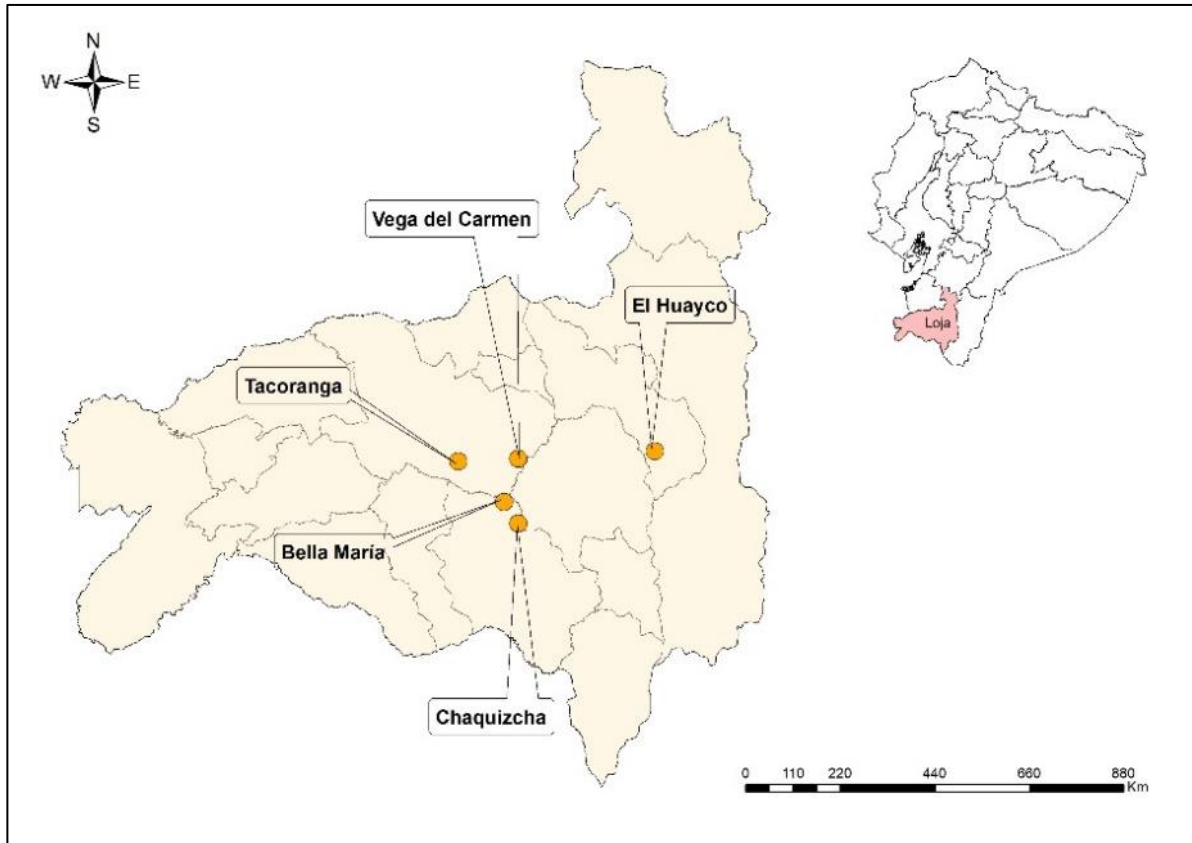


Figura 1. Comunidades rurales en la provincia de Loja donde se recolectaron los triatominos estudiados (mapa elaborado por Daphne Armas, 2019).

Colecta de Triatominos

La búsqueda de los triatominos se realizó en ambientes domésticos y peridomésticos, según métodos descritos previamente por Grijalva et al. (2005). Los ejemplares recolectados se colocaron en recipientes de plástico etiquetados individualmente y se transportaron en un insectario móvil desde el campo al laboratorio donde se mantuvieron en el insectario del Centro de Investigación para la Salud en América Latina (CISeAL) de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Los detalles del lugar de captura de los insectos (intra o peridomicilio y microhábitat), número de insectos encontrados vivos o muertos, las etapas de desarrollo de los

insectos y la clasificación taxonómica fueron anotados por cada equipo en el campo y corroborados por entomólogos entrenados del CISEAL.

Experimentos de Estímulo olfativo

Para realizar el experimento en el laboratorio, se utilizaron 1621 ninfas de *Panstrongylus chinai* de segundo (NII), tercer (NIII), cuarto (NIV) y quinto (NV) estadios para cada experimento. Las colonias utilizadas fueron criadas en condiciones de laboratorio con temperatura y humedad constantes ($25^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa de $70\% \pm 10\%$). Los ejemplares se alimentaron cada 4 semanas con sangre de palomas (protocolo 15-H-034 aprobado por Universidad de Ohio-Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC)). Al realizar el experimento los animales se encontraban en inanición (ayuna) entre 2 a 4 semanas.

Para colocar un estímulo olfativo se utilizó heces frescas que se recolectaron una semana después que los triatominos fueran alimentados. Se pesaron 0.16g de heces frescas y se diluyeron en 4 ml agua destilada. La dilución final fue de 4% (p/v), por cada ronda experimental, se utilizó 100 μ l de heces diluidas que se impregnaron en un papel filtro de 4 cm x4 cm. Las heces se almacenaron por un periodo máximo de 3 semanas en un congelador a -20°C para evitar que se descompongan.

Diseño de arena experimental

Para responder a las preguntas sobre el estímulo visual y olfativo, el diseño experimental se realizó siguiendo el protocolo establecido por Lorenzo et al., (1994) y Reiseman et al., (2000); sin embargo, se realizaron algunas modificaciones en el diseño de la arena experimental de estos protocolos, como por ejemplo, se utilizó una arena experimental cuadrada de plástico transparente (29cm x 27cm), mientras que en Lorenzo et al., (1994) los investigadores utilizaron una arena experimental redonda con menor diámetro. Estas modificaciones se realizaron debido

a que la arena experimental tenía una mayor superficie dentro de la incubadora para tener un mejor ángulo de observación.

La arena experimental se dividió en 3 espacios de áreas iguales. Se colocaron papeles filtro de 4 cm x 4 cm en cada espacio. Se proyectó luz desde la parte inferior con un foco de luz led de 20 watts marca sylvania. Entre la lámpara de luz y la arena experimental se colocaron filtros de gel para fotografía de color rojo, azul y verde; estos colores se encontraban en un rango de longitud de onda para azul (~440 nm), verde (~530 nm) y rojo (~600 nm) en el espectro de luz visible y sobre estos se colocó la caja plástica transparente como se muestra en la Figura 2. Este instrumento se encontraba dentro de una incubadora que cumplía con todas las normas de bioseguridad. Además, la incubadora registraba la temperatura en un intervalo de 24°C a 26°C y una humedad del 70% al 80%, condiciones que simulaban las condiciones de los lugares donde se recolectaron los ejemplares. En cada ronda de experimentos se usaron un promedio de 20 ejemplares de *P. chinai*. Los cuales fueron colocados con la ayuda de un envase que tenía una cuerda que permitía agrupar a los insectos en el centro de la arena experimental por un periodo de 10 minutos antes de ser liberados.

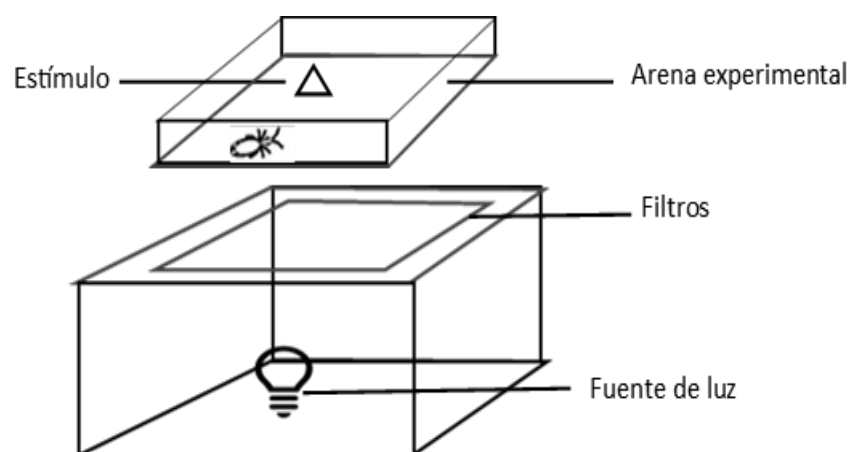


Figura 2 Diseño del dispositivo utilizado para observar la agregación de los triatominos en los diferentes experimentos.

Diseño de fase experimental

Preferencias lumínicas con la presencia o ausencia de un estímulo olfativo

Se colocó en la arena experimental filtros de los 3 colores, rojo, azul o verde, como se muestra en la Figura 3. Se colocó papel filtro de 4 x 4 cm con 100 μ l de agua destilada en los tres colores.

Para observar la agregación de los triatominos en presencia de un estímulo olfativo se colocaron papeles filtro de 4 x 4 cm con 100 μ l de heces diluidas al 4% (p/v), este procedimiento se usa para cada ronda experimental que incluye estímulo olfativo. Para tener mayor confiabilidad de los resultados, se realizaron 6 repeticiones y en cada repetición se utilizaron un promedio de 20 especímenes de *P. chinai*. Los triatominos estuvieron expuestos a la luz por un periodo de 4 horas

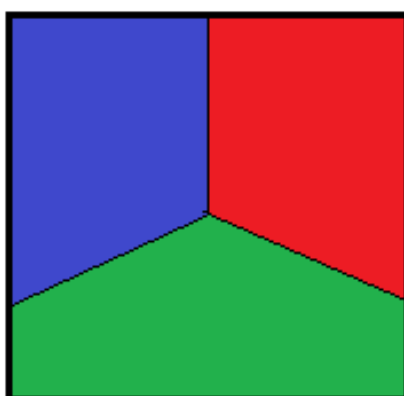


Figura 3 Diseño de filtros para observar la agregación de *P. chinai* al exponerlos a la presencia o ausencia de un estímulo olfativo.

Preferencias lumínicas vs. Oscuridad con presencia o ausencia de estímulo olfativo

Para estudiar la preferencia lumínica de *P. chinai* frente a la oscuridad, se colocó los filtros rojo, azul o verde frente a un campo de oscuridad como se puede ver en la Figura 4. Estos permiten el paso del haz de luz únicamente del lado que contiene el filtro de luz. Se colocó papel filtro de 4 x 4 cm con los diferentes estímulos, 100 μ l de agua destilada o 100 μ l de

heces diluidas al 4% (p/v), siguiendo el diseño que se muestra en la Tabla 1. Se realizaron 6 repeticiones en los que se utilizaron un promedio de 20 especímenes de *P. chinai* en cada repetición. Los triatominos estuvieron expuestos a la luz por un periodo de 4 horas.

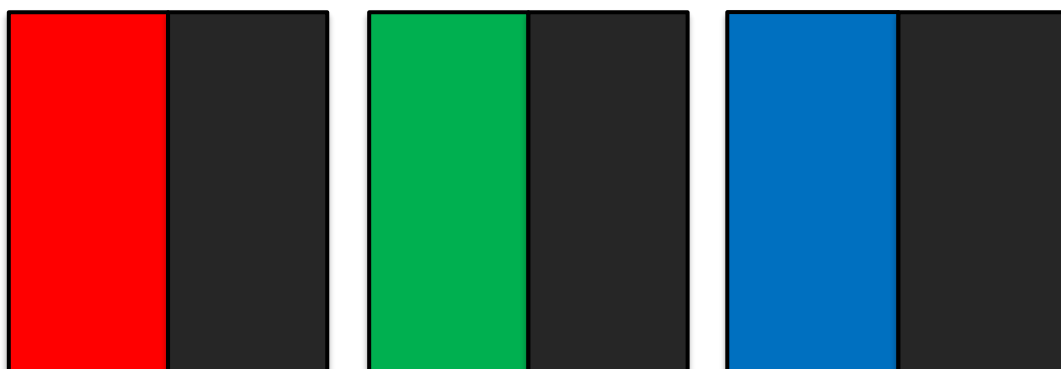


Figura 4 Diseño de filtros para observar la agregación de *P. chinai* frente a oscuridad o luz.

Se colocó el filtro correspondiente al color rojo, verde o azul frente a una pantalla color negro, lo que permitió bloquear el paso de luz a la arena experimental.

Tabla 1 Diseño experimental de preferencias lumínicas vs oscuridad con la presencia o ausencia de un estímulo olfativo.

	Color (rojo, verde, azul)	Oscuridad
Preferencia lumínica sin estímulo olfativo	Papel filtro con agua destilada	Papel filtro con agua destilada
Preferencia lumínica con estímulo olfativo	Papel filtro con heces 4% (p/v)	Papel filtro con heces 4% (p/v)
Preferencia lumínica Estímulo olfativo en luz	Papel filtro con heces 4% (p/v)	Papel filtro con agua destilada
Preferencia lumínica Estímulo olfativo en oscuridad	Papel filtro con agua destilada	Papel filtro con heces 4% (p/v)

Análisis Estadísticos

Los datos recolectados se compilaron en una base de datos de Excel, y se analizaron según se muestra en la tabla 2. Para comprobar los datos de la primera serie experimental, se realizó una prueba de Varianza Factorial (ANOVA Factorial) con un análisis Post Hoc, usando la prueba TUKEY en el programa estadístico IBM SPSS Statistics 22.

Tabla 2 Análisis estadístico de cada serie experimental

Experimentos	Prueba realizada (Significancia)	Protocolo utilizado
Preferencias lumínicas con la presencia o ausencia de un estímulo olfativo	ANOVA de una vía ($P < 0.05$). ANNOVA Factorial + TUKEY	Reiseman & Lazzari, (2006).
Preferencias lumínicas vs. Oscuridad con presencia o ausencia de estímulo olfativo	t- student ($P < 0.05$)	Reiseman & Lazzari, (2006).
Preferencia lumínica vs. oscuridad con estímulo olfativo en luz	t- student ($P < 0.05$)	Reiseman & Lazzari, (2006).
Preferencia lumínica vs oscuridad con estímulo olfativo en oscuridad	t- student ($P < 0.05$)	Reiseman & Lazzari, (2006).

RESULTADOS

Preferencia lumínica con la presencia o ausencia de un estímulo olfativo

En la arena experimental en la cual se colocó papeles con H₂O destilada, se pudo observar en cada repetición que los especímenes de *P. chinai* se agrupaban en la zona de color rojo, seguido por el color verde y finalmente por el color azul. Los análisis de ANOVA realizados mostraron

que *P. chinai* tienen una alta preferencia por el color rojo ($p < 0.0001$) comparado con el color azul y verde (Figura 5). Aunque entre los dos últimos colores no existió diferencias significativas por su preferencia.

Con la presencia de papel filtro impregnado con heces diluidas se observó que los insectos se agruparon en el color rojo. Y eso, se pudo comprobar con la prueba del ANOVA, obteniendo valores altamente significativos hacia ese color. Ese comportamiento, no se observó hacia el color azul y verde. Además, entre estos dos colores ($p < 0.0001$) no mostraron diferencias significativas entre grupos.

Dentro del ANOVA factorial realizado se observó que la variable Luz tenía un gran efecto sobre la preferencia lumínica de *P. chinai*. Como resultado se observó que la preferencia de luz es altamente significativa entre los 3 colores de luz utilizados. Mientras que al proveer de un estímulo olfativo, no hubo una diferencia significativa al preferir un color. Los resultados se muestran en el Anexo 1

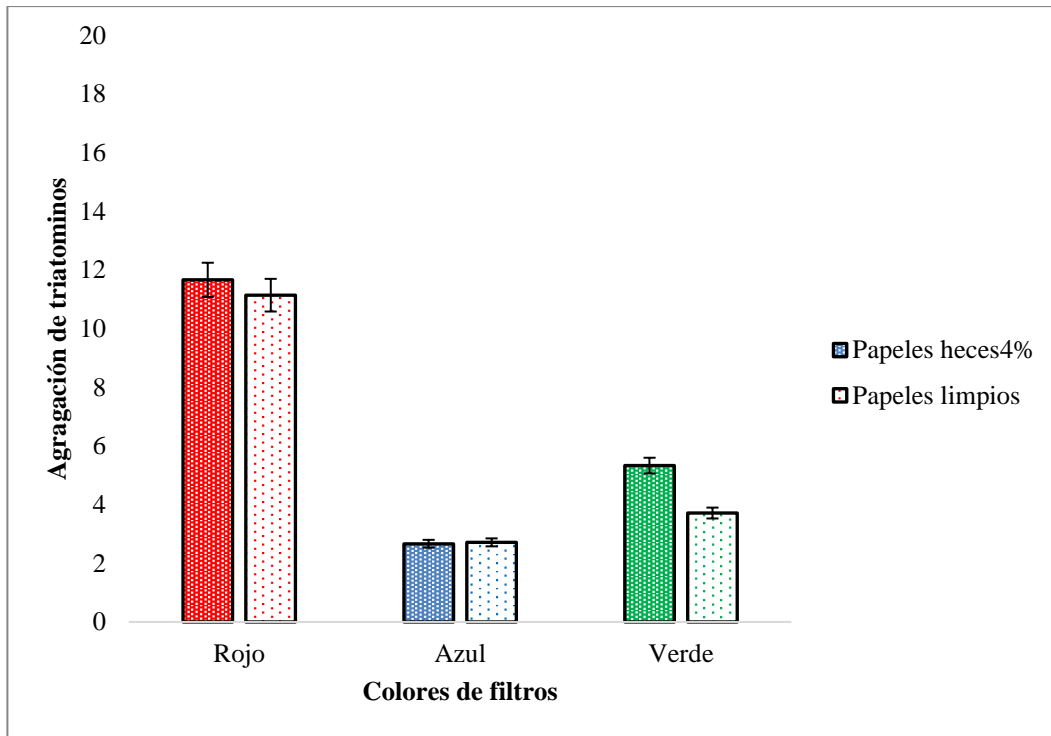


Figura 5 Agregación de los triatomínicos en cada una de las secciones de la arena experimental. En las columnas del lado izquierdo se observa la preferencia lumínica con estímulo olfativo (heces al 4% (p/v), mientras que en las columnas del lado derecho se colocó papel filtro con H₂O destilada.

Preferencia lumínica vs oscuridad con presencia o ausencia de estímulo olfativo

Se observó que para todas las pruebas realizadas los individuos eran mayormente atraídos a permanecer en la oscuridad. Al estimular con heces en ambos lados de la arena, se pudo observar que esto no afectaba la preferencia por oscuridad de los insectos. La Figura 6, nos muestra que la mayoría de los triatomínicos se agruparon en el lado oscuro de la arena. Mediante la prueba t student se obtuvo que los especímenes de *P. chinai* tuvieron preferencia por oscuridad ($p < 0.0001$). Cuando existe la presencia de heces hay una mayor atracción hacia la oscuridad, de igual forma con la presencia de estímulo olfativo el análisis mediante la prueba t student, demostró que los insectos se agruparon en mayor cantidad en la oscuridad ($p < 0.00001$)

a diferencia de los tres colores, tal como se puede observar en la Figura 6.

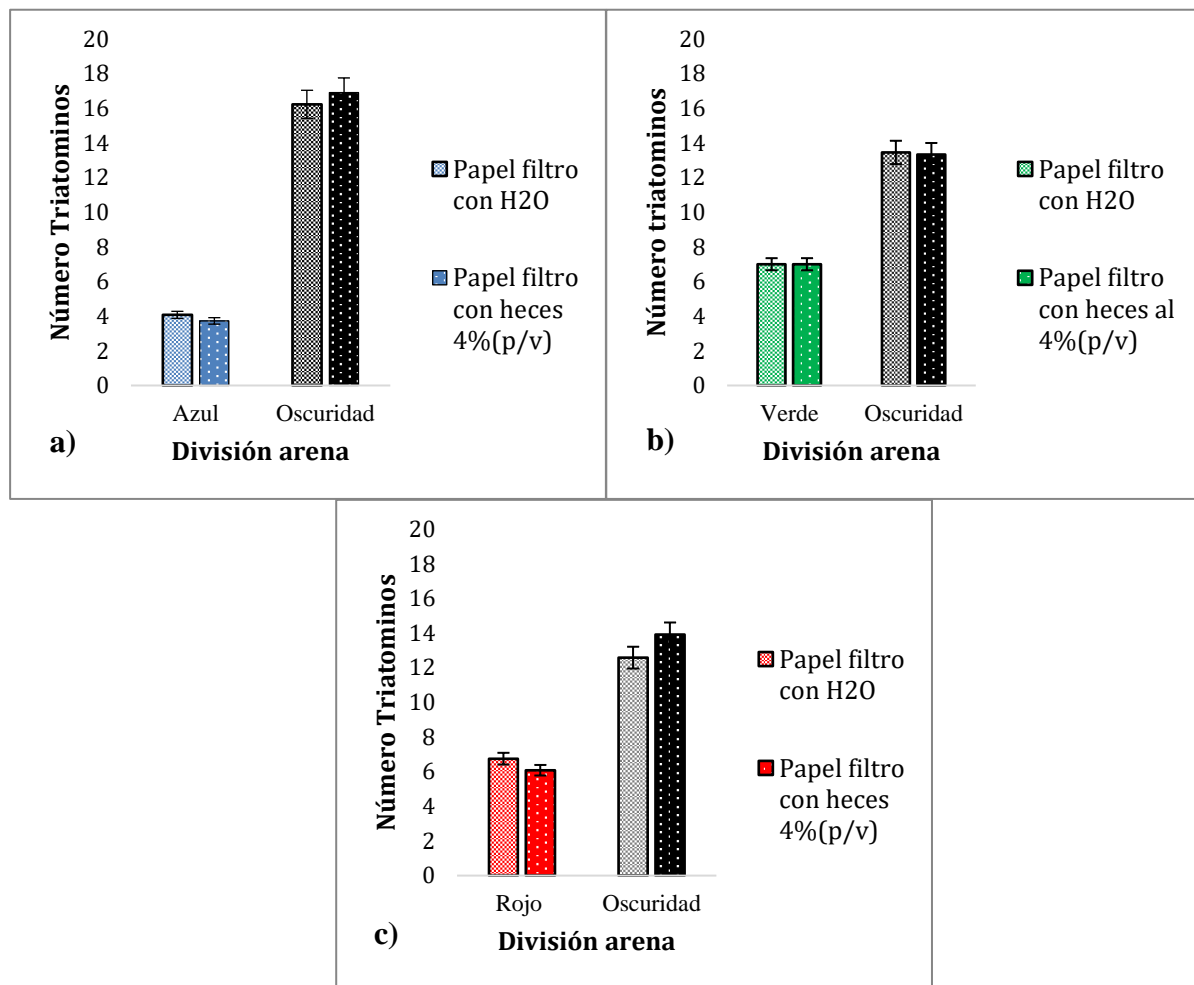


Figura 6 Se muestra la cantidad de triatomines agrupados en cada lado de la arena experimental. Estímulos visuales vs estímulo olfativo. En las columnas del lado derecho se observa la cantidad de triatomines agrupados cuando se coloca papeles filtro con heces al 4% (p/v) en ambos lados de la arena, mientras que representados en la columna del lado izquierdo se observa la agrupación de triatomines en arena que contenía papel filtro con H₂O destilada. a) Prueba experimental de azul vs oscuridad. b) Prueba experimental de verde vs oscuridad. c) Prueba experimental de rojo vs oscuridad,

2.1. Preferencias lumínicas vs oscuridad con estímulo olfativo en luz

En la Figura 7, se observa que, a pesar de la presencia de un estímulo olfativo en la zona experimental con luz, los triatominos se veían mayormente atraídos a la oscuridad. El resultado obtenido a través de la prueba t student, el valor p para los tres colores fue menor a 0.00001. Además, estos insectos tienen una alta preferencia por la oscuridad incluso si se los está estimulando con un incentivo olfativo.

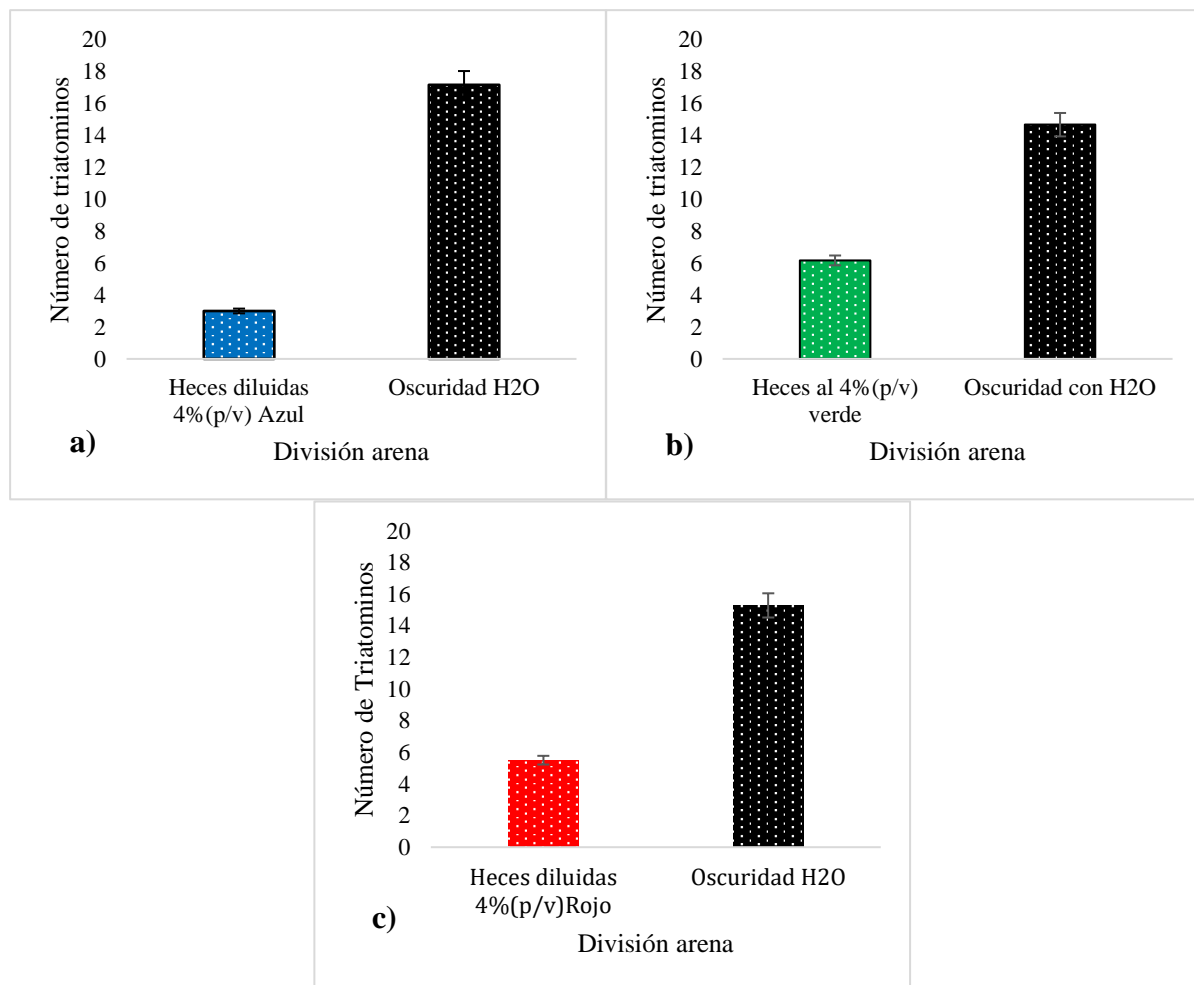


Figura 7 Estímulos visuales (color) vs. estímulo olfativo (heces). a) Prueba experimental de azul vs oscuridad con papel filtro impregnado con heces al 4%p/v en arena azul y arena sin luz. b) Prueba experimental de verde vs. oscuridad con papel filtro impregnado con heces al 4%p/v en área verde. c) Prueba experimental de rojo vs oscuridad con papel filtro impregnado con heces al 4% (p/v) en arena roja y arena sin luz

2.2. Preferencia lumínica vs. oscuridad con estímulo olfativo en oscuridad

Se colocó papeles filtro impregnado con heces al 4%(p/v) en el lado de la arena sin luz, se observó que la mayor cantidad de triatomínicos que se encontraban en lado oscuro de la arena experimental. Los triatomínicos tenían una mayor preferencia por la oscuridad. Como se puede observar en la Figura 8. A través de la prueba t student, se muestra para los tres colores $p < 0.00001$, además, estos insectos tienen una alta preferencia por la oscuridad y esta preferencia aumenta al estar involucrado un estímulo olfativo en el medio.

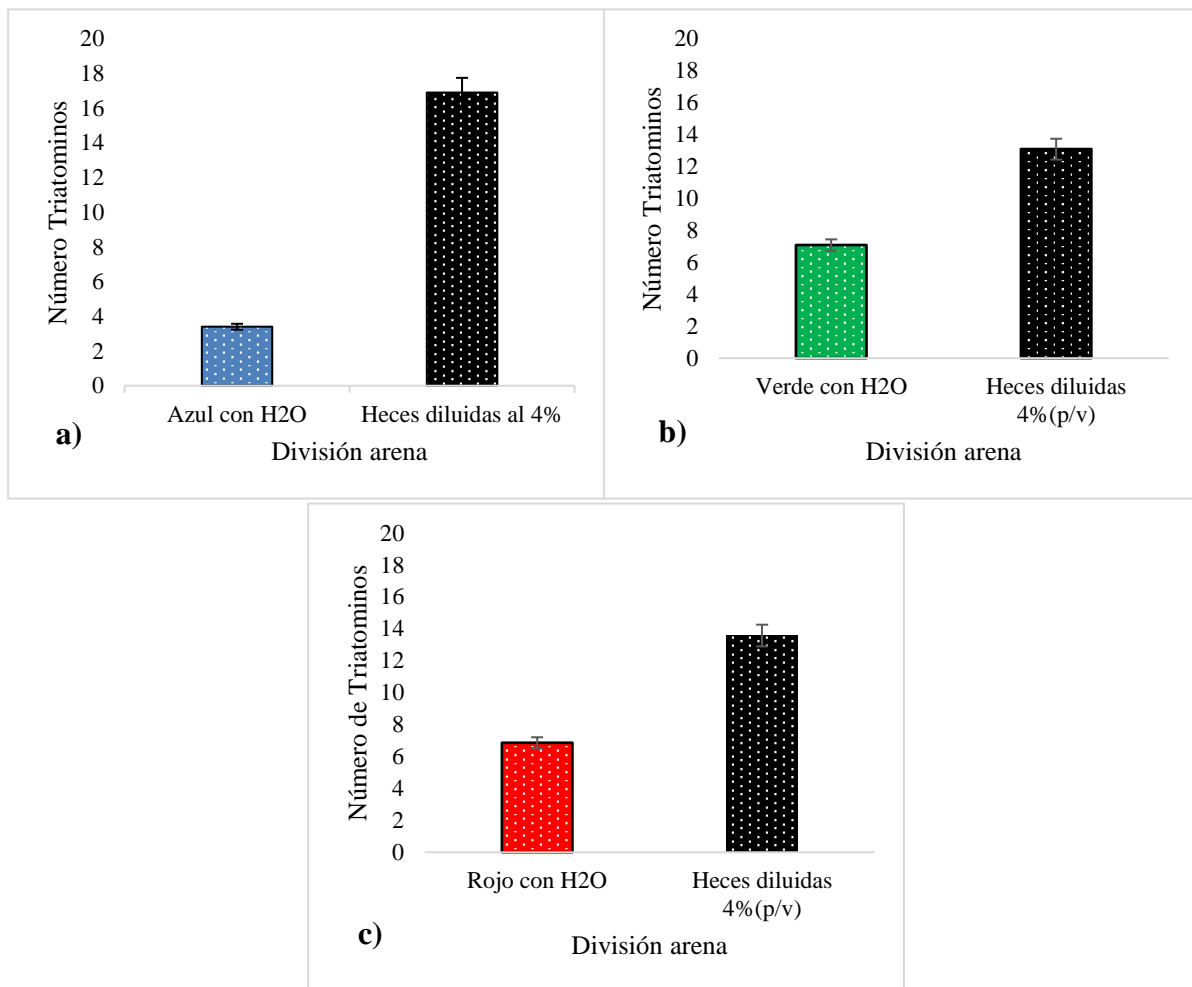


Figura 8 Estímulos visuales (color) vs. estímulo olfativo (heces). a) Prueba experimental de azul vs oscuridad con papel filtro impregnado con heces al 4%p/v en arena con oscuridad y agua destilada en área de color azul. b) Prueba experimental de verde vs oscuridad con papel filtro impregnado con heces al 4%p/v en arena sin luz y agua destilada en área de color verde.

c) Prueba experimental de rojo vs oscuridad con papel filtro impregnado con heces al 4% (p/v) en arena sin luz y agua destilada en área de color rojo.

DISCUSIÓN

La EC es uno de los graves problemas de salud pública en América Latina, y a pesar de que uno de los objetivos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) fue interrumpir la transmisión de esta enfermedad para el 2010, esto no sucedió. Ha pasado más de 10 años de este objetivo y el mismo continúa sin cumplirse. Sin embargo, el enfoque en todos los países ha sido controlar la transmisión vectorial, si bien esto se ha logrado en varios países de América del Sur (cono sur), lamentablemente el Ecuador no ha ocurrido. Adicionalmente, los esfuerzos de control y de atención se han enfocado principalmente en las especies de *Rhodnius ecuadoriensis* y *Triatoma dimidiata*, no obstante, otras especies han adquirido importancia epidemiológica en los últimos años. Las llamadas especies secundarias han ido tomando protagonismo, como son las del género *Panstrongylus*, las cuales se han ido adaptando a estructuras domésticas y peridomésticas y han adquirido la capacidad de transmitir el parásito a los humanos, es el caso de *Panstrongylus chinai* (Villacis et al., 2020) que ha presentado índice de infección por *T. cruzi* del 12.8% (Grijalva et al., 2015). Por esta razón, estudios de ciclos de vida, hábitos de alimentación y defecación (Mosquera et al., 2016) han sido muy importantes, para comprender y clasificarlo como un vector de importancia epidemiológica en el sur del país. Sin embargo, no debemos dejar a un lado investigaciones sobre el uso de refugios y preferencias lumínicas que nos permiten conocer mejor el comportamiento ante estímulos visuales y olfativos de una determinada especie por el contacto con el ser humano. El presente trabajo analizó como estos estímulos pueden ayudarnos a entender las diferentes sensibilidades espectrales para la verdadera visión y preferencia de color. Por ejemplo, en el caso de la especie más estudiada como *Triatoma infestans*, estos insectos responden de manera diferente a estímulos azules, verdes y rojos de igual intensidad (Reisenman et al., 2000), inclinándose la

mayor preferencia hacia el color rojo (Lazzari et al., 1998; Reiseman & Lazzari, 2006). En el caso de nuestro estudio se observó que *P. chinai* tenía una preferencia de luz hacia el color rojo, luego al verde y por último al azul. A pesar que los tres tipos de espectros tuvieron la misma intensidad de luz, fue evidente que la especie estudiada demostró un mayor rechazo al color azul, este resultado fue significativo ($P < 0.00001$), ya que comparado con el comportamiento de *T. infestans* (Klug, 1834) estos tienen una mayor repulsión por el color verde, la diferencia entre las preferencias lumínicas entre especies puede deberse a diferencias morfológicas características de cada especie (Reiseman et al., 2000; Reiseman & Lazzari, 2006). Los insectos respondieron de manera diferente a la luz azul, roja y verde, lo que implica que es posible la discriminación entre estos estímulos. Se sabe desde hace mucho tiempo que la luz artificial atrae a muchas especies de insectos y, por lo tanto, puede contribuir a la propagación de diferentes enfermedades transmitidas por vectores, basándose en la colección de diferentes especies de triatominos con trampas de luz, varios autores han sugerido que la luz podría atraer triatominos a las casas, sin embargo no se ha demostrado y cuantificado claramente el papel de la luz artificial en la infestación de casas (Pacheco-Tucuch et al., 2012). Como la intensidad de la luz de los estímulos coloreados se mantuvo siempre en un valor constante, la respuesta de *P. chinai* se puede interpretar sobre la base de dos hipótesis principales. Primero, los insectos discriminaban entre luces espectrales sobre la base de mecanismos cromáticos. Su comportamiento sería, de hecho, consistente con una definición común de visión de color, que es la capacidad de distinguir entre luces espectrales independientemente de las diferencias de intensidad (Menzel, 1979).

Estos mecanismos podrían basarse en una única señal de receptor o en la suma de señales de diferentes tipos de receptores. Las respuestas mediadas por un solo tipo de receptor son comunes en los insectos (Menzel & Backhaus, 1991; Menzel, 1979; Reiseman et al., 2000, 2002). Segundo, se han encontrado respuestas acromáticas basadas en la suma de señales de

diferentes tipos de receptores en la respuesta fototáctica de las abejas que abandonan una fuente de alimento (Menzel & Greggers, 1985). En el caso de los triatomos, podría ser que abandonan la fuente de alimento para luego buscar refugio.

Adicionalmente, otro de los objetivos de este tipo de estudio, fue identificar el efecto de la luz en el comportamiento de una especie de triatomos al tener cierta preferencia del vector por ciertos tipos de luz al proveer con un estímulo químico, que en este caso son las heces diluidas. Por ejemplo, se ha mostrado que otras especies de triatomos como *T. infestans* al estar expuestos a estímulos químicos como heces promueve el comportamiento de agregación de estos insectos. Esto también se pudo evidenciar en nuestro estudio con *P. chinai*, el 60 % demostraron este comportamiento de agregación.

De igual manera, estudios realizados por Schofield y Patterson (1977) apoyan la existencia de una sustancia atractiva presente en las heces de *Rhodnius prolixus*, la presencia de dicha sustancia nominada JAP (Feromona de ensamblaje juvenil) para el compuesto activo, ha demostrado atraer a ninfas que no han sido alimentadas por un periodo de tiempo, pero no surge ningún efecto sobre las ninfas que han sido alimentadas recientemente. Sin embargo, sus resultados fueron inconsistentes con respecto a la agregación en papeles impregnados de heces e imitadores de hormonas juveniles (JH) (Lorenzo Figueiras et al., 1994; Schofield & Patterson, 1977). En este estudio, no se observó una diferencia significativa entre las ninfas que habían sido recientemente alimentadas, con aquellas que habían pasado cierto periodo sin alimento. Experimentos realizados por Reiseman et al. (2000) sobre *T. infestans* mostraron que la presencia de heces por sí solas indujeron a la agregación de estos insectos. Además, en ausencia de heces, siempre se prefirió la oscuridad a cualquier luz espectral.

Por otro lado, en varios estudios se ha demostrado la alta preferencia de estos insectos por la oscuridad. En nuestro estudio se pudo evidenciar que la presencia de un estímulo olfativo no influye sobre la preferencia de estos insectos por la oscuridad, fue evidente que se agregaban

en mayor cantidad en este espacio oscuro. Nuestros resultados son similares al comportamiento de *T. infestans* en el cual con la presencia de estímulos químicos no tuvo efecto sobre la agregación en zonas oscuras, ya que siempre preferían agregarse en áreas sin luz (Lorenzo Figueiras et al., 1994; Reisman et al., 2000).

Actualmente, se conoce que los triatominos evitan la luz agregándose una vez que se encuentran dentro de un sitio oscuro, por esto se puede entender que generalmente se encuentran agregados en las grietas de las paredes y otros lugares protegidos hasta que las condiciones sean favorables para salir a buscar alimento. Durante este proceso, los triatominos pueden utilizar diferentes señales físicas y químicas para orientarse hacia los refugios utilizados por sustancias atrayentes (sean estas las heces o las feromonas) entre sujetos de la misma especie (Lorenzo et al., 1998). Finalmente, información sobre el comportamiento visual y preferencias lumínicas nos ayuda a conocer la orientación hacia los refugios y nos permite ofrecer herramientas importantes para el control de la ECh en las condiciones epidemiológicas y operativas actuales.

CONCLUSIONES

Los estudios sobre el uso de refugios y preferencias lumínicas nos permiten conocer mejor el comportamiento ante estímulos visuales y olfativos de una determinada especie ante la presencia de un hospedero (contacto humano-vector).

Los resultados mostraron que *Panstrongylus chinai* tiene una mayor atracción por la luz de color rojo y una mayor repulsión por el color azul.

La presencia de un estímulo olfativo afecta en la preferencia de estos insectos por diferentes tipos de luz. En este caso la presencia de un estímulo químico como las heces diluidas, juega un papel importante en la agregación de estos insectos.

Adicionalmente, se evidenció la preferencia de estos insectos por la oscuridad, a pesar de tener un estímulo olfativo.

Información sobre el comportamiento visual y preferencias lumínicas nos ayuda a conocer la orientación de los triatominos hacia los refugios y nos permite ofrecer herramientas importantes para el control de la EC. El conocimiento de las preferencias lumínicas de *P. chinai* nos ha permitido comprender cómo estos insectos son atraídos por la luz hacia las viviendas, y en el momento de incursionar dentro de las mismas tienden a agregarse en las grietas de las paredes y otros lugares, esperando que las condiciones sean favorables para salir en busca de alimento. Finalmente, este estudio junto con los demás a cerca de ciclo de vida, hábitos de alimentación y defecación, morfología y molecular nos permiten considerar a *P. chinai* como una especie de importancia entomológica que debe ser tomada en cuenta dentro de las estrategias de control y monitoreo vectorial continuo y sistemático en la provincia de Loja.

RECOMENDACIONES

Recomendamos ampliar este mismo tipo de estudio con otras especies, para poder comparar el comportamiento ante estímulos visuales y olfativos entre especies de diferentes géneros de importancia epidemiológica.

Además, es necesario llegar a identificar el papel de los fotorreceptores de estos insectos para evaluar con mayor claridad la preferencia de estos insectos por la luz y esclarecer si la preferencia lumínica se ve afectada por un estímulo químico, o existe un conjunto de factores que permitan a estos insectos a agruparse en la oscuridad.

El siguiente paso, es aumentar el conocimiento de las proteínas involucradas en el sistema visual de estos insectos, esto se puede lograr, mediante secuenciación de nueva generación (NGS) lo que permitirá identificar con mayor exactitud que fotorreceptores están presentes, y así, evaluar la respuesta ante los diferentes espectros de luz.

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de investigación para la Salud en América Latina (CISeAL) de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE), al, por el aporte logístico y económico para el desarrollo del proyecto “Evaluación del impacto de la calidad de luz en la presencia de triatomíneos, vectores de la enfermedad de Chagas en comunidades de Ecuador”. Código de proyecto: O13070.

Los triatomíneos de esta investigación fueron recolectados gracias al permiso de recolección ecuatoriano N ° 002-07 IC-FAU-DNBAPVS / otorgado por el MAE del Ministerio del Ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

- Abad-Franch, F., Paucar C, A., Carpio C, C., Cuba Cuba, C. A., Aguilar V, H. M., & Miles, M. A. (2001). Biogeography of triatominae (Hemiptera: Reduviidae) in Ecuador: Implications for the design of control strategies. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 96(5), 611–620. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762001000500004>
- Adams, D. C., Rohlf, F. J., & Slice, D. E. (2004). Geometric morphometrics: Ten years of progress following the ‘revolution.’ *Italian Journal of Zoology*, 71(1), 5–16. <https://doi.org/10.1080/11250000409356545>
- Arias-Giraldo, L. M., Muñoz, M., Hernández, C., Herrera, G., Velásquez-Ortiz, N., Cantillo-Barraza, O., Urbano, P., Cuervo, A., & Ramírez, J. D. (2020). Identification of blood-feeding sources in *Panstrongylus*, *Psammolestes*, *Rhodnius* and *Triatoma* using amplicon-based next-generation sequencing. *Parasites and Vectors*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04310-z>
- Barrett, T. V. (1991). *Advances in Triatomine Bug Ecology in Relation to Chagas' Disease* (pp. 143–176). Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3110-3_6
- Barrozo, R. B., Reiseman, C. E., Guerenstein, P., Lazzari, C., & Lorenzo, M. G. (2017). An inside look at the sensory biology of triatomines. *Journal of Insect Physiology*, 97, 3–19. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.11.003>
- Briceño-León, R. (2009). La enfermedad de Chagas en las Américas: Una perspectiva de ecosalud. *Cadernos de Saude Publica*, 25(SUPPL. 1), 71–82. <https://doi.org/10.1590/s0102-311x2009001300007>
- CDC. (2020). *Enfermedad de Chagas*. <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/es/enfermedad.html>
- Ceccarelli, S., Balsalobre, A., Medone, P., Cano, M. E., Gonçalves, R. G., Feliciangeli, D.,

- Vezzani, D., Wisnivesky-Colli, C., Gorla, D. E., Marti, G. A., & Rabinovich, J. E. (2018). Data Descriptor: DataTri, a database of American triatomine species occurrence. *Scientific Data*, 5(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/sdata.2018.71>
- Coura, J. R. (2013). Chagas disease: Control, elimination and eradication. Is it possible? *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 108(8), 962–967. <https://doi.org/10.1590/0074-0276130565>
- Coura, J. R., & Borges-Pereira, J. (2012). Doença de Chagas. O que é conhecido e o que deve ser melhorado: Uma visão sistêmica. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 45(3), 286–296. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822012000300002>
- Cutler, D., Bennett, R., Stevenson, R., & White, R. (1995). Feeding behavior in the nocturnal moth *Manduca sexta* is mediated mainly by blue receptors, but where are they located in the retina? *Journal of Experimental Biology*, 198(9), 1909–1917. <https://doi.org/10.1242/JEB.198.9.1909>
- Dumonteil, E., Herrera, C., Martini, L., Grijalva, M. J., Guevara, A. G., Costales, J. A., Aguilar, H. M., Brenière, S. F., Waleckx, E., & Aguilar V, H. M. (2016). Chagas disease has not been controlled in Ecuador. *PLoS ONE*, 11(6), 2014–2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158145>
- Galvão, C., Carcavallo, R., Rocha, D. D. S., & 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. 36(May), 1–36.
- Giurfa, M., Vorobyev, M., Brandt, R., Posner, B., & Menzel, R. (1997). Discrimination of coloured stimuli by honeybees: alternative use of achromatic and chromatic signals. *Journal of Comparative Physiology A* 1997 180:3, 180(3), 235–243. <https://doi.org/10.1007/S003590050044>

- Grijalva, M. J., Palomeque-Rodríguez, F. S., Costales, J. A., Davila, S., & Arcos-Teran, L. (2005). High household infestation rates by synanthropic vectors of Chagas disease in southern Ecuador. In *Journal of Medical Entomology* (Vol. 42, Issue 1, pp. 68–74). Entomological Society of America. <https://doi.org/10.1093/jmedent/42.1.68>
- Grijalva, M. J., & Villacis, A. G. (2009). Presence of *Rhodnius ecuadoriensis* in Sylvatic Habitats in the Southern Highlands (Loja Province) of Ecuador. *Journal of Medical Entomology*, 46(3), 708–711. <https://doi.org/10.1603/033.046.0339>
- Grijalva, M. J., Villacis, A. G., Moncayo, A. L., Ocaña-Mayorga, S., Yumiseva, C. A., & Baus, E. G. (2017). Distribution of triatomine species in domestic and peridomestic environments in central coastal Ecuador. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(10). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PNTD.0005970>
- Grijalva, M. J., Villacis, A. G., Ocaña-mayorga, S., Yumiseva, C. A., Moncayo, A. L., & Baus, E. G. (2015). *Comprehensive Survey of Domiciliary Triatomine Species Capable of Transmitting Chagas Disease in Southern Ecuador. October.* <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004142>
- Grijalva, M. J., Villacis, A. G., Ocaña-Mayorga, S., Yumiseva, C. A., Moncayo, A. L., Baus, E. G., & Ocaña-mayorga, S. (2015). Comprehensive Survey of Domiciliary Triatomine Species Capable of Transmitting Chagas Disease in Southern Ecuador. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(10), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004142>
- Justi, S. A., & Galvão, C. (2017). The Evolutionary Origin of Diversity in Chagas Disease Vectors. *Trends in Parasitology*, 33(1), 42–52. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2016.11.002>
- Laiño, M. A., Cardinal, M. V., Enriquez, G. F., Alvedro, A., Gaspe, M. S., & Gürtler, R. E. (2019). An oral dose of Fluralaner administered to dogs kills pyrethroid-resistant and susceptible Chagas disease vectors for at least four months. *Veterinary Parasitology*,

- 268, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.03.005>
- Lazzari, C., Fischbein, D., & Insausti, T. C. (2011). Differential control of light-dark adaptation in the ocelli and compound eyes of *Triatoma infestans*. *Journal of Insect Physiology*, *57*(11), 1545–1552. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2011.08.005>
- Lazzari, C., Pereira, M. H., & Lorenzo, M. G. (2013). *Behavioural biology of Chagas disease vectors*. *108*(Clayton 2010), 34–47. <https://doi.org/10.1590/0074-0276130409>
- Lazzari, C., Reiseman, C. E., & Insausti, T. C. (1998). The role of the ocelli in the phototactic behaviour of the haematophagous bug *Triatoma infestans*. *Journal of Insect Physiology*, *44*(12), 1159–1162. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(98\)00080-8](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(98)00080-8)
- Leyria, J., Orchard, I., & Lange, A. B. (2020). Transcriptomic analysis of regulatory pathways involved in female reproductive physiology of *Rhodnius prolixus* under different nutritional states. *Scientific Reports*, *10*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67932-4>
- Leyria, J., Orchard, I., & Lange, A. B. (2021). The involvement of insulin/ToR signaling pathway in reproductive performance of *Rhodnius prolixus*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, *130*, 103526. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2021.103526>
- Lorenzo Figueiras, A. N., Kenigsten, A., & Lazzari, C. (1994). Aggregation in the haematophagous bug *Triatoma infestans*: Chemical signals and temporal pattern. *Journal of Insect Physiology*, *40*(4), 311–316. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(94\)90071-X](https://doi.org/10.1016/0022-1910(94)90071-X)
- Lorenzo, M. G., Reisenman, C. E., & Lazzari, C. R. (1998). *Triatoma infestans* can be captured under natural climatic conditions using yeast-baited traps. *Acta Tropica*, *70*(3), 277–284. [https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(98\)00042-4](https://doi.org/10.1016/S0001-706X(98)00042-4)
- Menzel, & Backhaus, W. (1991). *Vision-and-Visual-Dysfunction*.
- Menzel, & Greggers, U. (1985). Natural phototaxis and its relationship to colour vision in honeybees. *Journal of Comparative Physiology A* *1985 157:3*, *157*(3), 311–321. <https://doi.org/10.1007/BF00618121>

- Menzel, R. (1979). *Spectral Sensitivity and Color Vision in Invertebrates* (pp. 503–580).
https://doi.org/10.1007/978-3-642-66999-6_9
- Moncayo, & Silveira, A. C. (2009). Current epidemiological trends of Chagas disease in Latin America and future challenges: Epidemiology, surveillance, and health policies. *American Trypanosomiasis Chagas Disease: One Hundred Years of Research: Second Edition*, 104(May), 59–88. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801029-7.00004-6>
- Mosquera, K. D., Villacis, A. G., & Grijalva, M. J. (2016). Life Cycle, Feeding, and Defecation Patterns of *Panstrongylus chinai* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) under Laboratory Conditions. *Journal of Medical Entomology*, 53(4), 776–781.
<https://doi.org/10.1093/jme/tjw027>
- Nattero, J., Piccinali, R. V., Gaspe, M. S., & Gürtler, R. E. (2019). Fluctuating asymmetry and exposure to pyrethroid insecticides in *Triatoma infestans* populations in northeastern Argentina. *Infection, Genetics and Evolution*, 74.
<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.103925>
- OMS. (2019). *La enfermedad de Chagas (trypanosomiasis americana)*.
[https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))
- Pacheco-Tucuch, F. S., Ramirez-Sierra, M. J. M. J., Gourbière, S., & Dumonteil, E. (2012). Public street lights increase house infestation by the chagas disease vector *Triatoma dimidiata*. *PLoS ONE*, 7(4), 3–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036207>
- Padilla, A., Moncayo, A. L., Clifford, K. B., Grijalva, M. J., & Villacis, A. G. (2019). *Behavior, Chemical Ecology Life Cycle, Feeding, and Defecation Patterns of Triatoma carrioni (Hemiptera: Reduviidae), Under Laboratory Conditions. X*, 1–8.
<https://doi.org/10.1093/jme/tjz004>
- Patterson, J. S., Barbosa, S. E., & Feliciangeli, M. D. (2009). On the genus *Panstrongylus*

- Berg 1879: Evolution, ecology and epidemiological significance. *Acta Tropica*, 110(2–3), 187–199. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.09.008>
- Quinde-Calderón, L., Rios-Quituzaca, P., Solorzano, L., & Dumonteil, E. (2016). Ten years (2004–2014) of Chagas disease surveillance and vector control in Ecuador: Successes and challenges. *Tropical Medicine and International Health*, 21(1), 84–92. <https://doi.org/10.1111/tmi.12620>
- Reiseman, C. E., Insausti, T. C., & Lazzari, C. (2002). Light-induced and circadian changes in the compound eye of the haematophagous bug *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Journal of Experimental Biology*, 205(2), 201–210.
- Reiseman, C. E., & Lazzari, C. (2006). Spectral sensitivity of the photonegative reaction of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae). *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 192(1), 39–44. <https://doi.org/10.1007/s00359-005-0045-x>
- Reiseman, C. E., Lorenzo Figueiras, A. N., Giurfa, M., & Lazzari, C. (2000). Interaction of visual and olfactory cues in the aggregation behaviour of the haematophagous bug *Triatoma infestans*. *Journal of Comparative Physiology - A Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 186(10), 961–968. <https://doi.org/10.1007/s003590000149>
- Ribeiro, G., Dos Santos, C. G. S., Lanza, F., Reis, J., Vaccarezza, F., Diniz, C., Miranda, D. L. P., De Araújo, R. F., Cunha, G. M., De Carvalho, C. M. M., Fonseca, E. O. L., Dos Santos, R. F., De Sousa, O. M. F., Reis, R. B., De Araújo, W. N., Gurgel-Gonçalves, R., & Dos Reis, M. G. (2019). Wide distribution of *Trypanosoma cruzi*-infected triatomines in the State of Bahia, Brazil. *Parasites and Vectors*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3849-1>
- Ron, S. R. (Pontificia U. C. del E. (2020). *Regiones naturales Ecuador*. <https://bioweb.bio/faunaweb/amphibiaweb/RegionesNaturales>

- Sant'Anna, M. R. V., Soares, A. C., Araujo, R. N., Gontijo, N. F., & Pereira, M. H. (2017). Triatomines (Hemiptera, Reduviidae) blood intake: Physical constraints and biological adaptations. *Journal of Insect Physiology*, *97*, 20–26.
<https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.08.004>
- Santillán-Guayasamín, S., Villacís, A. G., Grijalva, M. J., & Dujardin, J.-P. (2017). The modern morphometric approach to identify eggs of Triatominae. *Parasites & Vectors* *2017 10:1*, *10*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/S13071-017-1982-2>
- Santillán-Guayasamín, S., Villacís, A. G., Grijalva, M. J., & Dujardin, J.-P. (2018). Triatominae: does the shape change of non-viable eggs compromise species recognition? *Parasites & Vectors* *2018 11:1*, *11*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/S13071-018-3104-1>
- Schofield, C. J., & Galvão, C. (2009). Classification, evolution, and species groups within the Triatominae. *Acta Tropica*, *110*(2–3), 88–100.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.01.010>
- Schofield, C. J., & Patterson, J. W. (1977). Assembly pheromone of *Triatoma infestans* and *Rhodnius prolixus* nymphs (Hemiptera: Reduviidae). *Journal of Medical Entomology*, *13*(6), 727–734. <https://doi.org/10.1093/jmedent/13.6.727>
- Sliney, D. H. (2016). What is light? The visible spectrum and beyond. *Eye*, *30*(2), 222.
<https://doi.org/10.1038/EYE.2015.252>
- Song, B.-M., & Lee, C.-H. (2018). Toward a Mechanistic Understanding of Color Vision in Insects. *Frontiers in Neural Circuits*, *0*, 16. <https://doi.org/10.3389/FNCIR.2018.00016>
- Spitschan, M., Aguirre, G. K., Brainard, D. H., & Sweeney, A. M. (2016). Variation of outdoor illumination as a function of solar elevation and light pollution. *Scientific Reports* *2016 6:1*, *6*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/srep26756>
- Traverso, L., Lavore, A., Sierra, I., Palacio, V., Martínez-Barnetche, J., Latorre-Estivalis, J. M., Mougabure-Cueto, G., Francini, F., Lorenzo, M. G., Rodríguez, M. H., Ons, S., &

- Rivera-Pomar, R. V. (2017). Comparative and functional triatomine genomics reveals reductions and expansions in insecticide resistance-related gene families. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *11*(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005313>
- Villacís, A. G., Arcos-Terán, L., & Grijalva, M. J. (2008). Life cycle, feeding and defecation patterns of *Rhodnius ecuadoriensis* (Lent & León 1958) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) under laboratory conditions. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, *103*(7), 690–695. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762008000700011>
- Villacis, A. G., Dujardin, J. P., Panzera, F., Yumiseva, C. A., Pita, S., Guayasamín, S. S., Orozco, M. I., Mosquera, K. D., & Grijalva, M. J. (2020). Chagas vectors *Panstrongylus chinai* (Del Ponte, 1929) and *Panstrongylus howardi* (Neiva, 1911): chromatic forms or true species? *Parasites & Vectors*, 1–21. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04097-z>
- Villacis, A. G., Grijalva, M. J., & Catalá, S. S. (2010). Phenotypic variability of *Rhodnius ecuadoriensis* populations at the Ecuadorian central and southern Andean region. *Journal of Medical Entomology*, *47*(6), 1034–1043. <https://doi.org/10.1603/ME10053>
- Villacis, A. G., Ocaña-Mayorga, S., Lascano, M. S., Yumiseva, C. A. C. A., Baus, E. G., Grijalva, M. J., & Ocaña-Mayorga, S. (2015). Abundance, natural infection with trypanosomes, and food source of an endemic species of triatomine, *Panstrongylus howardi* (Neiva 1911), on the Ecuadorian central coast. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *92*(1), 187–192. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0250>
- Waleckx, E., Gourbière, S., & Dumonteil, E. (2015). Intrusive versus domiciliated triatomines and the challenge of adapting vector control practices against Chagas disease. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, *110*(3), 324–338. <https://doi.org/10.1590/0074-02760140409>

ANEXOS

Anexo 1

ANÁLISIS DE DATOS DE TRIATOMINOS.

Análisis univariado de varianza

Factores inter-sujetos

		Etiqueta de valor	N
Color de luz	1	Azul	24
	2	Rojo	24
	3	Verde	24
Estímulo	1	H2O	36
	2	Heces 4% (p/v)	36

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: Número de triatominos

Color de luz	Estímulo	Media	Desviación estándar	N
Azul	H2O	2,83	1,801	12
	Heces 4%	2,42	1,505	12
	(p/v)			
	Total	2,63	1,637	24
Rojo	H2O	10,00	4,200	12
	Heces 4%	11,83	3,326	12
	(p/v)			
	Total	10,92	3,821	24
Verde	H2O	4,50	1,883	12
	Heces 4%	5,42	2,429	12
	(p/v)			
	Total	4,96	2,177	24
Total	H2O	5,78	4,162	36
	Heces 4%	6,56	4,681	36
	(p/v)			
	Total	6,17	4,415	72

ANOVA:

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: Raíz de Triatominos					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	38,840 ^a	5	7,768	24,592	,000
Interceptación	408,312	1	408,312	1292,635	,000
Luz	37,891	2	18,946	59,978	,000
Heces	,003	1	,003	,011	,917
Luz * Heces	,945	2	,473	1,496	,231
Error	20,848	66	,316		
Total	468,000	72			
Total corregido	59,688	71			

a. R al cuadrado = ,651 (R al cuadrado ajustada = ,624)

$$CV = \frac{\sqrt{0.316}}{6.167} * 100 = 9.11\%$$

1. Gran media

Variable dependiente: Número de triatominos

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
6,167	0,318	5,532	6,801

2. Color de luz

Variable dependiente: Número de triatominos

Color de luz	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
Azul	2,625	0,551	1,526	3,724
Rojo	10,917	0,551	9,817	12,016
Verde	4,958	0,551	3,859	6,058

3. Estímulo

Variable dependiente: Número de triatominos

Estímulo	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
H2O	5,778	0,450	4,880	6,675

Heces 4% (p/v)	6,556	0,450	5,658	7,453
-------------------	-------	-------	-------	-------

4. Color de luz * Estímulo

Variable dependiente: Número de triatominos

Color de luz	Estímulo	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
Azul	H2O	2,833	0,779	1,279	4,388
	Heces 4% (p/v)	2,417	0,779	0,862	3,971
Rojo	H2O	10,000	0,779	8,445	11,555
	Heces 4% (p/v)	11,833	0,779	10,279	13,388
Verde	H2O	4,500	0,779	2,945	6,055
	Heces 4% (p/v)	5,417	0,779	3,862	6,971

Pruebas post hoc

Color de luz: Subconjuntos homogéneos

Número de triatominos

HSD Tukey^{a,b}

Color de luz	N	Subconjunto		
		1	2	3
Azul	24	2,63		
Verde	24		4,96	
Rojo	24			10,92
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los

subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) =

7,275.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media

armónica = 24,000.

b. Alfa = ,05.