

Tesis de Posgrado

Las antenas y el sentido térmico de la vinchuca triatoma infestans (Heteroptera: Reduviidae)

Flores, Graciela B.

2001

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Flores, Graciela B.. (2001). Las antenas y el sentido térmico de la vinchuca triatoma infestans (Heteroptera: Reduviidae). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3371_Flores.pdf

Cita tipo Chicago:

Flores, Graciela B.. "Las antenas y el sentido térmico de la vinchuca triatoma infestans (Heteroptera: Reduviidae)". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2001. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3371_Flores.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



Las antenas y el sentido térmico de la vinchuca
Triatoma infestans (Heteroptera: Reduviidae)

graciela flores

Nº 0 3 3 7 1

Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Las antenas y el sentido térmico de la vinchuca
***Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae)**

Autora: Lic. Graciela B. Flores
Director: Dr. Claudio R. Lazzari

Laboratorio de Fisiología de Insectos
Departamento de Ciencias Biológicas

Tesis para optar al título de
Doctora en Ciencias Biológicas

2001

Las antenas y el sentido térmico de la vinchuca *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae)

Tesis Doctoral de Graciela B. Flores

Dirigida por Claudio R. Lazzari

Resumen

Se estudió el sentido térmico de la chinche hematófaga *Triatoma infestans* para dilucidar la función de las antenas en la orientación espacial y en la evaluación de las propiedades de una fuente de calor. Los resultados demuestran que la función de termorreceptores específicos para distintos comportamientos en los que la clave térmica es relevante depende de la localización anatómica. Bajo ciertas circunstancias, otros receptores de calor pueden asumir la función de aquellos localizados en las antenas. Sin embargo, la falta de la entrada antenal altera la respuesta comportamental.

El análisis del papel de las antenas durante la aproximación hacia una fuente de calor permitió definir dos mecanismos de orientación: la *telotaxis*, que opera a distancia y la *tropotaxis*, que actúa en proximidad. El cambio de un mecanismo a otro ocurre abruptamente, a una distancia de 1,5-2 cm de la fuente, aun en ausencia de una de las antenas y con la información térmica como única clave.

El estudio de la dinámica de los movimientos antenales en insectos suspendidos reveló la existencia de patrones definidos diferentes durante la aproximación a una fuente de calor. Durante la fase de locomoción, los insectos despliegan movimientos suaves y coordinados. En contraste, durante las fases de detención las antenas exhiben movimientos sacádicos y con cambios de dirección abruptos. Sobre esta base, proponemos que las antenas son usadas como "instrumentos de medición" de las discontinuidades térmicas.

La respuesta comportamental de las vinchucas frente a fuentes térmicas de distintos tamaños aparentes, obtenidos variando el área emisora de la fuente o la distancia entre la fuente y el insecto, reveló una correlación positiva, estadísticamente significativa, entre el ángulo de apertura antenal y el ángulo subtendido por la fuente. Con estos resultados se construyó un modelo para explicar el mecanismo por el cual las vinchucas reconocen a sus hospedadores utilizando sólo el calor que éstos emiten.

Palabras Clave

Triatoma infestans, comportamiento, sentido térmico, orientación, antenas, termorreceptores, Mal de Chagas.

The antennae and the thermal sense in the haematofagous bug *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae)

Dissertation by Graciela B. Flores

Supervised by Claudio R. Lazzari

Abstract

The thermal sense of the haematophagous insect *Triatoma infestans* was studied to elucidate the role of the antennae in spatial orientation and in the evaluation of the properties of the thermal source.

The results demonstrate that the function of specific thermoreceptors involved with those behaviours for which the thermal cue is important depends on anatomical location. Under certain circumstances other heat receptors can assume the function of those located on the antennae. Nevertheless, the lack of the antennal input alters the behavioural response.

The analysis of the role of the antennae during the approach to a thermal source made it possible to define two mechanisms of orientation: *telotaxis*, which acts at a distance and *tropotaxis* which acts in proximity. The shift from one mechanism to the other occurs abruptly at a distance of 1.5-2 cm from the source even in the absence of one of the antenna and with thermal information as the only cue.

The study of the dynamics of antennal movements in suspended insects revealed the existence of defined and different patterns during the approach to a thermal source. During the walking phases the insects display smooth and co-ordinated movements. In contrast, during the standing phases the antennae exhibit saccadic movements with sudden changes of direction. On this basis, we propose that the antennae are "measuring instruments" for thermal discontinuities.

The behavioural response of the insects to thermal sources of differing apparent sizes, obtained by varying the area of the emitting surface or its distance from the insect, revealed a statistically significant positive correlation between the antennal opening and the angles subtended by the sources. A model was constructed with these results to explain the mechanism by which the insects recognise their host by using only their emitted heat.

Key Words

Triatoma infestans, behaviour, thermal sense, orientation, antennae, thermoreceptors, Chagas' disease.

*A Rubén,
porque su recuerdo borroso
me acompaña siempre.*

*A Fergus,
por la intensa, inmensa
felicidad.*

Agradecimientos.....	5
UNO. El modelo experimental.....	8
La vinchuca <i>Triatoma infestans</i> y la enfermedad de Chagas.....	8
Una breve reseña histórica	10
DOS. Algunos aspectos del comportamiento de los triatominos	16
Factores que afectan la distribución de las vinchucas	17
<i>Humedad relativa</i>	18
<i>El calor</i>	19
<i>Iluminación</i>	21
Factores que afectan la actividad de las vinchucas.....	22
La búsqueda y reconocimiento del alimento.....	23
<i>La clave térmica</i>	25
TRES. Las antenas de <i>Triatoma infestans</i>.....	30
Introducción	30
Morfología de las antenas de <i>T. infestans</i>	31
Los receptores sensoriales en insectos.....	33
<i>Los receptores sensoriales en triatominos</i>	39
<i>Los termorreceptores</i>	44
CUATRO. El enfoque experimental y las manipulaciones	50
La fisiología sensorial.....	50
Las manipulaciones experimentales llevadas a cabo en esta Tesis	52
Los animales y su preparación.....	53
<i>Privación de la entrada de información visual</i>	54

<i>Antenectomía</i>	54
<i>Preparación para los ensayos de lazo abierto</i>	55
Las condiciones experimentales.....	55
La adquisición y el procesamiento de los datos.....	57
CINCO. El papel de los receptores antenales en el sentido térmico.....	70
Introducción Teórica.....	70
Sección experimental.....	72
<i>Primer experimento</i>	73
<i>Animales, materiales y métodos</i>	73
<i>Resultados</i>	75
<i>Segundo experimento</i>	78
<i>Resultados</i>	78
<i>Tercer experimento</i>	80
<i>Animales, materiales y métodos</i>	80
<i>Resultados</i>	81
Discusión.....	82
SEIS. El papel de las antenas en la orientación térmica.....	86
Introducción Teórica.....	86
<i>El mecanismo de orientación en T. infestans</i>	89
Sección Experimental.....	90
<i>Animales, materiales y métodos</i>	91
<i>Primer experimento: Arena pequeña</i>	91
<i>Segundo experimento: Arena grande</i>	93
SIETE. Los movimientos antenales frente a una fuente térmica	104
Introducción Teórica.....	104
Sección experimental.....	106
<i>Animales, materiales y métodos</i>	106

<i>Resultados</i>	110
<i>Discusión</i>	115
OCHO. Los movimientos antenales y la evaluación del tamaño de una fuente térmica	118
Introducción Teórica.....	118
Sección experimental.....	119
<i>Animales, materiales y métodos</i>	120
<i>Resultados</i>	123
<i>Discusión</i>	126
NUEVE. Un mecanismo para el reconocimiento de una fuente térmica	128
Introducción	128
Hacia un mecanismo de reconocimiento de la fuente térmica.....	131
<i>Estimación de la distancia</i>	132
<i>Estimación del área</i>	134
<i>Estimación de la temperatura</i>	134
<i>La integración de la información</i>	135
Un mecanismo alternativo. ¿Espectroscopía IR?.....	141
<i>IR vs. otros mecanismos de intercambio de calor</i>	143
DIEZ. Bibliografía	144
Anexo I. Algunos conceptos sobre la física del calor	154
Definiciones generales.....	154
La transferencia de calor	154
Leyes de la radiación	155

Agradecimientos

Tantas personas me acompañaron en el deambular de los últimos años y contribuyeron, sin saberlo, a que esta Tesis finalmente se concretara que es difícil nombrarlos a todos y casi imposible decidir cómo hacerlo. Por esa razón, cobardemente, adopté el orden cronológico y, en algunos, casos el alfabético. Espero poder compensar su frialdad.

Antes que nadie, agradezco a mi madre, Adriana, que hizo posible mi paso por esta Universidad y a Luci, por estar siempre.

Josué Núñez, como consejero de estudios, me dio la libertad para encarar la Biología en toda su diversidad; tal vez fue entonces cuando empezó a crecer con más fuerza la necesidad de la “mirada generalista”. Más tarde, durante los años de investigación, me deleitó con sus largas charlas, su posición siempre crítica y su increíble, inagotable entusiasmo por la ciencia y por la vida.

Claudio Lazzari me enseñó a hacer “hablar” a las vinchucas. El tema de Tesis que me confió, un brote de su propio trabajo de investigación, fue un desafío, una lucha y un placer. Sin los intercambios de ideas, las discusiones y el valiosísimo tiempo y apoyo que me brindó durante la redacción del manuscrito a distancia (física y temporal) esta Tesis no existiría.

Mis amigos y compañeros de laboratorio hicieron de los primeros años de trabajo una experiencia de convivencia invaluable y durante “el regreso” me emocionaron con su apoyo, paciencia y generosidad. Agradezco infinitamente a los de la “primera ola”: Alicia Lorenzo (la Lorenza), Gabo Manrique, Marcelo Lorenzo (el Negro), Pablito Guerenstein, Teresita Insausti y a los que se fueron incorporando: Pablo Schilman, Carolina Reisenman, Marcelo Roca, Juan Ianowski, Verónica Campanucci, Romina Barrozo, Sebastián Minoli y Julieta Corchs. También quedaron en la memoria de los años del “50” los amigos de laboratorios vecinos y los que emigraron: Walter Farina (el Flaco), Roxana Josens, Flavio Rocés, Linus Spatz, Gaby de Brito, Martín Giurfa, Luciano Moffat y Fernando Grosclaude.

Agradezco en particular a Alicia por repetir el experimento de gradientes, a Verónica por las fotos de los receptores, a Carolina por el puntapié estadístico en la

“excavación” del experimento clave, a Gabo y al Negro por la lectura crítica, a Tere por los pacientes intentos de inmovilizar las antenas, a Ariel por la mirada “física”, a Pablo Roset por el retoque de las figuras, a Romina Romano por el diseño gráfico, a Eugene Tsai por el diseño de tapa, a Mariana y Colin por albergarme y ayudarme los cuatro últimos días, a Claudio Alonso y Juliana por los auxilios del final y a Adriana Schnek por la paciente lectura del manuscrito y su constante apoyo cibernético en los días de pánico.

Mis amigos “de afuera” Adri Cucchi, Andy, Buyi, Claudio (el Negro), Fabián, Hernán, Mariajo, Mariana, Marina, Patri, Paula, Ricky y Vale fueron fundamentales en estos últimos años de mi vida. Les agradezco infinitamente que estén ahí.

Finalmente, quiero agradecer en especial a Fede Manni, por todo.

El trabajo experimental se realizó en el Laboratorio de Fisiología de Insectos (Departamento de Ciencias Biológicas, FCEyN-UBA). Durante el desarrollo de la Tesis fui becaria del CONICET. La financiación del trabajo provino de subsidios otorgados a nuestro laboratorio por la Organización Mundial de la Salud UNDP/WORLD BANK/WHO, TDR, la Universidad de Buenos Aires y el CONICET.

Truly, to enjoy bodily warmth,
some small part of you must be cold,
for there is no quality in this world
that is not what it is
merely by contrast.

Herman Melville
Moby Dick, 1851

UNO. El modelo experimental

La vinchuca *Triatoma infestans* y la enfermedad de Chagas

La vinchuca *Triatoma infestans* es el principal vector del Mal de Chagas en Sudamérica (Lent y Wygodzinsky 1979, Zeledón y Rabinovich 1981). Esta enfermedad infecciosa, endémica en 21 países americanos, provoca lesiones serias en el corazón, esófago y colon y afecta la conducción nerviosa en esos órganos. En el hombre, la enfermedad de Chagas presenta una fase aguda –que aparece inmediatamente después de la infección y suele pasar inadvertida– y una fase crónica, que se manifiesta luego de un período silencioso, posiblemente de varios años de duración.

Con el tiempo, gran parte de los infectados desarrollan lesiones cardíacas que pueden llevar a la muerte súbita. También se observan problemas digestivos y alteraciones en el sistema nervioso periférico (OMS 1997). En animales domésticos ocurren patologías similares.

Si bien en los últimos años se ha comprobado una reducción en los porcentajes de infección en varios de los países afectados, las estadísticas basadas en datos serológicos indican que entre 16 y 18 millones de personas en América Central y del Sur padecen la enfermedad, mientras que 100 millones (23% de la población de Latinoamérica) están en riesgo de contraerla (OMS 2000).

La enfermedad de Chagas –o tripanosomiasis americana– es causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, un protozoo flagelado que se reproduce en el interior de las células y circula libremente por los vasos sanguíneos del hospedador. La vinchuca transmite el parásito mientras se alimenta de la sangre de sus hospedadores, a través de las heces que deposita sobre la piel, pelo o plumas mientras succiona. Para que ocurra la transmisión, es necesario que el insecto haya adquirido previamente el parásito al alimentarse de otro hospedador infectado. Sin embargo, esta no es la principal vía de entrada del parásito. El tripanosoma también puede ingresar a los hospedadores humanos por medio de transfusiones de sangre contaminada o a través de la placenta de madres infectadas.

Aparentemente, no es tan frecuente que la transmisión ocurra a través de la piel sino que se produce cuando las heces son depositadas por la vinchuca cerca de mucosas como la del ojo, la nariz o la boca, que son membranas que el parásito puede atravesar con mayor facilidad. La transmisión a pequeños mamíferos también parece producirse cuando estos animales lamen las heces al limpiar su pelaje (Diotaiuti 1995, citado por Schofield 2000) o por depredación sobre insectos infectados.

Los hábitos nocturnos de *T. infestans* y su preferencia por ambientes domiciliarios y peridomiciliarios han promovido su estrecha convivencia con el hombre. En áreas de distribución de esta especie, las viviendas habitadas por personas de baja condición socioeconómica resultan ideales para la cría y reproducción de este insecto ya que, en general, son rudimentarias y proveen múltiples escondites tales como grietas y rajaduras en paredes y techos. De esta manera, la enfermedad de Chagas se relaciona directamente con la pobreza.

Diversos factores han hecho que el Mal de Chagas se constituyera en una endemia, entre ellos, la falta de una quimioterapia apropiada. Sin embargo, el principal factor es, sin duda, la falta de control de la expansión de los vectores. En la actualidad no existe un tratamiento efectivo ni una vacuna contra el parásito. Si bien se están realizando ensayos clínicos con diversas drogas (OMS 1998), el control de la enfermedad se basa principalmente en una estrategia de manejo del vector y de exploración de la sangre de dadores en busca de anticuerpos contra el tripanosoma.

Ciertas características de *T. infestans* la hacen especialmente susceptible al control de su expansión. Entre ellas, el número limitado de hábitat en los que se la encuentra (con todos los estadios confinados a ambientes domésticos y peridomésticos); su baja velocidad de desarrollo poblacional y de rearreglo genético; su extrema especialización y baja variabilidad genética (con un repertorio genético pobre para adaptaciones posteriores como, por ejemplo, la resistencia a insecticidas) y una completa susceptibilidad a insecticidas modernos (Schofield y Dias 1998). Estas características fueron incluidas en modelos matemáticos y las proyecciones derivadas de ellos sugieren que el desarrollo social y

político de las regiones endémicas sería suficiente para el control de la enfermedad de Chagas (Dias y Schofield 1999).

En la actualidad, para interrumpir la transmisión de la enfermedad, se ataca a las vinchucas con insecticidas piretroides en las viviendas, mayormente en forma de rociado. En las llamadas “áreas de vigilancia” se realizan inspecciones manuales regulares y, en ocasiones, se colocan biosensores en las paredes del interior de las casas. Los sensores son básicamente pequeñas cajas de cartón, sin cebos ni venenos, que se colocan en la pared y son revisados regularmente (Gómez-Núñez 1965, García Zapata et al. 1985). Su interior ofrece un espacio oscuro y una gran superficie de contacto. Los insectos encuentran los sensores al azar y generalmente los adoptan como refugios (Schofield 1994, Gürtler et al. 1999). Así, mediante estos dispositivos es posible detectar la presencia de vinchucas a través de huevos, excrementos, exuvias o de los mismos insectos que permanecen en su interior, pero no son capturados. La detección es generalmente seguida por la fumigación.

En este contexto, en el que la transmisión de la enfermedad es atacada principalmente a través del control del vector, un mayor conocimiento de la fisiología y del comportamiento de la vinchuca resultan esenciales. Una comprensión más profunda de las capacidades sensoriales de este insecto y del uso que hace de la información del ambiente pueden contribuir, sin duda, a un mejoramiento en el diseño de trampas y cebos dirigidos a su captura y eliminación, como han demostrado trabajos recientes (Guerenstein et al. 1995, Lorenzo et al. 1998, Lorenzo et al. 1999). Varias líneas de investigación surgidas en nuestro laboratorio han dirigido sus esfuerzos a comprender la fisiología y el comportamiento de *T. infestans*.

Una breve reseña histórica

La enfermedad de Chagas tiene varios protagonistas: el parásito *T. cruzi*, causante directo de las lesiones y síntomas, los vectores reduvidos, que transmiten el parásito de un hospedador a otro y diversos hospedadores endotermos, de los cuales se alimentan los vectores y que son los que padecen la enfermedad.

Tanto el parásito como la mayoría de los vectores se encuentran confinados al continente americano. Sin embargo, la presencia de *T. cruzi* en América parece ser mucho más antigua que la de los vectores hematófagos. Varios estudios a nivel molecular, que incluyen filogenias basadas en la comparación de secuencias de rRNA y análisis genéticos, indican que el parásito se habría originado alrededor de 65 millones de años atrás, en el supercontinente Gondwana, antes de su separación de lo que hoy es Sudamérica (Schofield 2000).

En contraste, el hábito hematófago de los triatomíneos parece ser relativamente reciente. Se postula que no tiene más de 5 millones de años y que habría surgido en insectos predadores ya presentes en América. La paradoja que surge de las discrepancias en los tiempos de aparición de hospedador y parásito parece resolverse con la adición de un nuevo personaje: los mamíferos marsupiales (Schofield 2000).

Una versión tentativa de la historia evolutiva de la asociación entre *T. cruzi* y la vinchuca postula que el parásito habría ingresado al continente americano transportado por marsupiales como las zarigüeyas. El tripanosoma, que aparentemente sólo infectaba vertebrados, se transmitía en forma directa entre estos marsupiales a través de la secreción de sus glándulas anales. Alrededor de 2 a 5 millones de años atrás, ciertas aves, armadillos y varias formas de roedores constructores de nidos aumentaron dramáticamente su número. Los nuevos hábitat que proporcionaban y los invertebrados asociados a ellos habrían atraído a las vinchucas presentes, que por ese entonces depredaban sobre otros invertebrados. Algunas de las vinchucas asociadas a esos nidos habrían adquirido un hábito hematófago facultativo que les habría permitido beber la sangre de los vertebrados. Finalmente, habrían derivado en hematófagos obligados (Schofield et al. 1999).

Mientras tanto los marsupiales, que también experimentaron una expansión, habrían comenzado a utilizar los numerosos refugios de otros vertebrados, un comportamiento que los caracteriza. Los reduvidos hematófagos que se alimentaron de estos marsupiales invasores habrían adquirido el parásito y comenzado a transportar a los tripanosomas de nido en nido, expandiendo así su distribución (Schofield et al. 1999). Si bien en las aves el tripanosoma no puede sobrevivir ya que es destruido por el sistema inmunológico del

animal parasitado, en roedores, armadillos y murciélagos no sólo habría sobrevivido sino que fuertes presiones selectivas habrían resultado en nuevas formas hematófagas.

En la actualidad, los triatomíneos de la subfamilia Reduviidae se encuentran distribuidos en todo el globo en un número de alrededor de 128 especies agrupadas en 17 géneros. La mayoría son selváticas y tienen una gran variedad de hospedadores vertebrados habitantes de nidos. Otras también se encuentran en ambientes peridomésticos tales como gallineros y corrales. Unas pocas especies –como *T. infestans* en el Cono Sur y *R. prolixus* en la zona andina y América Central– completaron la transición a hábitat domésticos y se transformaron en importantes vectores de la enfermedad de Chagas.

En los últimos años, se ha informado que varias especies selváticas han comenzado a establecer colonias domésticas o peridomésticas, entre ellas, *T. dimidiata*, *Panstrongylus rufotuberculatus*, *R. stali*, *Eratyrus mucronatus* y *P. geniculatus*. Si bien, como ya mencionamos, los índices de infección han disminuido en varios países en los últimos años, la invasión de ambientes domésticos por especies selváticas puede constituirse en uno de los más grandes desafíos en la lucha contra los vectores de la enfermedad de Chagas en la próxima década (Schofield et al. 1999).

Con respecto a la infección humana, las evidencias más antiguas de personas infectadas por *T. cruzi* provienen de excavaciones realizadas en el desierto de Atacama, en Chile. El análisis de fragmentos de ADN encontrados en tejidos esqueléticos y viscerales de cuerpos humanos momificados sugieren que los habitantes de las costas chilenas habrían sufrido la enfermedad de Chagas hace alrededor 4.000 años atrás (Guhl et al. 1997).

Los primeros reportes históricos de la vinchuca se remontan a la época de la conquista de América, comenzando por Fray Fernando de Lizarraga que en el siglo XVI describió la presencia y hábitos de estos insectos en el valle de Cochabamba, Bolivia. Las descripciones hechas en crónicas del Ejército Libertador comandado por José de San Martín en Chile también mencionan a las vinchucas. Sin embargo, la más famosa de las descripciones de las “*benchucas*”, es sin duda la de Charles Darwin, en la que alude a la

ciudad mendocina de Luján de Cuyo¹. Esa es una narración entre las muchas realizadas por viajeros ingleses que recorrieron nuestro país durante el siglo pasado. Guillermo E. Hudson también informó sobre la presencia de vinchucas en la campaña uruguaya.

La tripanosomiasis americana fue descrita por primera vez en 1909 por Carlos R. J. das Chagas (1879-1934), un joven médico brasileño encomendado para relevar focos de paludismo en el nordeste de Brasil. Mientras trabajaba en Minas Gerais, Chagas se enteró de la existencia de un insecto hematófago –el “*barbeiro*”–, que habitaba las casas de barro y paja y picaba al hombre durante la noche. Chagas capturó y analizó vinchucas y en la última porción del intestino de estos insectos encontró parásitos que identificó como tripanosomas hasta el momento desconocidos.

Chagas y su maestro, Oswaldo Cruz, lograron infectar animales de laboratorio por medio de la picadura de vinchucas infectadas y por inoculación. Chagas denominó al parásito *Trypanosoma cruzi*, en homenaje a su maestro y se dedicó a estudiar la nueva enfermedad (Chagas 1909). Así, describió el parásito y su ciclo de vida, los vectores, los signos clínicos y la existencia de reservorios de la nueva enfermedad en una serie de publicaciones que se constituyeron en un paradigma de la investigación científica y clínica.

¹ Por la noche, hube de sostener una lucha, y no es exageración, con una Benchuca, especie de Reduvius, la gran chinche negra de las pampas. ¿Qué asco no experimentará uno cuando nota que le recorre el cuerpo un insecto blando que tiene, por lo menos una pulgada de largo? Antes de que comience a chupar, ese insecto es completamente plano, pero a medida que absorbe sangre se redondea, y en este estado se aplasta fácilmente. Una de esas chinches, de que me apoderé en Iquique, porque se las encuentra también en Chile y en el Perú, se hallaba completamente vacía. Colocado en una mesa y rodeado de gente, ese audaz insecto, si se le presenta el dedo, se abalanza en seguida a él, y si se le deja, empieza a chupar. Su picadura no causa ningún dolor y es muy curioso ver como se va hinchando de sangre su cuerpo; en menos de diez minutos, de plano que es se convierte en una bola. Esa comida que uno de los oficiales del navío tuvo a bien ofrecerle a la benchuca, bastó para conservarla en una decente gordura durante cuatro meses enteros; pero al cabo de quince días se hallaba ya dispuesta a efectuar una segunda comida.

Charles Darwin. *Viaje de un naturalista alrededor del mundo*, 1845.

En los años siguientes, se multiplicaron las investigaciones sobre la epidemiología de la enfermedad, el ciclo biológico del parásito, el mecanismo de transmisión, el diagnóstico y la evolución del tripanosoma en los tejidos. Se comenzó a estudiar también la biología de la vinchuca y se identificaron varias especies vectoras.

Desde el comienzo de sus investigaciones, Chagas intuyó que se trataba de una epidemia de una importancia extraordinaria. Debido a que casi todos los pacientes que presentaban el parásito en sangre padecían también de bocio o de cretinismo endémico, Chagas atribuyó, erróneamente, esas afecciones tiroideas a la infección por el parásito. Esta interpretación equivocada despertó grandes polémicas que disminuyeron el interés de los médicos y postergaron por casi 20 años el estudio de la enfermedad.

Aun así, lentamente, el descubrimiento de la nueva enfermedad fue progresando en diversos países de América. Chagas presentó sus resultados en Buenos Aires en 1912, pero fue muy criticado por su error de interpretación y se llegó a proponer que la tripanosomiasis era un hallazgo casual que no representaba necesariamente una enfermedad. Sin embargo, en 1914 se demostró en nuestro país que el *T. cruzi* infectaba a la vinchuca *T. infestans*. Más tarde se comprobó que esta especie era el vector más común en Argentina.

La participación del médico argentino Salvador Mazza (1886-1946) fue decisiva en el “redescubrimiento” de la enfermedad de Chagas. Entre 1927 y 1946, año en que murió, Mazza describió más de mil casos clínicos y fue también el primero en proponer la posibilidad de transmisión de la enfermedad por medio de transfusiones de sangre (Mazza et al. 1936, citado en Morel 1999).

Lentamente, se comenzaron a crear centros de estudios clínicos en Brasil y Argentina y se desarrollaron estrategias de control usando insecticidas dentro de las viviendas. Sin embargo, recién en el período de 1975 a 1981 se llevaron a cabo estudios seroepidemiológicos que dieron los primeros datos confiables sobre la prevalencia de la enfermedad y la infestación de las casas por vectores triatominos. Se realizaron estudios a nivel nacional y se aplicaron protocolos estandarizados para estimar el nivel de infección.

El resultado trascendió todas las predicciones: 18 millones de casos en 21 países endémicos. Así, la enfermedad de Chagas trepó al primer lugar en la lista de enfermedades tropicales ordenadas por su gravedad y al cuarto lugar entre las enfermedades transmisibles.

En años siguientes se estandarizaron técnicas serológicas y criterios para el diagnóstico de la infección y se creó una red de laboratorios en 14 países endémicos. En 1986 se clonó material genético de *T. cruzi* y se comenzaron a desarrollar antígenos para mejorar el diagnóstico serológico. En la década de 1990 se comenzaron a comercializar *kits* para el control de bancos de sangre y se desarrollaron nuevas herramientas para el control del vector. En 1995 se lanzó el proyecto genoma *T. cruzi*. Se comenzaron a producir pinturas insecticidas, potes fumígenos y cajas sensoras en Brasil y Argentina.

La OMS lanzó varias iniciativas para la interrupción de la enfermedad de Chagas. Como mencionamos previamente, se logró una reducción del número de vectores y hasta una interrupción de la transmisión por transfusiones en varios países. Sin embargo, las estadísticas sobre el número de infectados por *T. cruzi* y el número de personas en riesgo de contraer la enfermedad siguen siendo alarmantes.

De esta manera, pasaron casi 80 años desde que se descubrió la enfermedad hasta que se realizaron mapeos a gran escala de su prevalencia y su impacto social en el continente americano. Durante esos años, se fue acumulando información importante como resultado de estudios de laboratorio, clínicos, epidemiológicos y a campo. Sin embargo, estos resultados no se tradujeron en acciones inmediatas (Morel 1999). Como ya señalara Chagas, una de las razones es que esta enfermedad afecta principalmente áreas rurales pobres que tradicionalmente reciben poca o ninguna prioridad política, lo que confirma cuán amplia suele ser la brecha entre la investigación, las tomas de decisiones y el interés público.

DOS. Algunos aspectos del comportamiento de los triatominos

Los estudios sobre la biología de la vinchuca comenzaron a multiplicarse lentamente cuando se comprendió la relación entre este insecto y el “Mal de Chagas”, poco tiempo después de que la enfermedad fuera descubierta (Chagas 1909). Desde entonces, se describieron numerosas especies de vectores y se fueron sucediendo los trabajos sobre la biología de estos insectos redúvidos (Neiva 1913, Prata 1999). En la actualidad, se conocen cerca de 130 especies de triatominos en el continente americano, de las cuales alrededor de la mitad son vectores potenciales del tripanosoma.

Sin embargo, el papel de los triatominos en la transmisión de la enfermedad no motivó, en principio, su estudio en profundidad. La falta de apoyo que experimentó Carlos Chagas por parte de la comunidad científica (ver *UNO. El modelo experimental*) fue un obstáculo en el desarrollo de las investigaciones sobre la vinchuca. Llamativamente, el gran volumen de conocimiento que existe sobre la fisiología de los insectos hematófagos se debe a la elección de las vinchucas como modelo experimental para estudios de fisiología básica por parte de un investigador inglés, Sir Vincent Brian Wigglesworth. Resulta interesante el hecho de que su elección no se basó en la importancia de la vinchuca como vector de una enfermedad, sino en aspectos de su biología, entre ellos, la relación entre la alimentación y el proceso de la muda.

Los diversos estudios fisiológicos realizados por Wigglesworth en *Rhodnius prolixus* revelaron mecanismos generales involucrados en procesos complejos como la eclosión, la regulación hormonal del crecimiento y la metamorfosis, entre muchos otros (Wigglesworth 1972). Sus investigaciones dieron nacimiento a una nueva rama de la entomología, la *Fisiología de Insectos*. Además, los estudios comportamentales realizados en esa especie fueron el punto de partida para análisis subsecuentes de los mecanismos que subyacen a la detección y reconocimiento de los hospedadores por parte de los insectos hematófagos. Entre esos estudios se incluyen los experimentos realizados para este trabajo de Tesis.

Las vinchucas constituyen un modelo fascinante para la fisiología sensorial y el comportamiento ya que presentan adaptaciones que les permiten detectar a sus

hospedadores potenciales, succionar su sangre y disminuir el riesgo de depredación con gran eficiencia. Más aún, estas tareas las llevan a cabo utilizando capacidades sensoriales de las que lo humanos carecemos, lo que hace más motivador el desafío de comprender cómo las vinchucas perciben el mundo que las rodea.

Uno de los aspectos más interesantes de estos insectos es el uso que hacen de la información térmica proveniente del ambiente. Se ha demostrado que, en las vinchucas, el calor no sólo afecta procesos fisiológicos básicos como el metabolismo, el crecimiento, la reproducción (Giojalas y Catalá 1993) o la elección de hábitat (Lazzari 1991b, Lorenzo y Lazzari 1999) sino que influye también en los ritmos de actividad (Lazzari 1992) y la oviposición (Lazzari 1991b).

Pero sin duda, el papel más importante que juega la clave térmica está relacionado con la búsqueda de alimento, ya que estos insectos son capaces de localizar a sus hospedadores potenciales usando únicamente el calor que emana del cuerpo de sus hospedadores de sangre caliente (Wigglesworth y Gillet 1934a, Lazzari 1990).

Recientemente, se han publicado revisiones que abarcan distintos aspectos de la Fisiología del Comportamiento de las vinchucas (Lazzari et al. 1999, Lorenzo et al. 1999, Lorenzo Figueiras et al. 1999, Insausti et al. 1999).

En este capítulo, presentamos una breve introducción al comportamiento de la vinchuca *Triatoma infestans* y de otros insectos redúvidos que incluye aquellos temas que consideramos más relevantes para nuestro trabajo. De esta manera, esperamos proveer de un marco teórico e histórico al trabajo experimental realizado en esta Tesis.

Factores que afectan la distribución de las vinchucas

La mayoría de los redúvidos ocupan ambientes silvestres. En general, se hallan en nidos o refugios de marsupiales, aves, roedores y murciélagos, en una estrecha asociación con hospedadores de los que dependen para su supervivencia (Schofield 1979, Schofield 1994). Sin embargo, algunas especies ocasionalmente invaden las viviendas y se convierten en vectores de la enfermedad para los humanos (Schofield 1994, Carcavallo et al. 1998a).

Especies como *Rhodnius prolixus*, *T. dimidiata*, *T. brasiliensis*, *Panstrongylus megistus* y *T. infestans* conviven con los humanos y son los grupos de mayor importancia epidemiológica (Salvatella et al. 1998). *T. infestans* es la especie de distribución más amplia en la Argentina (Carcavallo et al. 1999). Además, se la halla en Chile, Uruguay, Paraguay, Bolivia, Perú y Brasil. En nuestro país, las provincias más afectadas son Santiago del Estero, Chaco y Formosa y, en menor medida, Santa Fe, Catamarca, San Juan y otras provincias centrales.

La distribución de las vinchucas está influenciada por factores físicos del ambiente. La comprensión de cómo ciertas variables ambientales afectan esa distribución es un tema de gran relevancia ya que no sólo podría explicar la distribución actual de estos insectos sino también predecir la posibilidad de que ciertas especies en transición colonicen ambientes domésticos. Además, podría ciertamente contribuir a mejorar la eficiencia de las campañas de control de los vectores (ver UNO. *El modelo experimental*).

Con este objetivo, trabajos realizados a campo y en el laboratorio analizaron las preferencias de diferentes triatominos por variables ambientales como la humedad, la temperatura y la iluminación (Lazzari et al. 2000). Diversas especies de vinchucas fueron expuestas a gradientes artificiales de las distintas variables analizadas o mantenidas bajo condiciones constantes que eran controladas en forma rigurosa. Los resultados obtenidos se integraron con mediciones de campo a largo plazo de las condiciones microambientales que las vinchucas experimentan en su medio natural. A continuación presentamos los resultados de algunos de los trabajos mencionados.

Humedad relativa

La humedad relativa (HR) demostró ser un factor relevante en la distribución de las vinchucas. Varias especies –como *T. infestans*– son claramente xerófilas. Los experimentos realizados en gradientes de humedad demostraron que esta vinchuca prefiere sitios con valores de HR cercanos al 0% para comportamientos como la ecdisis, la oviposición o simplemente para permanecer (Roca y Lazzari 1994). Estos datos cobran sentido cuando se los relaciona con la distribución geográfica de los insectos ya que los valores de infestación domiciliaria más altos corresponden a las zonas de mayor déficit hídrico.

La xeropreferencia de *T. infestans* fue interpretada en términos de tres factores: la facilidad para eliminar productos hidrosolubles de excreción a bajos valores de humedad relativa, la protección que otorga la sequedad contra hongos patógenos y la ventaja de un mayor contraste entre un fondo de bajo valor de HR y un hospedador que normalmente emite vapor de agua (Roca y Lazzari 1994).

Otras especies, como *R. prolixus*, *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata* y *P. megistus*, también prefieren ambientes extremadamente secos luego de alimentarse. Sin embargo, a medida que aumenta el tiempo de ayuno, luego de la ecdisis, se mueven hacia zonas más húmedas, un comportamiento que se intensifica con el tiempo transcurrido desde la alimentación.

Ensayos realizados a campo demostraron que, en refugios naturales, las variaciones de HR se ven atenuadas con respecto a las del ambiente externos y que lo mismo ocurre con los valores promedio de HR que son generalmente menores dentro de los refugios. Este último dato resulta interesante ya que, cuando se comparan los valores de HR de diferentes microambientes, se verifica que distintos refugios muestran una respuesta distinta a la humedad externa. Por ejemplo, las grietas mantienen valores bajos de HR mientras que los huecos de los árboles presentan valores más altos que los valores de referencia. La elección de las grietas por ciertas especies de vinchucas se interpreta en el mismo sentido que la xeropreferencia (Lorenzo y Lazzari 1999).

Sin embargo, la baja HR presenta desventajas para los insectos durante ciertos procesos fisiológicos como la ecdisis o la eclosión y podría hacer peligrar su supervivencia. Las vinchucas parecen minimizar estas situaciones de riesgo a través de una estrategia temporal. La elección del amanecer para llevar a cabo la eclosión del huevo y la ecdisis, procesos controlados por relojes circadianos (Lazzari 1991a), ha sido interpretada en este marco (Lazzari et al. 2000).

El calor

La temperatura del ambiente es otro factor de importancia en la distribución de estos insectos hematófagos, fuera y dentro de las viviendas. Experimentos realizados en gradientes térmicos mostraron que la preferencia de *T. infestans* por ciertas temperaturas no

es un fenómeno estático sino que presenta un ritmo diario de variación con una base circadiana endógena (Lazzari 1991b, Minoli 1999). La temperatura preferida para permanecer se incrementa gradualmente durante la *fotofase* –o fase de luz– y al comienzo de la *escotofase*, es decir, a las horas del día en que las vinchucas normalmente se encuentran agregadas, aunque no inmóviles (ver a continuación *Factores que afectan la actividad de los insectos*). De esta manera, los insectos alcanzan una temperatura corporal máxima poco antes de desplegar el pico de actividad diaria, en la segunda hora de la escotofase. Las vinchucas, debido a su bajo peso corporal, se caracterizan por tener una capacidad calorífica y una inercia térmica muy bajas; por esa razón, la absorción del calor por radiación solar del ambiente puede llegar a cobrar gran importancia (Precht et al. 1973).

Además de ser afectada por la hora del día, la preferencia térmica depende del grado de desarrollo, el estado reproductivo y el estado nutricional de los insectos. Este último factor demostró ser una variable particularmente importante ya que la preferencia por una cierta temperatura varía en forma marcada con el nivel de ayuno de los insectos. Durante los primeros días siguientes a la alimentación, *T. infestans* prefiere una temperatura media de 28°-29°C; luego se desplaza hacia sitios más fríos y, días más tarde, la temperatura preferida cae a 25°-26°C. Sin embargo, luego de ser alimentados por segunda vez, la preferencia vuelve a desplazarse a valores similares a los de los días siguientes a la primera alimentación, para declinar nuevamente (Lazzari 1991b). Las altas temperaturas estimularían la digestión, así como la pérdida de agua, un proceso importante para los insectos hematófagos en los que la ingesta de sangre los carga con enormes volúmenes de líquido que deben eliminar. Distintas especies muestran distinta preferencia, así como diferentes patrones temporales de variación, tanto diarios como a plazos mayores de tiempo. Sin embargo, en general, la variación de la preferencia térmica con el ayuno y después de la alimentación sugieren una regulación comportamental de la tasa metabólica (Lazzari 1991b).

Por otra parte, en experimentos realizados a campo, se analizaron las variaciones térmicas en los microambientes que habitan las vinchucas. Los resultados indican que los refugios naturales también atenúan las variaciones térmicas externas. Sin embargo, a

diferencia de lo que ocurre con la humedad, los valores medios no difieren de los valores de temperatura del ambiente, o se mantienen levemente por encima de la temperatura media externa (Lazzari et al. 2000). La preferencia térmica en distintas especies de vinchucas también mostró una correlación con su distribución en hábitat y regiones geográficas naturales.

Sobre la base de las preferencias higras y térmicas, y de las variaciones de estos parámetros en distintos tipos de refugios naturales, se propuso la existencia de un mecanismo de termorregulación comportamental en triatominos. Esta hipótesis se ve apoyada por la evidencia proveniente tanto del estudio de distintas especies en particular como de la comparación entre ellas, que revela las adaptaciones del grupo a diferentes condiciones ambientales. En ambos niveles existe una correlación entre el estado nutricional, la tolerancia al ayuno y la termopreferencia (Lazzari et al. 2000).

La hipótesis propone que habría tres diferentes estrategias frente al ayuno. Algunas especies –como *R. prolixus*– parecen economizar energía y nutrientes situándose a temperaturas relativamente bajas; otras –como *T. infestans* y *T. sordida*– permanecen en lugares relativamente calientes justo después de alimentarse, pero se desplazan hacia zonas más frías a medida que el tiempo desde la ingesta aumenta. Un tercer grupo –ejemplificado por especies como *T. brasiliensis* y *P. megistus*– muestra un patrón similar a este último, pero el desplazamiento a áreas más frías es marcadamente lento. Las primeras dos estrategias fueron interpretadas como tolerancia comportamental y la tercera como tolerancia fisiológica (Lazzari et al. 2000).

Iluminación

La iluminación es también un factor que influye marcadamente en la distribución de las vinchucas. La luz induce un fuerte comportamiento fototáctico negativo en triatominos nocturnos (Reisenman et al. 1998, Reisenman 2000). La respuesta fototáctica en *T. infestans* aumenta con la intensidad de luz y varía en las distintas horas del día (Reisenman et al. 1998). Los niveles más altos de respuesta se observan durante la escotofase, cuando los insectos están normalmente activos (Lazzari 1992).

La respuesta de escape de la luz parece tener dos componentes: un componente exploratorio y una respuesta fototáctica negativa. Se demostró, además, que esta respuesta está bajo control endógeno y que es particularmente sensible a la luz durante el pico de actividad de los insectos que ocurre en horas de oscuridad. La preferencia por dirigirse a y permanecer en lugares oscuros –o *escototaxis*– se interpreta como una adaptación que contribuye a disminuir la depredación (Wiesinger 1956).

Factores que afectan la actividad de las vinchucas

A diferencia de otros triatominos, *T. infestans* vive casi en forma exclusiva en ambientes domésticos y peridomésticos de viviendas rurales humanas. Sólo se conocen focos silvestres de esta especie en Cochabamba, Bolivia. Dentro de las viviendas, los insectos se encuentran con mayor frecuencia cerca de los sitios donde duermen los hospedadores (Zeledón y Rabinovich 1981) y su distribución varía según su ciclo de actividad.

Durante el día, las vinchucas se hallan en un estado de inmovilidad denominado *akinesis* y agregadas en grupos, un comportamiento que parece estar mediado por claves visuales, químicas y mecánicas. Suelen encontrarse en el interior de grietas y sobre superficies rugosas. La presencia de irregularidades en paredes y pisos parece ser una condición que favorece fuertemente la presencia de vinchucas. Estos insectos tienen una tendencia a alcanzar el mayor contacto físico posible con el sustrato y con otras vinchucas, comportamiento denominado *tigmotaxis*.

Se ha demostrado que ciertas señales químicas presentes en las heces guían a los insectos hacia los “refugios”, como se denomina a los sitios donde los insectos permanecen durante las horas del día. Las señales químicas inducen y mantienen la agregación en grupos (Lorenzo y Lazzari 1996a, Lorenzo Figueiras y Lazzari 1998). Esas señales se encuentran en los excrementos de los propios insectos (Schofield y Patterson 1977, Lorenzo Figueiras et al. 1994) y en huellas químicas que las vinchucas dejan en los sustratos sobre los que caminan (Lorenzo Figueiras y Lazzari 1998). Aunque no se conoce

aún su composición, ambos tipos de señal difieren entre sí en su origen, en su capacidad de ser extraídas con solventes y en el mecanismo involucrado en su recepción.

Por otra parte, el comportamiento de agregación facilita la tigmotaxis (Zeledón y Rabinovich 1981), comportamiento que, a su vez, está mediado por claves mecánicas. La tigmotaxis también se interpreta como una estrategia antipredatoria (Núñez 1987) e implica cambios fisiológicos como la disminución de la frecuencia cardíaca (Chiang et al. 1992).

Desde las primeras observaciones sobre el comportamiento de las vinchucas, los investigadores pudieron comprobar que los insectos están activos durante la noche y permanecen ocultos durante las horas del día. La actividad nocturna de las vinchucas se interpreta en general en un contexto de búsqueda de alimento, pareja y refugio (Núñez 1987, Lazzari 1992, Lorenzo Figueiras et al. 1994, Lorenzo y Lazzari 1996). *T. infestans* presenta un ritmo diario de actividad con dos componentes principales: uno, ya mencionado, en la segunda hora de la escotofase y el otro al principio de la fotofase. Estos ritmos endógenos fueron relacionados con la búsqueda de hospedador y de refugio, respectivamente (Lazzari 1992, Lorenzo y Lazzari 1998).

Si bien la locomoción es principalmente sincronizada por la luz, la temperatura mostró ser una clave más fuerte, a pesar de que los ciclos de luz dominan sobre los térmicos. La preponderancia de la temperatura como clave concuerda con la alta sensibilidad térmica de esta especie (Lazzari 1990). En este contexto, la temperatura actuaría modulando la actividad espontánea de los insectos. Experimentos en animales antenectomizados apoyan esta idea y sugieren que las antenas estarían involucradas en esa modulación, ya que la antenectomía no afecta la sincronización pero sí la expresión temporal de la actividad: los insectos sin antenas se vuelven activos a horas inusuales del día (Lazzari 1992).

La búsqueda y reconocimiento del alimento

Como todo insecto hematófago obligado, *T. infestans* se alimenta exclusivamente de la sangre de sus hospedadores que son, en la gran mayoría de los casos, endotermos. Durante la localización de una fuente de alimento, los insectos se valen de claves

sensoriales provenientes de sus hospedadores potenciales (Wigglesworth y Gillet 1934a, Lazzari y Núñez 1983, Taneja y Guerin 1995, Guerenstein y Guerin 2001). Las claves utilizadas –principalmente químicas y térmicas– estimulan receptores distribuidos en distintas partes de cuerpo pero que están mayormente concentrados en las antenas.

Cuando se encuentran a pocos metros de un posible hospedador, alertados por su presencia, los insectos utilizan básicamente las corrientes de aire como fuente de información (Kennedy 1977). El umbral para desencadenar el comportamiento de orientación anemotáctica disminuye con la presencia en el aire de ciertos compuestos químicos como el CO₂ o el ácido láctico presentes en el olor emanado por los hospedadores (Núñez 1982, Núñez 1987). Siguiendo corrientes de aire transportadoras de olores, los insectos pueden alcanzar la zona en que el gradiente de concentración de moléculas odoríferas puede ser percibido por medio del mecanismo de quimiotaxis (ver *SEIS. El papel de las antenas en la orientación térmica*).

En *T. infestans*, se ha demostrado que dos compuestos –el nonanal y el ácido isobutírico– estimulan la actividad eléctrica de algunas sensilias antenales. El nonanal, presente en la lana de oveja y en las plumas de gallina, actúa sobre ciertas sensilias basicónicas (ver *TRES. Las antenas de Triatoma infestans*) mientras que el ácido isobutírico –característico del olor a conejo– activa las sensilias con forma de domo. El análisis de la respuesta comportamental de las vinchucas frente a corrientes de aire que contenían estos compuestos reveló que el nonanal causa activación mientras que el ácido isobutírico induce un aumento en el desplazamiento corriente arriba (*upwind*), mecanismo denominado *anemotaxis condicionada por olor* (Guerenstein y Guerin 2001).

Si bien las claves químicas son fundamentales a distancia, una vez que la vinchuca se encuentra cerca de una fuente de alimento, la única clave necesaria y suficiente para desencadenar la respuesta de picar es el calor emitido por el animal (Lazzari 1990, Flores y Lazzari 1996). Una vez que ha detectado y localizado al hospedador, la vinchuca se aproxima a él. Cuando encuentra un parche de piel, procede a clavar un par de estiletes mandibulares mientras que con los estiletes maxilares más delgados horada los vasos sanguíneos subyacentes (Schofield 1994).

Si bien la temperatura de la sangre no está directamente involucrada en el reconocimiento del alimento (Lazzari y Núñez 1989a), el comportamiento de extensión de la proboscis, indispensable para la succión, no se manifiesta si no existe una diferencia de temperatura entre la fuente y el ambiente de 1 o 2° C (en la que la fuente esté más caliente que el ambiente) (Nicolle y Mathis 1941). Además, el calor es un factor responsable de desencadenar la respuesta de *plasticización* por la cual la cutícula abdominal se vuelve temporalmente extensible y permite así la incorporación de un gran volumen de líquido (Ianowski et al. 1998).

El comienzo del proceso de ingestión es afectado por la presencia de determinadas sales y nutrientes (Friend y Smith 1977). Mientras que para *R. prolixus* es necesaria la presencia de nucleótidos fagoestimulantes en la dieta, *T. infestans* ingiere fácilmente soluciones de NaCl de la misma concentración que la sangre de vertebrados (Guerenstein y Núñez 1994). Las vinchucas, además, inyectan saliva que posee efecto vasodilatador y que inhibe la hemostasis. En el caso de *R. prolixus*, la saliva tiene también un efecto anticoagulante (Ribeiro 1987, citado por Schofield 1994).

Si no es perturbada, *T. infestans* es capaz de ingerir varias veces su propio peso en sangre. Al poco tiempo de alimentarse, el insecto se deshace de las primeras gotas del líquido ingerido sobre la piel del hospedador por medio de una diuresis copiosa y casi inmediata (Wigglesworth 1931, Núñez 1987). Luego de la ingesta las vinchucas, llenas de sangre y vulnerables a la depredación, esperan al amanecer y buscan refugio (Lorenzo y Lazzari, 1999). En un período de alrededor de 4 o 5 horas se deshacen de alrededor de un 40% del volumen de líquido ingerido.

La clave térmica

El primer reconocimiento de la importancia de la clave térmica en la orientación de las vinchucas se remonta al trabajo clásico de Wigglesworth y Gillet (1934), en el que se demuestra que *R. prolixus* es capaz de guiarse hacia un hospedador potencial utilizando solamente la diferencia de temperatura de una fuente de calor respecto a la del ambiente.

Estos autores describieron la respuesta de *R. prolixus* frente a una fuente térmica y estudiaron su comportamiento bajo diferentes condiciones. La respuesta –que incluye

movimientos antenales característicos, orientación hacia la fuente de estímulos y, eventualmente, intentos de picar— se mantenía al cubrir ojos y ocelos y al amputar la proboscis, pero no al amputar las antenas. Esto sugirió por primera vez que los receptores responsables de la recepción del calor están en estos órganos bilaterales. Los autores demostraron, también, que la estimulación química colabora en la orientación pero que no es suficiente para desencadenar la extensión de la proboscis, una respuesta característica de los insectos cuando se encuentran muy cerca de un hospedador.

Años más tarde, Nicolle y Mathis (1941) analizaron la sensibilidad de la respuesta de ninfas y adultos de *T. infestans* a una fuente térmica tomando como parámetro los intentos de picar. Según estos autores, la diferencia mínima entre la temperatura de un cuerpo térmico y la del ambiente suficiente para estimular a los insectos es de 1 o 2°C y la temperatura máxima capaz de desencadenar una respuesta es de 40°C y 45°C para ninfas y adultos, respectivamente. Las temperaturas mayores no eran efectivas.

Posteriormente, Fujita y Kloetzel (1976) analizaron la preferencia térmica de adultos de *R. prolixus* para alimentarse. Los insectos eligieron alimentadores mantenidos a 37°C entre una selección de temperaturas de 19° a 43°C. Así, se comprobó que en ambas especies de vinchucas —*T. infestans* y *R. prolixus*— existe un intervalo de temperaturas capaces de provocar una respuesta máxima. Estas temperaturas son similares a la de los hospedadores usuales de estas especies.

Por alguna razón, los trabajos mencionados no profundizaron el estudio del sentido térmico de estos insectos hematófagos. Los análisis más detallados relacionados con este tema fueron los referidos a termorreceptores cutáneos de mamíferos y a termorreceptores de las serpientes de las familias Crotalidae y Boeidae (Bullock y Cowles 1952, Hartline 1974). Si bien en algunos insectos se ha descrito con gran detalle la ultraestructura de los termorreceptores y las características de la respuesta electrofisiológica (Loftus 1978, Loftus y Corbière-Tichané 1981, Corbière-Tichané y Loftus 1983, Altner y Loftus 1985, Yokohari 1999, Vondran et al. 1995) fueron muy pocos los que incursionaron más allá de este primer nivel de recepción, analizando aspectos de la percepción a través de estudios de

comportamiento (Evans 1966a, Hartline 1974, Kurten y Schmidt 1982, Lazzari y Núñez 1989, Schmitz et al. 1997 y Schmitz et al. 2000).

En nuestro laboratorio se han llevado a cabo una serie de estudios detallados de la orientación térmica de las vinchucas. Con ellos se han podido establecer los eventos comportamentales que forman parte de la respuesta general a estímulos térmicos en *T. infestans* los cuales, en orden de umbral creciente, son: movimientos antenales, actividad locomotora, extensión de la proboscis, intento de picar y limpieza de las antenas (Lazzari y Núñez 1989, Lazzari 1990).

Experimentos realizados para estudiar la sensibilidad de la respuesta a los estímulos térmicos frente a fuentes de distinto tamaño (desde una fuente puntual hasta una masiva) a diferentes temperaturas mostraron un incremento en la respuesta –medida a través de los comportamientos de mayor umbral, i.e., la extensión de la proboscis y los intentos de picar la fuente– que se mantenía hasta los 47°C. A partir de esta temperatura, la respuesta disminuía bruscamente.

Un hecho interesante, que se manifestó por primera vez en estos experimentos, fue que a temperaturas mayores de 47°C los insectos, independientemente del tamaño de la fuente y de la distancia a la que ésta se encontrara, no respondían a la estimulación; a lo sumo realizaban movimientos antenales. De esto se infirió que las vinchucas pueden estimar la temperatura de la fuente térmica. También se demostró que cuanto mayor es el período de ayuno, mayor es la respuesta a la estimulación térmica, medida como actividad locomotora.

Sobre esta base, se estudió la capacidad de las vinchucas de reconocer una fuente a la temperatura de un hospedador potencial de otras fuentes térmicas desde cierta distancia sólo a través del calor emitido. Los insectos privados de la entrada visual eran enfrentados a dos fuentes térmicas en forma simultánea. Las fuentes se encontraban en combinaciones de a dos, a 32°, 18° y 50°C. Las vinchucas mostraron una preferencia por la fuente a 32°C y evitaron la fuente a 50°C a pesar de que ésta última emitía un mayor flujo de energía y se encontraba a cierta distancia del insecto.

Nuevamente, ningún insecto desplegó la proboscis ni presentó la actitud de picar (Lazzari y Núñez 1989) lo que sugiere la capacidad de evaluar la posición relativa de la fuente de estímulo (distancia). De esta manera se concluyó que los insectos pueden determinar la temperatura de una fuente térmica a distancia y sólo a partir del calor emanado por ella.

Los experimentos mencionados no dejaron dudas de la capacidad de *T. infestans* de percibir el calor del ambiente con una alta sensibilidad sintonizada a las temperaturas de sus hospedadores potenciales. Sin embargo, los resultados obtenidos previamente no proporcionaban información acerca de cuál era el mecanismo por el cual el calor era transferido desde el ambiente hasta los receptores sensoriales. Las vinchucas podrían estar usando cualquiera de los tres mecanismos de intercambio de energía conocidos: la conducción a través de gradientes de aire caliente, las corrientes de convección originadas por el movimiento del aire o el flujo de radiación electromagnética (ver *Anexo I. Algunos conceptos sobre la física del calor*). Hasta el momento, se aceptaba que los gradientes de aire caliente eran la clave más importante responsable y no se había encontrado evidencia de la capacidad de percibir estímulos infrarrojos (Wigglesworth y Gillet 1934a, Peterson y Brown 1951, Friend y Smith 1977, Galun 1977, Núñez 1987). Por otra parte, las corrientes de convección parecían limitadas al transporte de olores (Khan et al. 1968, Hocking 1971).

Entonces, se puso a prueba la hipótesis de que *T. infestans* es capaz de percibir la radiación IR. Las vinchucas fueron enfrentadas una fuente térmica a 30°C y se evitó la formación de gradientes de aire caliente y de corrientes de convección por medio de filtros hechos de distintos materiales. Inesperadamente, los insectos reaccionaron al estímulo térmico incluso cuando consistía sólo en la radiación IR emitida por la fuente (Lazzari y Núñez 1989a). Así se concluyó que *T. infestans* es capaz de recibir el calor radiante de una fuente de calor.

Ésta constituyó la tercera demostración en animales, la segunda en insectos y la primera en hematófagos de la capacidad de percibir la radiación IR. Previamente, esta capacidad era conocida en serpientes y en el coleóptero *Melanophila acuminata*. Trabajos

recientes han brindado apoyo adicional a esos resultados, al demostrar la misma habilidad en otra especie de vinchuca, *R. prolixus* (Schmitz et al. 2000).

TRES. Las antenas de *Triatoma infestans*

Introducción

La idea de que las antenas juegan un papel importante en la búsqueda de alimento en los insectos hematófagos se remonta a los trabajos clásicos de orientación hacia un hospedador realizados en *Rhodnius prolixus* por Wigglesworth y Gillet en 1934. Como mencionamos previamente, varios estudios llevados a cabo en insectos reducidos apoyan esta idea (ver *Dos: Algunos aspectos del comportamiento de los insectos triatominos: la clave térmica*).

En primer lugar, se observó que *R. prolixus* despliega vigorosos movimientos antenales en presencia de un ratón, los que se repiten frente a fuentes artificiales de calor y de olor. Cuando camina, este insecto también mueve las antenas y lo hace en forma continua, con un patrón característico (Wigglesworth y Gillet 1934a). *Triatoma infestans* presenta movimientos similares frente a fuentes térmicas que están a la misma temperatura de un animal endotermo, los cuales forman parte de la respuesta normal al calor descrita para esta especie. Además, exhiben el umbral de sensibilidad más bajo de la secuencia comportamental de orientación térmica (Lazzari 1990).

En segundo lugar, se comprobó que la amputación de ambas antenas en *R. prolixus* reduce marcadamente la respuesta a la estimulación –tanto química como térmica– mientras que la falta de uno de estos órganos bilaterales afecta la capacidad de orientación de los insectos mediada por esos estímulos (Wigglesworth y Gillet 1934a). Esto motivó un análisis detallado de la función de las antenas durante la aproximación a una fuente de calor en *T. infestans* (ver *SEIS. El papel de las antenas en la orientación térmica*).

Por último, el análisis morfológico de las antenas de *R. prolixus* (Wigglesworth y Gillet 1934a) y de *T. infestans* (Lazzari 1983) indica que la mayor concentración de receptores sensoriales ocurre en estos órganos bilaterales. El estudio de los receptores antenales en estas dos especies reveló que algunos de ellos poseen capacidad termorreceptora (Bernard 1974, McIver y Siemicki 1985).

Todos estos datos sugieren una participación activa de las antenas en la evaluación de variables del ambiente relacionadas con la presencia de una fuente potencial de alimento. Los resultados obtenidos en los estudios morfológicos y comportamentales realizados en *T. infestans* y otros redúvidos hematófagos motivaron el análisis funcional de los movimientos antenales que realizamos en esta Tesis.

Para comenzar, en este capítulo presentamos una breve descripción de la morfología externa de las antenas de *T. infestans* y de la estructura y función de los receptores sensoriales descritos hasta el momento en esta y otras especies relacionadas.

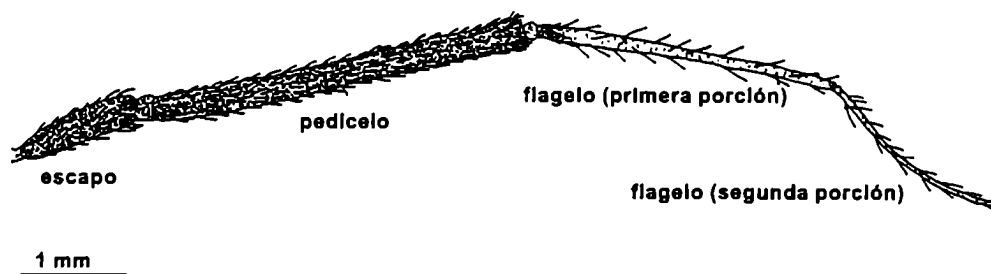
Morfología de las antenas de *T. infestans*

Las antenas de los insectos son órganos que suelen concentrar una gran cantidad de receptores sensoriales de diversa modalidad (e.g., quimio-, mecano-, higo- y termorreceptores), que se encuentran en número y proporción variable en las distintas especies. La morfología de las antenas también es variable. Tanto la forma y dimensiones de las antenas como la abundancia relativa de los receptores que se encuentran en ella guardan relación con las modalidades sensoriales más relevantes para la vida del insecto. Por ejemplo, en insectos con órganos visuales altamente desarrollados (e.g., odonatos, moscas), las antenas suelen ser pequeñas y tienen pocas sensilias. En contraste, en insectos en los que las claves químicas son muy relevantes (e.g. machos de algunas mariposas, cucarachas) las antenas muestran un desarrollo relativo mayor.

En los triatominos, como en todos los insectos, las antenas son órganos bilaterales. Cada antena de *T. infestans* tiene un largo de alrededor de 7 mm y en ella pueden reconocerse cuatro artejos: un escapo, un pedicelo y un flagelo dividido en dos porciones.

El escapo es corto en comparación con el pedicelo y el flagelo, y tiene la forma de un cilindro cónico. El pedicelo es el más largo de los artejos antenales, también es cilíndrico y es el que presenta mayor cantidad de receptores sensoriales. El flagelo está compuesto por dos artejos –uno proximal y otro distal– y se diferencia de los artejos basales por poseer una cutícula más delgada y flexible y una coloración usualmente más clara que los otros segmentos (**Figura Tres–1**).

Figura Tres-1. Esquema de una antena de *Triatoma infestans* correspondiente a un insecto adulto en la que se puede observar el escapo, el pedicelo y el flagelo. (Tomado de Lazzari 1983).



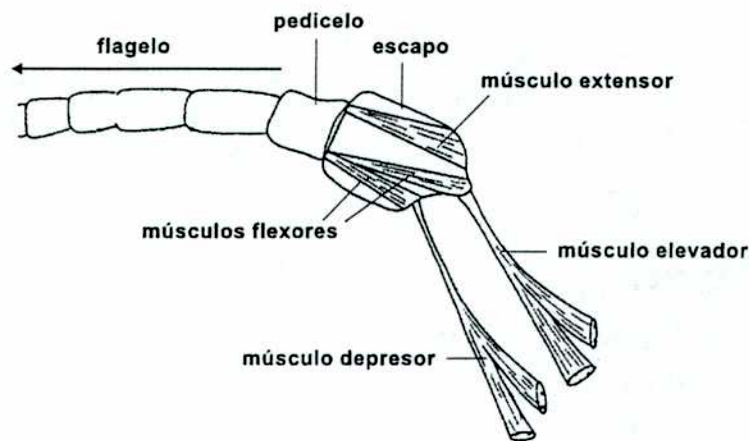
El escapo y el pedicelo frecuentemente presentan grupos de receptores en o cerca de sus nódulos de articulación. Estos receptores proveen información sobre la posición de los segmentos basales con respecto a la cabeza y de unos respecto a los otros.

También hay receptores sensoriales internos –de tipo escolopidial o cordotonal– como el órgano de Johnston, que está localizado en el interior del pedicelo y responde a movimientos del flagelo con respecto al pedicelo. Describiremos este órgano en detalle más adelante en este capítulo (ver *Los receptores sensoriales*).

Las antenas se insertan a través del escapo en una zona membranosa y cada una pivotea en un lóbulo lateral, el tubérculo antenífero. En consecuencia, estos órganos pueden desplazarse en todas direcciones. Sus movimientos son controlados por músculos elevadores y depresores que surgen de los brazos del tentorio y se insertan en el escapo, y por músculos flexores y extensores que surgen del escapo y se insertan en el pedicelo (**Figura Tres-2**). El flagelo carece de músculos (Snodgrass 1935).

En las vinchucas, las antenas son recorridas por un nervio antenal que se divide en dos ramas poco antes de ingresar a la cavidad de cada antena (Barth 1952).

Figura Tres-2. Esquema de la porción proximal de una antena anular típica de insectos en la que se puede observar la inserción de los diferentes músculos. El escapo, en donde se insertan los músculos elevador y depresor, no se muestra en la figura. (Tomado de Chapman 1998).



Los receptores sensoriales en insectos

Los animales adquieren información valiosa del medio que los rodea a través de receptores sensoriales, también llamados sensilias. Como ya mencionamos, en los insectos estos receptores están concentrados en las antenas y muchos de ellos comparten características morfológicas y funcionales.

Los diferentes tipos de sensilias –mecano, químico e higró-termorreceptoras– se caracterizan por poseer una estructura cuticular con una o más neuronas asociadas a su base, rodeadas por un grupo de células de soporte (i.e., célula tricógena, tormógena y tecógena). Estas células dan origen a las diversas partes que componen las sensilias. Las neuronas orientan sus dendritas hacia la base o el interior de la superficie cuticular mientras que sus axones se dirigen hacia nervios que los conducen a zonas superiores del sistema nervioso central donde es procesada la información sensorial que ingresa a las sensilias.

Quimiorreceptores

Si aceptamos la idea de que la principal función de las antenas está dada por la cantidad relativa de los distintos tipos de sensilias, se puede afirmar que ésta es mayormente quimiorreceptora.

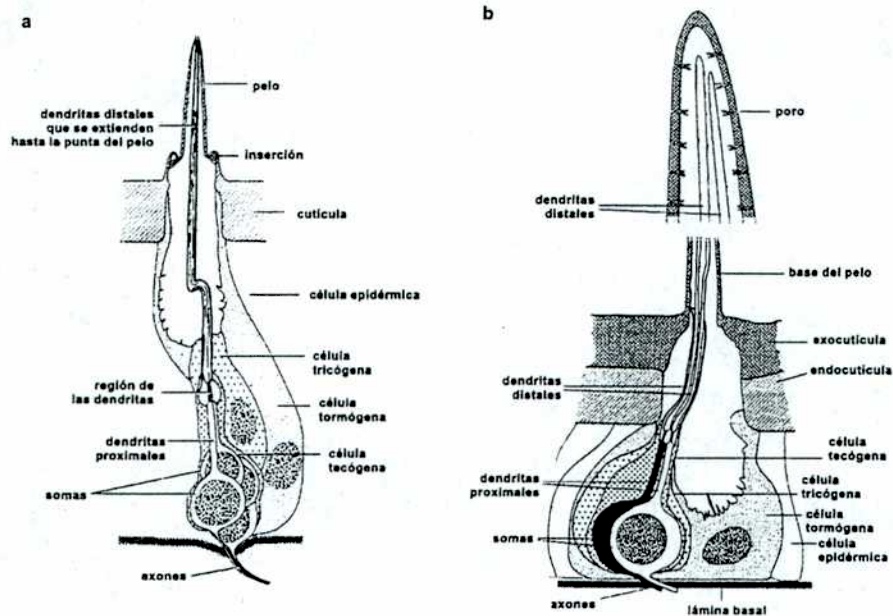
Las sensilias quimiorreceptoras son el tipo más abundante y se presentan en formas variadas. Pueden ser largos pelos (sensilias tricoideas), proyecciones en forma de pequeños domos (sensilias basicónicas), placas que apenas sobresalen de la cutícula (sensilias placoides) o domos hundidos en una depresión (sensilias celocónicas).

Indefectiblemente, en la cutícula de estas estructuras se encuentran poros que permiten la entrada de sustancias químicas. Estas sustancias se combinan con proteínas que las transportan hasta la superficie de las dendritas donde se inicia la transducción de los estímulos químicos en potenciales eléctricos. Los potenciales son finalmente conducidos hasta el sitio donde es procesada la información (Chapman 1998).

La recepción de sustancias químicas involucra los sentidos del gusto y del olfato. En insectos, los otrora llamados “quimiorreceptores de gusto” están distribuidos en varias partes del cuerpo y frecuentemente no están relacionados con la alimentación. Estos receptores detectan tanto sustancias en solución como en estado sólido. Por esa razón, se adoptó para ellos la denominación de “quimiorreceptores de contacto”. Los receptores olfativos, por otra parte, detectan sustancias en estado gaseoso.

Las sensilias involucradas en los dos tipos de quimiorrecepción son diferentes. Las olfativas poseen poros numerosos y pequeños (**Figura Tres-3a**) y se las denomina, por lo tanto, *multiporosas*. Las sensilias de contacto, en contraste, son generalmente pelos de pared gruesa, cortos o largos, caracterizados por la presencia de un único poro en o cerca de la punta. En consecuencia, se las llama *uniporosas* (**Figura Tres-3b**). Como vemos, caracteres morfológicos sencillos pueden revelar información importante relativa a la funcionalidad de una dada sensilia.

Figura Tres-3. Esquema de una sensilia quimiorreceptora de contacto (a) y olfativa (b). (Tomado de Chapman 1998).

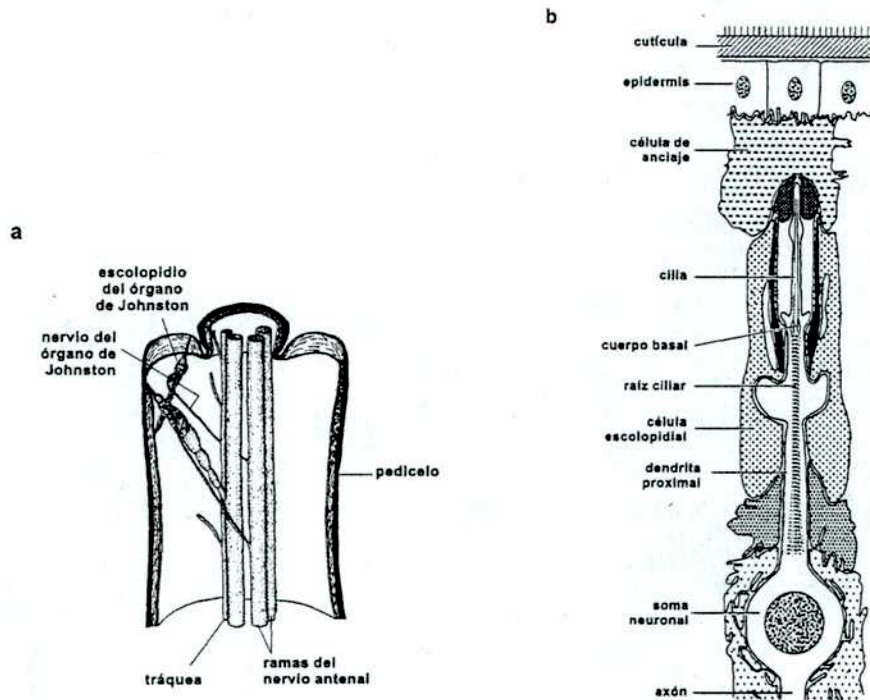


En ciertas condiciones, ambos tipos de sensilias pueden reaccionar en forma cruzada y detectar sustancias en los distintos estados mencionados si las concentraciones de esas sustancias son suficientemente altas. Por esta razón, la verdadera distinción entre quimiorrecepción de contacto y olfativa se basa, principalmente, en el procesamiento posterior que ocurre en el sistema nervioso central. Los axones de los quimiorreceptores olfativos terminan en los lóbulos antenales del cerebro, mientras que los axones de los quimiorreceptores de contacto lo hacen en el ganglio del mismo segmento del cuerpo en donde se encuentra el quimiorreceptor (Chapman 1998).

Mecanorreceptores

Las antenas también cumplen una función mecanorreceptiva que es llevada a cabo por estructuras cuticulares diseminadas en la superficie o por estructuras subcuticulares que no son visibles desde el exterior. Las sensilias de localización superficial se presentan en distintas formas. Algunas son similares a un pelo (sensilias tricoideas) mientras que

Figura Tres-5. Esquema de un corte de la vista interna del órgano de Johnston en la región distal del pedicelo (a) y de un escolopidio (b). (Tomado de Barth 1953 y de Chapman 1998, respectivamente).



Los mecanorreceptores responden a cualquier distorsión mecánica del cuerpo. Algunos son sensibles a estímulos internos (función *propioceptiva*) y otros a estímulos externos (función *exteroceptiva*) de diversas modalidades. Los exteroceptores reaccionan ante el contacto con objetos del ambiente, aunque también son sensibles a estímulos mecánicos en forma de sonidos, vibraciones y movimiento de partículas transmitidos a través de distintos medios (aire, agua o sustrato). Los propioceptores, por otra parte, proveen información sobre el estado de los órganos, músculos y articulaciones del cuerpo a través de estímulos que se presentan en forma de tensión, presión, distorsión y aceleración lineal y angular (Iwasaki 1999).

La posición –interna o externa– de una sensilia no está directamente vinculada con el origen –propio o externo– del estímulo que reciben. Por ejemplo, los órganos de Johnston,

localizados en la cavidad de la antena, son sensibles a vibraciones o a corrientes de aire originadas en el entorno, es decir, son exteroceptores a pesar de tener una localización interna. Por otra parte, las articulaciones entre artejos y escleritos están rodeadas de pelos cuticulares que son estimulados por el desplazamiento de una parte del cuerpo relativa a otra y cumplen una función propioceptiva a pesar de su proyección externa.

En cualquier caso, el mecanismo de transducción involucrado es el mismo. Cuando se produce una distorsión mecánica (flexión de un pelo o presión sobre un domo), la dendrita se deforma y la energía mecánica asociada es transducida a energía eléctrica que viaja en forma de impulsos que son procesados posteriormente. En el caso del órgano de Johnston que, como mencionamos, forma un puente de articulación entre el pedicelo y otra en el flagelo, el movimiento de una de estas partes de la cutícula respecto a la otra distorsiona el escolopidio. La transducción, aparentemente, depende la actividad de canales iónicos sensibles al estiramiento.

Termo- e higrorreceptores

Si bien en menor proporción, las antenas también presentan numerosas células sensoriales que cumplen una función termo- o higrorreceptora. Algunas detectan descensos en la humedad relativa y se llaman *xerorreceptores*, mientras que otras son sensibles a aumentos en la humedad y se denominan *higrorreceptores*. Por otra parte, algunas células termorreceptoras incrementan su actividad eléctrica frente a descensos en la temperatura – por lo que se las denomina *receptores “de frío”*–, mientras que otras responden al calentamiento y toman el nombre de *receptores de calor*. También se han encontrado termorreceptores que responden a valores de temperatura dentro de un intervalo determinado y son insensibles a temperaturas mayores o menores. Estos último se pueden considerar sensores de temperaturas absolutas (Chapman 1998).

Los cambios de temperatura que detectan estos receptores incluyen los que se producen por la presencia de animales de sangre caliente en su cercanía y son los que nos interesan particularmente en este trabajo de Tesis.

En muchos insectos, la sensibilidad a cambios en la temperatura y en la humedad relativa está asociada a un único tipo de sensilia que posee dos unidades receptoras de

humedad (higro- y xerorreptora, respectivamente) y una termorreptora del tipo “receptor de frío”. Estas tres unidades se encuentran en sensilias celocónicas presentes en las antenas y otras partes del cuerpo de las vinchucas (ver más adelante, **Figura Tres–10**).

Un tipo particular de termorreceptores son los sensibles a la radiación infrarroja (IR). Un receptor de IR se diferencia de un termorreceptor clásico en que, a pesar de que ambos absorben energía en forma de calor, el receptor de IR es selectivo y absorbe energía radiante sólo en un intervalo particular del espectro electromagnético (Evans 1966a).

En el reino animal, sólo en unas pocas especies se ha demostrado fehacientemente la capacidad de percibir el calor radiante. Como mencionamos, éstas incluyen las serpientes de las familias Crotalidae y Boeidae (Bullock y Cowles 1952, Hartline 1974), el coleóptero *Melanophila acuminata* (Evans 1964) y las vinchucas *T. infestans* (Lazzari y Núñez 1989) y *R. prolixus* (Schmitz et al. 2000). En estas últimas dos especies, no se ha podido identificar aún los receptores involucrados.

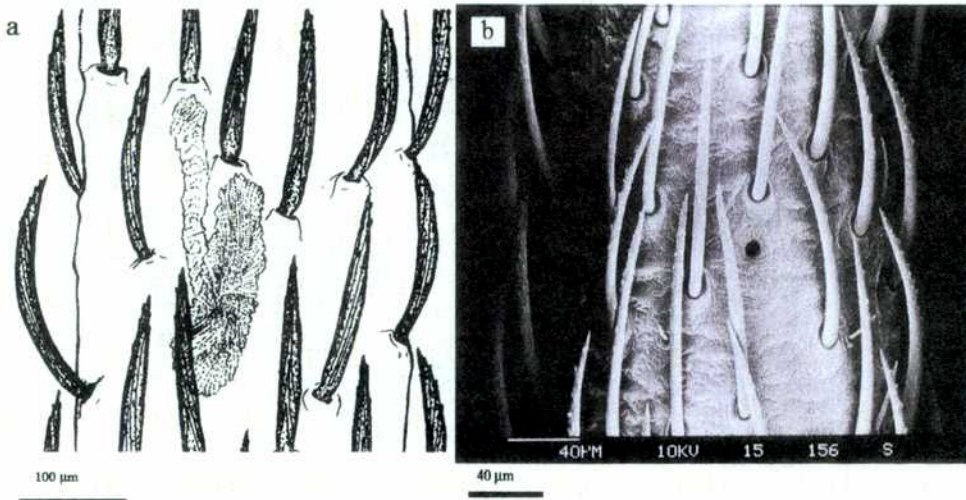
La estructura y función de los termorreceptores de las vinchucas se describe más adelante en este capítulo (ver *Los termorreceptores de insectos*).

Los receptores sensoriales en triatominos

Entre los primeros estudios de los receptores sensoriales de un insecto hematófago, se encuentran aquellos realizados en la vinchuca *R. prolixus* por Wigglesworth y Gillet (1934a). Estos autores describieron cuatro tipos de sensilias a las que les asignaron tentativas funciones mecánicas, de olfacción y de termorrecepción según criterios morfológicos y de abundancia.

Posteriormente Barth (1952) describió una estructura de función desconocida en triatominos: la *cueva de cerdas* sobre la cual especuló que podría tener una función termorreptora. Este órgano está ubicado en el tercio distal del pedicelo y presenta una cavidad con forma de saco revestida por numerosas cerdas muy delgadas que se comunica con el exterior mediante un canal (Lazzari 1983) (**Figura Tres–6**). Este órgano está presente en varios redúvidos hematófagos –entre ellos *T. infestans* y *R. prolixus*– (Catalá 1994) pero parece estar ausente en chinches con hábitos entomófagos o fitófagos (Barth 1952).

Figura Tres-6. a) Esquema de la cueva de cerdas realizado luego de clarificar el pedicelo de la antena de *T. infestans*. Sólo se muestran las sensilias quéticas presentes en la superficie externa del pedicelo. b) Fotomicrografía del orificio externo de la cueva de cerdas que comunica con el interior a través de un canal con paredes plegadas. (Tomado de Lazzari y Wicklein 1994).



La morfología de la cueva de cerdas no se corresponde con la de un quimiorreceptor ni con la de un mecanorreceptor, pero tiene algunas similitudes con los termorreceptores. Además, registros electrofisiológicos mostraron que si bien no responde a la estimulación con compuestos como el ácido láctico, ácido butírico o dióxido de carbono (Lazzari y Wicklein 1994), es sensible a la estimulación térmica. Todos estos datos apoyan una función termorreceptora para este órgano. Más aún, se ha postulado la posibilidad de que la cueva de cerdas funcione como un termorreceptor sensible a la radiación infrarroja (Lazzari y Wicklein 1994) pero esta especulación no ha sido aún apoyada experimentalmente.

El mismo autor que descubriera la cueva de cerdas también describió el órgano de Johnston (ver **Figura Tres-5a**) y un órgano novedoso encargado de controlar la inserción de los estiletes mandibulares en los tejidos del hospedador (Barth 1953).

El primer estudio electrofisiológico de los receptores sensoriales de *T. infestans* se realizó estimulando sensilias olfatorias de las antenas con aliento humano (Mayer 1968). Posteriormente Bernard (1974), en su Tesis Doctoral, realizó un vasto estudio sobre la fisiología de diversos tipos de receptores. Este autor halló respuestas a diversos estímulos,

tales como olores, humedad, calor y velocidad del aire. En su trabajo, Bernard (1974) realizó registros electrofisiológicos de varias sensilias antenales de *T. infestans* y describió la respuesta de 4 mecanorreceptores, 3 quimiorreceptores y 1 higo-termorreceptor.

Posteriormente, el análisis morfológico permitió identificar 18 tipos diferentes de sensilias en las antenas de *T. infestans* (Lazzari 1983). Los resultados, obtenidos con métodos morfológicos sencillos fueron coincidentes con aquellos obtenidos por Bernard mediante análisis electrofisiológico.

La diversidad y clasificación de los receptores sensoriales de *T. infestans* ha sido recientemente revisada por Insausti et al. (1999). En la actualidad se agrupa a las sensilias de acuerdo con su posible función en 8 tipos morfológicos de mecanorreceptores, 1 mecano-quimiorreceptor, 5 quimiorreceptores y 2 termorreceptores (**Tabla Tres-I**).

Tabla Tres-I. Estructuras sensoriales localizadas en las antenas de *Triatoma infestans*. (Tomado de Insausti et al. 1999).

Tipo	Morfología	Localización	Modalidad	Tamaño (μm)
I	Sensilia quética/ pared gruesa	Esc.-Ped	Mecano.	70-170
II	Sensilia quética/ pared gruesa	Flag.	Mecano.	290-340
III	Sensilia quética/ pared gruesa	Esc.-Ped.-Flag.	Mecano.	21-46
IV	Sensilia quética/ pared gruesa	Memb. articular	Mecano.	25-37
V	Tricobotria	Ped.	Mecano.	230-275
VI	Sensilia campaniforme	Esc.-Ped.	Mecano.	6-8
VII	Sensilia quética pared gruesa	Flag. (2°)	Mecano.- Quimio.	30-125
VIII	Sensilia tricoidea/ pared fina	Ped.-Flag.	Quimio.	54-64
IX	Sensilia tricoide/ pared gruesa	Flag.	Quimio.	65-107
X	Sensilia basicónica/ pared gruesa	Flag.	Quimio.	16-17
XI	Sensilia basicónica/ pared fina	Ped.	Quimio.	10-15
XII	Sensilia celocónica radiada	Esc.-Pedic.	Quimio.	2.5-3.0
XIII	Sensilia celocónica	Esc.-Ped.-Flag.	Termo-Higro	5.0-5.5
XIV	Cueva de cerdas	Ped.	Posible Termo	200-230 (interna)
XV	Órgano de Johnston	Ped.	Mecano.	(interna)
XVI	Órgano controlador mandíbulas	Ped.	Mecano.	(interna)

Referencias

Esc.: Escapo

Flag.: Flagelo

Memb.: Membrana

Ped.: Pedicelo

Quimio.: Quimiorreptora

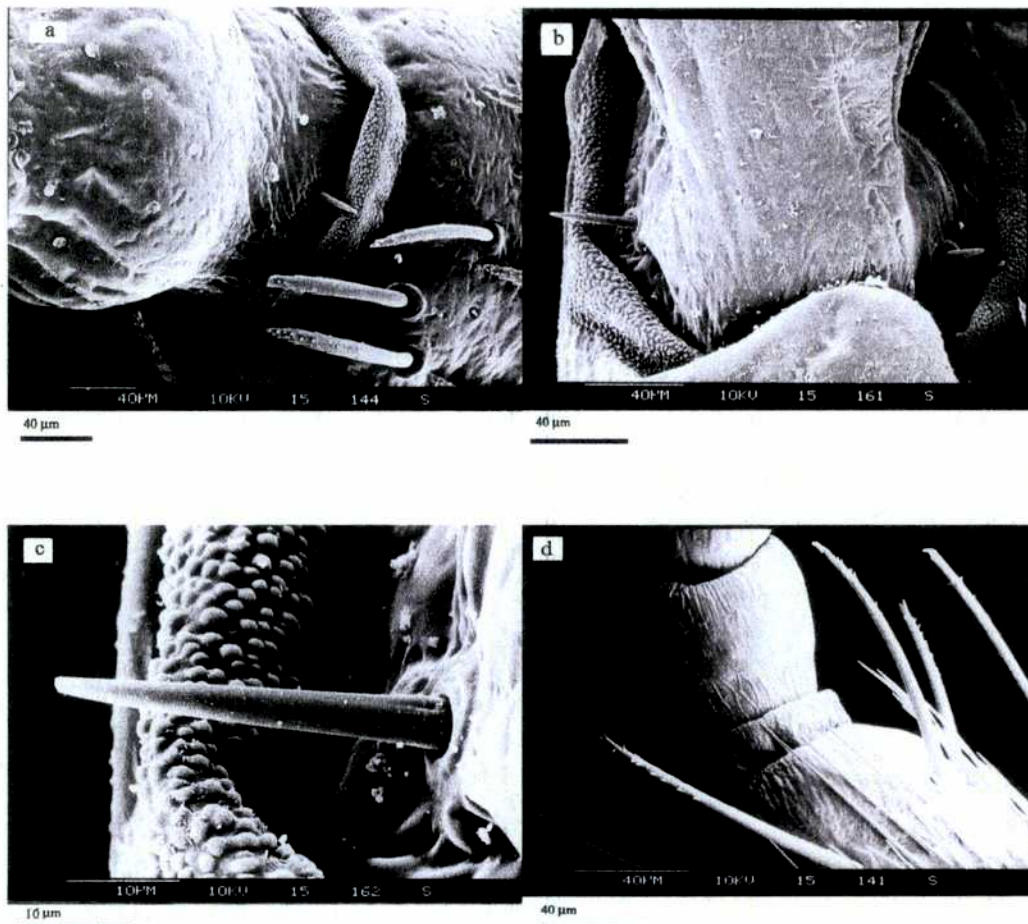
Mecano.: Mecanorreptora

Termo.: Termorreptora

Higro.: Higorreceptor

En *T. infestans*, las sensilias más abundantes en el estado adulto son quimiorreceptores de tipo VIII y IX y mecanorreceptores de tipo I. Como mencionamos anteriormente, se encontraron varios mecanorreceptores con función propioceptiva en las articulaciones de los artejos antenales. En la articulación entre el tubérculo antenífero y el escapo fueron descritos tres pelos cortos, algunas sensilias de tipo IV y algunos poros (**Figura Tres-7**). Como veremos más adelante, estos propioceptores son de particular interés para este trabajo de Tesis.

Figura Tres-7. Fotomicrografía de sensilias ubicadas en las articulaciones entre diferentes artejos. a) y b) Articulación entre el escapo y el pedicelo. A la izquierda en b) se puede ver una sensilia mecanorreceptoras de tipo IV. c) Detalle de la sensilia de tipo IV. d) Articulación ente los dos artejos del flagelo. (Tomado de Insausti et al. 1999).



Entre el escapo y el pedicelo se encontraron, además, tres pelos cónicos, dos del lado interno y otro del lado externo, en la base del nódulo (ver **Figura Tres-7b**). Entre el pedicelo y el flagelo se describió un único pelo. Por otra parte, en la articulación entre el primer y segundo segmento del flagelo se describieron dos de tales pelos (**Figura Tres-7d**).

En cuanto a la termorrecepción, se ha descrito un tipo de sensilia que podría cumplir esta función. Se trata de una sensilia celocónica, denominada de tipo XIII, cuya función termorreceptora ha sido apoyada por evidencias morfológicas (McIver y Siemicky 1985) y electrofisiológicas (Bernard 1974). Su estructura será descrita en la siguiente sección dedicada a los termorreceptores.

Los termorreceptores

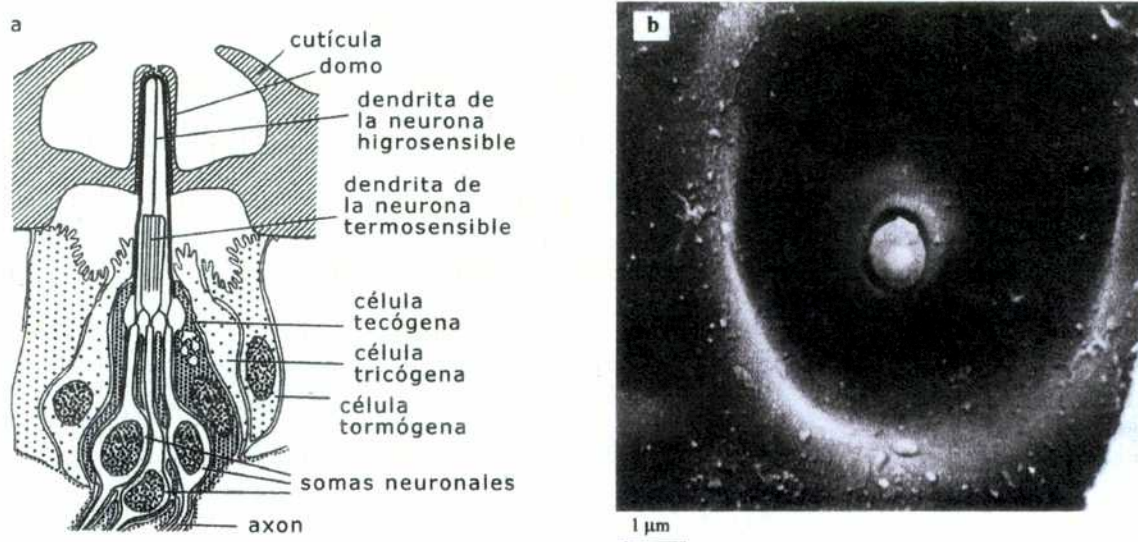
Los primeros estudios sobre higo- y termorrecepción en artrópodos comenzaron por demostrar que varias especies son capaces de orientarse en un gradiente de humedad (Shelford 1913) y responder a gradientes de temperatura y de humedad en el aire (Wigglesworth 1941). Trabajos posteriores intentaron identificar estos receptores y señalaron a las antenas como el principal sitio donde están ubicados los órganos encargados de la termo- e higrorrecepción.

El primer registro electrofisiológico exitoso en este tipo de sensilias fue realizado en las antenas de abejas (Lacher 1964, citado por Yokohari 1999), en un receptor de humedad y uno “de frío” presentes en una misma sensilia celocónica. Trabajos posteriores describieron dos tipos de higrorreceptores en cucarachas, uno que responde al aumento y otro al descenso de la humedad relativa (Winston y Green 1967, citado por Yokohari 1999). Más tarde, se registraron impulsos eléctricos de una misma sensilia celocónica en la antena de una langosta junto con impulsos provenientes de un receptor “de frío”. Este trabajo fue el primero en demostrar que una unidad higo-, una xero- y una receptora “de frío” podían estar alojadas en una misma sensilia (Waldow 1970, citado por Yokohari 1999). De ahí en más, estas tríadas fueron descritas en varias especies de insectos.

En *T. infestans*, la tríada fue descrita en las mandíbulas (Pinet 1969, Bernard 1970, Pinet y Bernard 1972 tomados de Yokohari), en sensilias celocónicas ubicadas en las antenas y en otros sitios del cuerpo. Estas sensilias, en la actualidad denominadas de tipo

XIII, presentan una estructura externa hundida en una cavidad de la cutícula que forma la pared del cuerpo (**Figura Tres-8**).

Figura Tres-8. a) Esquema de un corte longitudinal de una sensilia celocónica que muestra la estructura de un termo-higroreceptor. b) Fotomicrografía de una sensilia celocónica de tipo XIII presente en las antenas de *T. infestans*. (Tomado de Chapman 1998 y de Lazzari 1983, respectivamente).



Por su morfología no se puede asignar una función qumio- o mecanorreceptora a las sensilias de tipo XIII. La impermeabilidad a colorantes y los resultados de pruebas preliminares de orientación hacia el calor en insectos con mutilaciones antenales parciales (Lazzari 1983) apoyaron una posible función termorreceptora que fue confirmada por registros electrofisiológicos (Bernard 1974). El análisis ultraestructural de estas sensilias celocónicas en *R. prolixus* reveló la presencia de tres unidades probablemente higo-, xero- y “de frío”, respectivamente (McIver y Siemicky 1985).

Investigaciones posteriores en otras especies de insectos describieron un receptor de frío morfológicamente diferente al presente en la tríada (Loftus 1976 y 1978, Altner et al. 1977, Schaller 1982, Nishikawa et al. 1992) y en varias especies se encontraron tanto receptores de frío como de calor (Davis y Sokolove 1975, Loftus y Corbière-Tichané 1981). También se han hallado termorreceptores asociados a sensilias olfatorias

multiporosas en *Periplaneta americana* (Chapman 1989). Posteriormente, se describió una nueva tríada formada por un higrorreceptor, un xerorreceptor y un termorreceptor –sensible al aumento de la temperatura– en una especie de araña (Ehn y Tichy 1994).

Los termorreceptores asociados a receptores de humedad en las tríadas se encuentran en sensilias celocónicas, en general en una relación de dos receptores de humedad por cada termorreceptor. Estas sensilias se proyectan desde la superficie cuticular y tienen forma de pelo corto o de domo en una depresión. No tienen poros y su inserción no es móvil. Pueden proyectarse sobre la superficie o encontrarse dentro de una cavidad. En general, las sensilias expuestas se encuentran asociadas con mecanorreceptores que forman una especie de “sombrija protectora” que impide que entren en contacto con objetos externos (Yokohari 1999).

Dentro de las sensilias, los receptores de humedad presentan dendritas que ingresan dentro del cuerpo de la sensilia mientras que las dendritas de la célula termorreceptora terminan debajo de la base de la sensilia (ver **Figura Tres-8a**). Los termorreceptores se caracterizan por presentar extensas ramificaciones en los segmentos externos de sus dendritas, que aumentan el área para sitios receptivos, y lamelas que no entran en el cono distal. Las membranas de estas lamelas tienen estructuras que son exclusivas de los termorreceptores, pequeños cuerpos con forma de nódulo que en preparaciones de criofractura se ven en un arreglo ortogonal. Estas estructuras están presentes en todos los termorreceptores de insectos, lo que sugiere que podrían jugar un papel en la transducción de estímulo térmicos.

Los estudios ultraestructurales realizados recientemente, junto con análisis electrofisiológicos permitieron comenzar a especular acerca del funcionamiento de los termorreceptores. El mecanismo más aceptado en la actualidad para la termorrecepción clásica postula que el calor induce cambios de fase en los lípidos de membrana de las dendritas pertenecientes a las neuronas sensoriales. Este cambio de fase dispararía la apertura de ciertos canales de membrana, lo que a su vez induciría corrientes iónicas a nivel del receptor. Se ha propuesto que las estructuras en forma de nódulo observadas en los cortes por criofractura serían los canales de corrientes de receptor. En este modelo, los

lípidos actuarían como un “termómetro” (Steinbrecht 1989). Si bien el modelo propuesto presenta algunos problemas –por ejemplo, no explica el proceso de control de los canales por el cambio de fase de los lípidos– es una de las hipótesis más aceptadas en la actualidad (Yokohari 1999).

Como ya mencionamos, algunos animales son capaces de recibir el calor radiante. La idea de que los insectos poseen receptores de IR ha sido propuesta hace tiempo por varios autores (Callahan 1965 a y b, Hsiao y Susskind 1970, Hsiao 1972). Mediante el análisis de las propiedades dieléctricas de la cutícula y de las sensilias antenales, los autores mencionados demostraron que los insectos poseen estructuras físicamente capacitadas para la recepción IR y en varias especies se ha comprobado la preferencia por lugares irradiados con IR proveniente del sol (Vielmetter 1956 y 1958, Magnum y Callahan 1968, Gogala 1978, Remmert 1985).

Sin embargo, sólo en pocas especies de insectos como las del género *Melanophila* se ha podido demostrar fehacientemente la capacidad de recepción IR además de brindar una con una descripción detallada de los órganos receptores. Los termorreceptores de *M. acuminata* están ubicados en el tórax (Evans 1964, 1966 a y b). Los estudios morfológicos del receptor con microscopio óptico (Evans 1966b, 1975) y electrónico (Vondrian et al. 1995) han descrito en detalle las sensilias involucradas y también se ha caracterizado su respuesta electrofisiológica (Schmitz et al. 1997).

El receptor de IR de *M. acuminata* consiste en un grupo de 50-100 sensilias con forma de domo situadas en una cavidad cerca en las coxas mesotorácicas (Evans 1966b). Cada sensilia está asociada a una glándula multiporosa que produce finos filamentos de cera en forma continua. En consecuencia, la cavidad aparece cubierta por una red tridimensional de fibras de cera (Evans 1975).

Al microscopio electrónico se observa que cada sensilia tiene una estructura cuticular con forma de esférula y aspecto de lente que se proyecta sobre la superficie y está cubierta por una fina capa de cutícula. La esférula se encuentra inervada por una única neurona sensorial anclada a ella. La inserción de la dendrita es excéntrica, como en los mecanorreceptores y no se encontraron evidencias de que tenga una función óptica como

sugiere su apariencia. Este receptor comparte otras características con los mecanorreceptores por lo que los autores postularon que las termosensilias podrían haber derivado de sensilias mecanorreceptoras (Vondrian 1995).

A partir del estudio de la transmisión de radiación IR a través de los componentes cuticulares del órgano, los autores postulan un mecanismo de acción para este receptor en el cual el termorreceptor trabajaría como un mecanorreceptor. Esta idea es apoyada por el hecho de que el estímulo al que responde el termorreceptor es una deformación del extremo de la dendrita aparentemente causada por una expansión de la cutícula debida a la absorción de radiación térmica. Esa compresión sería transducida en energía eléctrica, tal como ocurre en un mecanorreceptor (Vondrian et al. 1995). Debido a la falta de esclerotización de la cutícula, este órgano es transparente a la radiación en el espectro visible pero tiene una máxima absorbancia en las longitudes de onda a las que el receptor es más sensible. Es interesante que esta porción del espectro, para la que el insecto presenta la máxima sensibilidad, coincide con las longitudes de onda que caracterizan la emisión de los incendios forestales, hacia los que el coleóptero es atraído (alrededor de 3 μ).

El mecanismo de acción postulado para los receptores de *M. acuminata* es diferente al descrito para los termorreceptores de IR de las serpientes. En estos últimos, la radiación calienta una membrana ricamente innervada por terminaciones dendríticas del nervio trigémino y, así, actúa como un verdadero termorreceptor (Bullock y Fox 1957).

Como ya mencionamos, la capacidad de recepción de la radiación IR también ha sido demostrada en *T. infestans* (Lazzari y Núñez 1989) y en *R. prolixus* (Schmitz et al. 2000). Ambos insectos muestran respuestas de comportamiento características de la búsqueda de alimento cuando son enfrentados a una fuente de calor. Esta respuesta a la estimulación térmica se mantiene intacta aun cuando filtros transparentes a la radiación IR son interpuestos entre el insecto y la fuente, impidiendo la formación de gradientes térmicos a través del aire y de corrientes de convección. Si en cambio, se utilizan filtros opacos al calor radiante, la respuesta es abolida.

Sobre la base de esta sensibilidad a la radiación IR en las vinchucas, en experimentos preliminares a este trabajo de Tesis se estudió la capacidad de absorción de radiación IR

por parte de la cutícula de las antenas, ya que éste sería un requisito para la recepción de IR por parte de los termorreceptores. El análisis reveló que el material del que están formadas las antenas presenta una absorbancia de alrededor del 30% en una zona del espectro que coincide con la ventana atmosférica al infrarrojo: entre 3 y 5 μ y entre 8 y 12 μ . Si bien el poder de absorbancia del material cuticular no fue muy significativo –probablemente debido a la poca cantidad de muestra– resulta interesante que la absorción se produjo en una zona del espectro que coincide con el intervalo de emisión de la piel de mamíferos y aves que se encuentra entre 4 y 20 μ (Hardy 1934).

CUATRO. El enfoque experimental y las manipulaciones

La larga historia evolutiva que relaciona a todas las formas de vida –actuales y extintas– es una historia de resolución de “problemas” que se presentan en forma de presiones selectivas. A lo largo de los 3.800 millones de años de vida sobre la Tierra, los organismos que respondieron a las presiones del ambiente evolucionaron y dieron lugar a la enorme diversidad actual. Esta historia compartida dejó un sello en todos y cada uno de los seres vivos que hoy pone en evidencia la similitud de los problemas con los que se vieron enfrentados.

Dentro de ese marco evolutivo, los distintos niveles de análisis del comportamiento – sintetizados en los porqué y los cómo los animales hacen o no hacen ciertas cosas– ponen énfasis en las diferentes maneras de encarar su estudio y en los distintos contextos biológicos en los que esos comportamientos ocurren.

El estudio del comportamiento como disciplina recorrió un largo camino desde que la escuela etológica sentara las bases del estudio de los animales en su ambiente en los años 1930 y se desarrolló y diversificó hasta llegar a ser la actividad multidisciplinaria que es hoy. En la actualidad, las preguntas acerca del comportamiento se plantean desde las áreas más diversas y con los más diversos enfoques. Así, se estudian las bases genéticas y los mecanismos de desarrollo del comportamiento, los procesos sensoriales y motores que subyacen las interacciones entre organismos y entre los organismos y el medio, además de los mecanismos evolutivos que modelaron los comportamientos sociales y las estrategias individuales.

El estudio del comportamiento se vale del aporte de numerosas disciplinas que incluyen la fisiología, la anatomía, la ecología, la zoología, la genética, el desarrollo, la química, la bioquímica, la biofísica, las matemáticas y la evolución.

La fisiología sensorial

Entre las varias características que hacen a un ser “vivo” se encuentran la capacidad de intercambiar materia, energía e información con el medio ambiente. Esta capacidad cobra especial importancia en organismos que habitan ambientes variables ya que ellos

dependen de ese intercambio para mantener un estado de *homeostasis*. La información que provee el ambiente y los organismos que lo habitan permite que ciertas condiciones internas como la temperatura, la concentración de solutos y el contenido de agua se mantengan dentro de intervalos aptos para la supervivencia. Además, esta información es imprescindible para la localización de recursos.

Todo animal necesita incorporar materia en forma de alimento con una cierta frecuencia para satisfacer sus demandas nutricionales y de materias primas. La localización de la fuente de alimento, con frecuencia, requiere que un animal analice la *información* recogida por sus órganos sensoriales –como por ejemplo, la posición de una presa en el espacio–, la procese y despliegue un comportamiento que lo ponga en contacto con esa presa. Sin esa información no es posible para el animal llevar a cabo sus funciones más básicas.

El concepto de información es relativamente reciente. En 1948, Wiener (1948, citado por Dusenbery 1992) y Shannon y Weaver (1949, citado por Dusenbery 1992) desarrollaron en forma independiente una teoría cuantitativa de la información. Esta teoría surgió como un intento de resolver un problema práctico en el marco de la ingeniería de las comunicaciones: cómo transmitir mensajes sin que éstos se confundan con señales de ruido. En el intento de contestar esta pregunta surgió una definición precisa del concepto de información que la describe como la “pérdida de incertidumbre”. También se describieron los componentes involucrados en su transmisión, que son, un *emisor* del cual proviene la señal, un *receptor* que la capta y un *canal* a través del cual la información circula en forma de señal o *estímulo*. La información es transmitida a través del canal, que a su vez involucra algún agente físico que lleva el estímulo junto con todas las características del ambiente que afectan la transmisión.

Los conceptos descritos en la Teoría de la Información fueron tomados por la biología y aplicados a las interacciones informacionales que ocurren entre los organismos o entre un organismo y el medio que lo rodea. Si bien la información es un concepto abstracto y no puede observarse de manera directa, un experimentador externo puede alterar la fuente de estímulo y analizar el cambio en el comportamiento del receptor que

ocurre como consecuencia de la manipulación experimental. Este enfoque permite inferir que hubo transmisión de información.

El estudio de la adquisición de información por medio de órganos especializados y su procesamiento posterior por parte del sistema nervioso constituyen el campo de estudio de la *Fisiología Sensorial*. Dentro de ese marco, la *Fisiología del Comportamiento* analiza las respuestas comportamentales que derivan de la estimulación. En la actualidad, se intenta comprender cómo los organismos codifican, adquieren y procesan la información del ambiente a nivel molecular, celular, de sistemas y comportamental.

La escuela de la fisiología del comportamiento, fundada por Erich von Holst en la década de 1950, fue uno de los primeros intentos de analizar las relaciones funcionales que existen entre los elementos que constituyen a los sistemas vivos. El organismo en estudio se consideraba como un sistema de cajas negras –así llamados los elementos desconocidos– cuya función y conexiones podían deducirse del análisis de las relaciones entre las entradas sensoriales y las salidas comportamentales. La fisiología del comportamiento pone énfasis en minimizar las manipulaciones del animal en estudio de manera que responda con su comportamiento a las preguntas del experimentador como si no estuviera siendo parte de un experimento. Los experimentos se llevan a cabo bajo condiciones controladas y se analizan en forma cuantitativa por medio de dispositivos y métodos de estimulación y de registro. Éstos se construyen de manera que sean adecuados al animal y al problema en estudio. En la actualidad, la información obtenida por estos medios se complementa con estudios fisiológicos, morfológicos a nivel celular o molecular y con las técnicas que sean necesarias para construir un cuadro completo de las capacidades sensoriales del animal.

Los experimentos realizados para este trabajo de Tesis fueron diseñados en el marco de la Fisiología del Comportamiento.

Las manipulaciones experimentales llevadas a cabo en esta Tesis

Los dispositivos usados en este trabajo de Tesis fueron construidos según los requerimientos de cada experimento. De la misma manera, las manipulaciones y la preparación de los animales se adaptaron a cada situación particular. Estos dispositivos y

procedimientos se describen en cada capítulo, en la sección *Materiales y Métodos*. Sin embargo, como en muchos casos se utilizaron las mismas arenas experimentales y se repitieron los métodos, se decidió presentar las manipulaciones y los materiales comunes a todos o varios de los experimentos en esta sección.

Los animales y su preparación

En todos los experimentos se utilizaron larvas del cuarto o quinto estadio de *T. infestans*, criadas en el laboratorio. Los insectos fueron mantenidos en frascos de acrílico cuya base y tapa eran de tul o malla de tela. De esta manera, se permitió la libre circulación del aire. Dentro de los frascos se colocó un trozo de papel de filtro plegado, el que demostró ser un sustrato adecuado para los insectos. Los frascos se mantenían en el interior de una cámara con temperatura (29°C), humedad relativa (50-70%) y ciclo de iluminación (12hs:12hs) controlados por dispositivos electrónicos.

Las vinchucas fueron alimentadas por medio de un alimentador artificial (Núñez y Lazzari 1990) con sangre de ovinos o bovinos heparinizada (1 UI de heparina/ml de sangre). El nivel de ayuno de los insectos en el momento de realizar los experimentos fue un punto importante a considerar, ya que es una variable que condiciona fuertemente las respuestas comportamentales. En condiciones de pocos días de ayuno, se espera que los animales no respondan a la estimulación térmica, ya que ésta representa una fuente potencial de alimento. Por otra parte, en condiciones de un período excesivo de ayuno puede ocurrir un deterioro del estado fisiológico de los animales, aparecer una gran variabilidad en las respuestas o, en casos extremos, que éstas no se manifiesten.

Trabajos realizados en nuestro Laboratorio (Goldberg com. pers.) indican que a partir del quinto día de ayuno, luego de la ecdisis entre el cuarto y quinto estadio, la probabilidad de alimentarse espontáneamente en el alimentador artificial es cercana al 100%. Considerando este hecho y la disponibilidad de animales, se trabajó con períodos de ayuno de alrededor de 30 días postecdisis, para asegurar una buena disposición de los insectos a responder y evitar los efectos deletéreos de un ayuno muy prolongado.

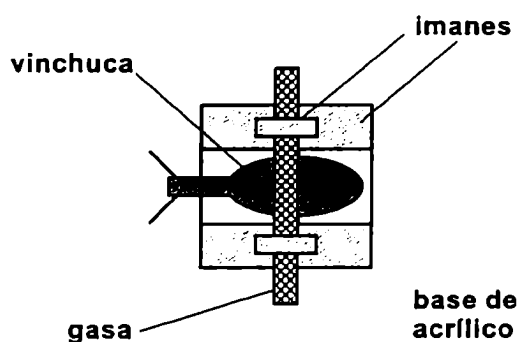
La preparación de los animales experimentales (e.g., cobertura de los ojos, corte de antenas, fijación con cera de un elemento de sujeción, etc.) siempre finalizó por lo menos 24 horas antes de los ensayos.

Privación de la entrada de información visual

En la mayor parte de los experimentos los insectos fueron privados de la entrada de información visual. Sólo en los ensayos de preferencia térmica bajo un régimen de luz-oscuridad en los que se utilizó una iluminación especial para la filmación (ver: *La adquisición y el procesamiento de los datos*) se dejaron los ojos descubiertos. En todos los demás casos, los ojos compuestos de las larvas se cubrían con una capa de pintura acrílica negra.

El procedimiento se realizaba sobre el animal sujeto en un “cepo” construido *ad hoc* y con la ayuda de un microscopio estereoscópico. El cepo era en una base de acrílico de 5 x 5 cm con un imán pegado en el centro. El insecto se colocaba sobre el imán y quedaba sujeto con un trozo de gasa colocado sobre el tórax que a su vez estaba ajustado lateralmente por otros dos imanes (Figura Cuatro-1).

Figura Cuatro-1. Diagrama del dispositivo usado para manipular las vinchucas. El insecto se encontraba sujeto por un trozo de gasa ajustado por medio de un juego de imanes.



Antenectomía

Los animales que serían antenectomizados eran expuestos brevemente a un corto período de baja temperatura. Los insectos eran colocados dentro de un tubo de ensayo que,

a su vez, era introducido dentro de un frasco con agua y hielo, o en un congelador a -20°C . Según el método utilizado, permanecían en esta situación alrededor de un minuto o hasta que dejaran de moverse. Ensayos previos habían revelado que este procedimiento no altera la capacidad de detección de una fuente térmica en esta especie. Una vez inmovilizados, los insectos eran colocados en el cepo.

Una o ambas antenas de los insectos experimentales eran cortadas utilizando una tijera de microcirugía. El corte se realizaba cerca de la base de la antena, en la membrana que une el escapo con el tubérculo antenífero. Al efectuar el corte se observó, en algunos casos, que surgía una pequeña gota de hemolinfa del tubérculo antenífero. Sin embargo, se comprobó que todos los animales recuperaban su actividad normal al transcurrir unos minutos dentro del frasco y que no eran afectados en forma apreciable por la operación.

Una vez concluida la antenectomía, las vinchucas eran transferidas a un frasco como el utilizado para la cría de los insectos, donde permanecían hasta el momento del ensayo que ocurría al día siguiente de la manipulación.

Preparación para los ensayos de lazo abierto

Para los ensayos a lazo abierto (ver a continuación: *Las condiciones experimentales*), se pegaba un pequeño rectángulo de cartulina al tórax por medio de una gota de cera que se derretía con calor utilizando un microcauterio eléctrico. Este elemento de sujeción era colocado utilizando un microscopio estereoscópico, con el insecto inmovilizado en el cepo, cuidando de proteger las antenas. Si un animal tocaba la punta caliente del microcauterio con sus antenas, era descartado de los experimentos.

Las condiciones experimentales

Se realizaron básicamente dos tipos de ensayos –a “lazo abierto” y a “lazo cerrado”– que requirieron el uso de diferentes dispositivos. En los ensayos a lazo cerrado (i.e., con retroalimentación), el comportamiento del insecto modifica los parámetros del estímulo, ya que su posición relativa varía conforme el animal se desplaza respecto a la fuente de estimulación. En los ensayos a lazo abierto (i.e., sin retroalimentación), por el contrario, la fuente de estímulo mantiene una misma posición relativa y, por lo tanto, los parámetros que

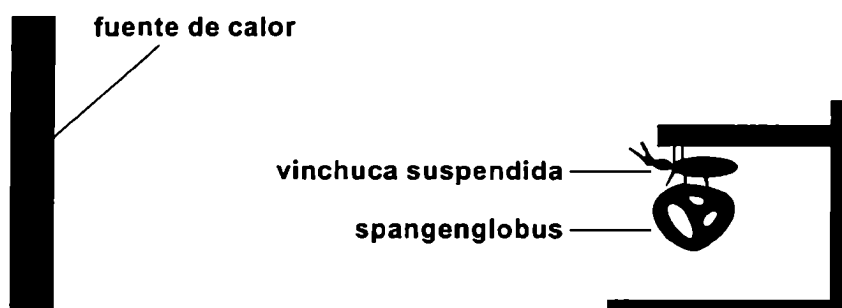
dependen de la distancia entre el insecto y la fuente de estimulación, así como de la posición relativa de ambos, también se mantienen constantes. Este tipo de dispositivos permite observar, además, la “intención” de un animal de desplazarse en determinada dirección sin alterar los parámetros de estimulación.

En los ensayos de estimulación a lazo cerrado realizados en este trabajo de Tesis, los animales se encontraban libres en arenas experimentales que eran básicamente recipientes de vidrio de diferentes dimensiones. En estas condiciones, a medida que el animal se acercaba a la fuente de calor, los parámetros de estimulación iban cambiando, e.g., la intensidad del estímulo se incrementaba. Durante el proceso de aproximación podía variar, asimismo, la orientación del cuerpo del insecto relativa a la posición de la fuente. Este tipo de arenas experimentales fueron usadas para estudiar la aproximación de insectos a una fuente de calor desde distintas distancias y en ensayos de preferencia en un gradiente térmico.

En los ensayos de estimulación a lazo abierto, los animales se encontraban en una posición fija respecto a la fuente. Para estos experimentos, las vinchucas eran suspendidas por medio de una pinza que las sujetaba del pequeño rectángulo de cartulina pegado a su tórax como describimos en la sección anterior. La pinza, a su vez, era insertada en un soporte de acrílico en forma de L, de manera que el insecto quedaba colgado en el aire. Para permitir que el insecto se parara sobre una superficie y evitar la situación inusual de estar suspendido, se le ofrecía un pequeño tetraedro esférico (*Spangenglobus*) que era rápidamente tomado entre sus patas (**Figura Cuatro–2**). De esta manera, durante el ensayo, el animal podía caminar sin variar su posición. El tetraedro de telgopor tenía un diámetro de alrededor de 2 cm y un peso cercano a los 40 mg, similar al peso promedio de los insectos de quinto estadio utilizados.

Los experimentos realizados en estas condiciones permitieron analizar varios parámetros asociados a la respuesta del animal frente a la estimulación, e.g., la actividad locomotora y los movimientos antenales.

Figura Cuatro–2. Diagrama del dispositivo usado en los ensayos de lazo abierto. La vinchuca se encontraba suspendida del tórax frente a la fuente de calor y sujetaba entre sus patas el *Spangenglobus*.



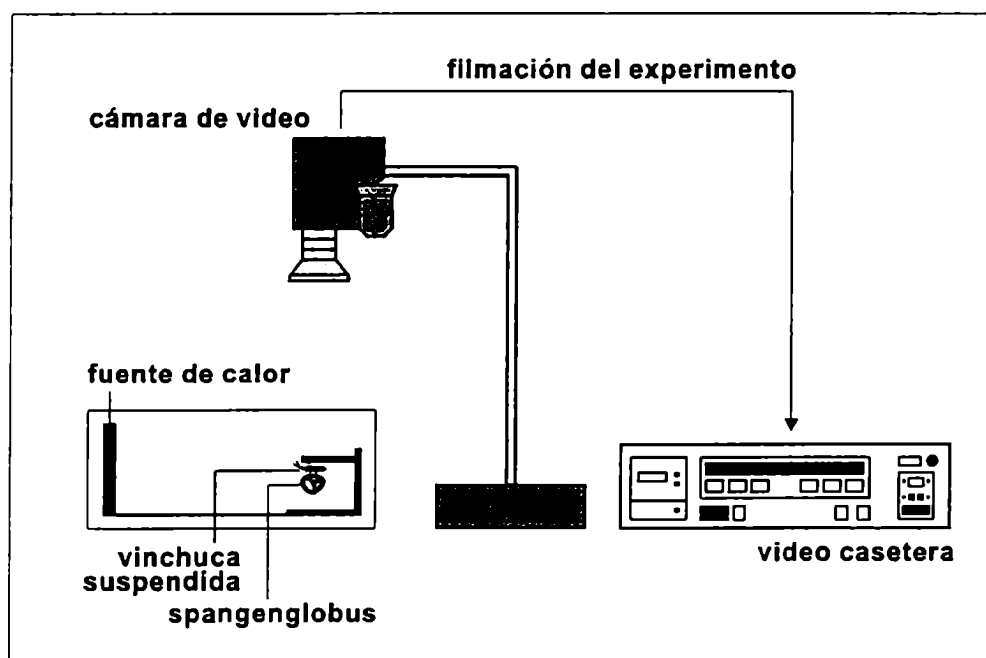
La adquisición y el procesamiento de los datos

Los ensayos fueron observados en forma directa o filmados para su análisis posterior. Las video filmaciones se realizaron con dos tipos de cámaras: una cámara de video (Sony Handicam CCD-TR50, Video 8) con una lentilla de aproximación o una cámara sensible al infrarrojo (IR) con una fuente propia de iluminación de una longitud de onda de 850-900 nm. Esta última fue utilizada en los ensayos de preferencia térmica bajo un régimen de luz-oscuridad (ver: CINCO. *El papel de los receptores antenales en el sentido térmico*) en los que los insectos debían conservar intacta la entrada de información visual. Es importante destacar que las longitudes de onda usadas para la filmación no son detectadas por el sistema visual de las vinchucas. Los ojos compuestos de *T. infestans* son sensibles a longitudes de onda dentro de un intervalo entre 357 nm –ultravioleta– y 665 nm –rojo lejano– (Reisenman, 2000), por lo que la iluminación utilizada representa oscuridad funcional para estos insectos. Por otra parte, este intervalo de longitudes de onda es diferente al emitido por las fuentes térmicas usadas en los experimentos. Las fuentes de calor utilizadas se encontraban a 32 °C. A esta temperatura, la emisión infrarroja tiene longitudes de onda de 4 a 20 μ (Hardy 1934).

Los ensayos en los que se evaluaron ángulos antenales o posiciones angulares en el espacio fueron filmados con la cámara colocada sobre la arena experimental o a un costado, según el plano que se deseara filmar (Figura Cuatro–3). En ocasiones, se realizaron filmaciones en los dos planos simultáneamente (i.e., horizontal y vertical con respecto al eje longitudinal del cuerpo del insecto), pero éstas no pudieron ser sincronizadas.

Las filmaciones fueron analizadas sobre la pantalla de un televisor de 20 pulgadas (diagonal). Para la toma de datos se trabajó sobre la filmación, analizando cuadros individuales con la imagen detenida.

Figura Cuatro-3. Esquema del dispositivo experimental usado para el registro en video del comportamiento. El experimento era filmado mediante una cámara colocada sobre la arena experimental conectada a una videogradora en donde se almacenaban las imágenes.



Digitalización

En ensayos preliminares se registraban los puntos de interés manualmente sobre una hoja de acetato transparente colocada sobre la pantalla del monitor y se anotaban las coordenadas x- e y- para cada uno de los puntos marcados. Los valores de las coordenadas de cada posición se analizaban en una planilla de cálculo. De esta manera, se reconstruyeron las primeras trayectorias de aproximación de los insectos hacia la fuente de calor caliente.

Como la técnica de toma de datos resultara muy efectiva, aunque muy engorrosa, se diseñó un sistema de digitalización que incluyó un programa desarrollado *ad hoc*. El programa generaba un cursor (una pequeña cruz) en la pantalla de un monitor de computadora. La posición del cursor en la pantalla podía ser almacenada en forma de

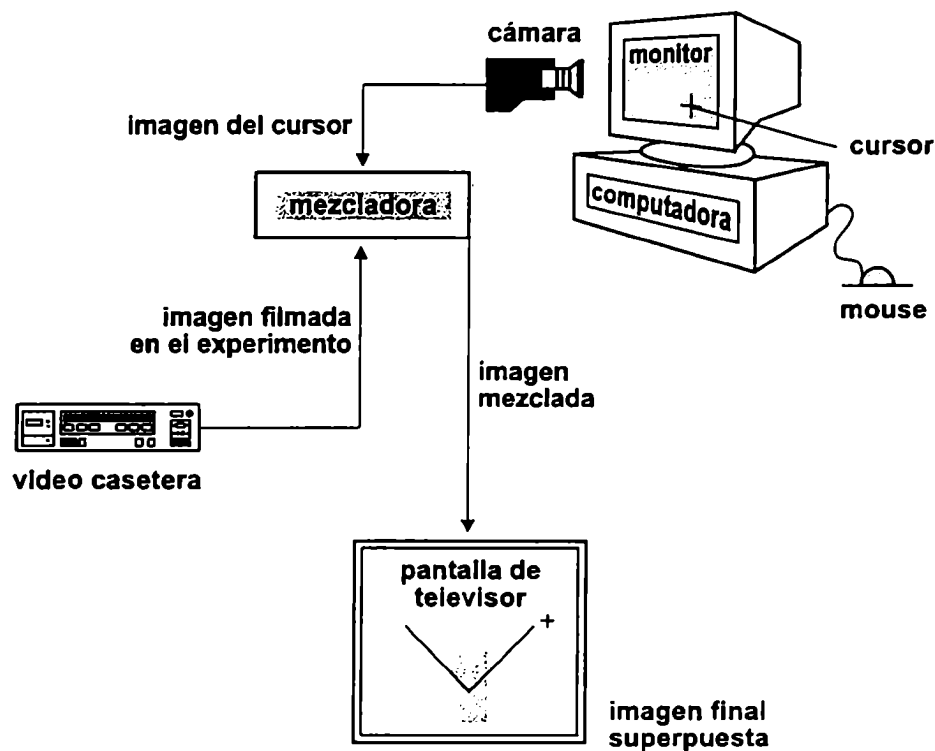
coordenadas x- e y-. Por otra parte, por medio de una mezcladora de señales de video se superponía la imagen filmada obtenida en los experimentos con la imagen del cursor, tomada por una cámara enfocada sobre la pantalla del monitor (**Figura Cuatro-4**). La imagen final resultante permitía ver en la pantalla de un televisor el cursor superpuesto con la imagen de las antenas.

Así, fue posible determinar las coordenadas x- e y- de las posiciones deseadas, e.g., antenas, cuerpo, etc. Este sistema sencillo permitió la toma del gran volumen de datos que resultaron de estos experimentos. Los datos obtenidos por medio de la digitalización fueron cuantificados y analizados en planillas de cálculo.

Un problema que presentó la digitalización sobre la imagen de video que realizamos surgió del hecho de que los las unidades que componen la imagen en la pantalla de un monitor o de un televisor –llamados *pixels*– son rectangulares con el lado horizontal mayor que el vertical. El programa utilizado para la digitalización indica las coordenadas en unidades de número de pixels. Al no tener los pixels el mismo tamaño en el eje horizontal que en el vertical, el número de unidades que compone un segmento de longitud fija es diferente en ambos ejes, i.e. es menor en el eje horizontal. Por esta razón hubo que realizar una corrección sobre los valores x- obtenidos previo a realizar cualquier cálculos. Para ello, se dibujó un cuadrado de 10 x 10 cm con un programa de gráficos sobre la pantalla del monitor de la computadora. Se tomaron las coordenadas x- e y- con el programa usado para la digitalización y se calculó la cantidad de pixels en los lados verticales y horizontales del cuadrado. Se calculó la diferencia obtenida en ambos ejes y el porcentaje. La corrección finalmente consistió en sumar a cada valor de x el 34% de su propio valor. Esta corrección probó ser precisa y las correcciones se aplicaron a todos los datos antes de realizar cualquier cálculo basado en valores obtenidos por digitalización.

Es importante destacar aquí que, en nuestro sistema, el valor cero de coordenadas del programa usado para la digitalización se encuentra en el extremo superior izquierdo de la pantalla de manera que el número de pixels de las coordenadas aumenta de arriba hacia abajo y de izquierda a derecha.

Figura Cuatro-4. La imagen grabada en video era proyectada –luego de pasar por una mezcladora de video– sobre la pantalla de un televisor. Simultáneamente, la imagen del cursor generada sobre la pantalla de un monitor era filmada con una cámara de video y esa imagen era superpuesta, por medio de una mezcladora, con la del experimento. La imagen final obtenida en la pantalla del televisor permitía ver en forma simultánea el cursor (+) y la imagen a digitalizar (e.g., las antenas). De esta manera fue posible obtener las coordenadas x- e y- de las posiciones deseadas.



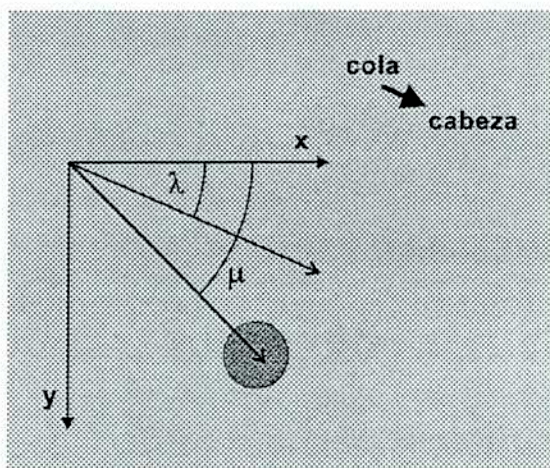
Cálculo de las posiciones de insectos libres

Las trayectorias de aproximación de los insectos hacia la fuente térmica se calcularon a partir de las coordenadas x- e y- de sus sucesivas posiciones en el espacio respecto a un eje externo de coordenadas rectangulares. Las posiciones se registraron sobre la pantalla del televisor con la imagen detenida. En estos experimentos, el muestreo se realizó con una frecuencia de alrededor de 10 cuadros (cada cuadro en el sistema de video NTSC utilizado corresponde a 30 ms i.e., 33 cuadros por segundo). A cada posición del insecto le fueron asignados dos puntos: uno indicando la cabeza (cab) y el otro el extremo posterior o “cola” (col). Cada uno de estos puntos está caracterizado por sus coordenadas x- e y- (x-cab, y-

cab; $x\text{-col}$, $y\text{-col}$) y la fuente (fte) tiene asociadas sus propias coordenadas ($x\text{-fte}$, $y\text{-fte}$), las que permanecen fijas en el espacio.

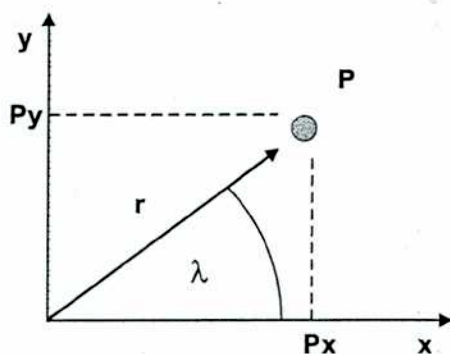
Para poder independizarse del eje de coordenadas externo y presentar las posiciones de los insectos con relación a la posición de la fuente, las coordenadas rectangulares fueron convertidas, posteriormente, en coordenadas polares. Así, para cada posición se calculó el ángulo λ formado entre el insecto y el eje horizontal y se sustrajo del ángulo μ formado entre la fuente y el eje horizontal. De esta manera, para cada posición se obtuvo el ángulo φ ($\varphi = \mu - \lambda$) (Figura Cuatro-5).

Figura Cuatro-5. Definición de los ángulos que indican la posición del insecto con respecto a la fuente de calor (círculo gris) en un eje de coordenadas rectangulares cuyo origen se encuentra en el extremo posterior del insecto. λ es la desviación del insecto respecto del eje horizontal y μ es el ángulo formado entre la fuente y el eje horizontal. La posición de la vinchuca respecto a la fuente térmica (ϕ) está dada por la diferencia $\mu - \lambda$.



La relación entre las coordenadas rectangulares (x, y) de un punto P en un plano y sus coordenadas polares (r, λ) está dada por las funciones trigonométricas seno y coseno ($y = r \text{ sen } \lambda$; $x = r \text{ cos } \lambda$) (Figura Cuatro-6).

Figura Cuatro-6. Relación entre las coordenadas rectangulares y polares de una fuente térmica (círculo gris).



El ángulo λ formado entre el insecto y el eje horizontal se puede calcular utilizando una de las dos funciones. En este caso se calculó usando la función coseno.

$$\frac{x}{r} = \cos \lambda$$

$$\lambda = a \cos \frac{x}{r} = a \cos \frac{xcab - xcol}{\sqrt{(xcab - xcol)^2 + (ycab - ycol)^2}}$$

El ángulo μ formado entre la fuente y el eje horizontal se calculó de manera similar:

$$\mu = a \cos \frac{x}{r} = a \cos \frac{xfte - xcol}{\sqrt{(xfte - xcol)^2 + (yfte - ycol)^2}}$$

Finalmente, el ángulo φ , que representa la posición del insecto respecto a la fuente, se dedujo de la diferencia entre los dos ángulos calculados: $\varphi = \mu - \lambda$.

Cálculo de los ángulos antenales

Los ángulos antenales se calcularon por trigonometría con respecto a un sistema de coordenadas rectangulares externo tomado como referencia y se analizaron estadísticamente. Las posiciones de las antenas se registraron con la imagen detenida sobre la pantalla del televisor. La toma de datos se realizó con una frecuencia que varió según las condiciones experimentales.

El criterio establecido para el muestreo de las posiciones antenales consistió en descartar todos aquellos cuadros en los que al menos una de las antenas se encontrara fuera de foco. Este criterio se tomó debido a la posibilidad de que ciertos efectos geométricos pudieran inducir a una sobreestimación de los valores angulares. Por lo tanto, en estos experimentos, sólo los cuadros en los que ambas antenas se encontraban en el plano focal fueron considerados y posteriormente digitalizados.

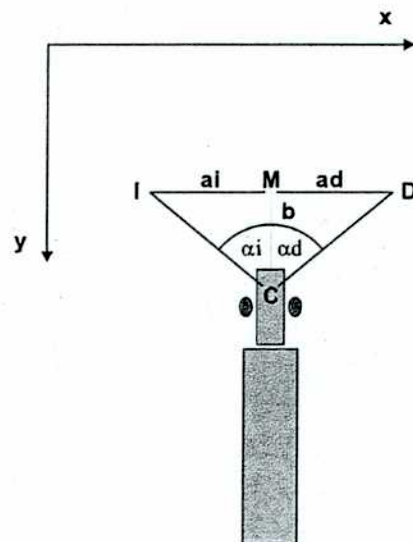
Las antenas fueron filmadas con una lentilla de aproximación asociada a la videocámara descrita. El acercamiento y el aumento fueron suficientes como para que las

dos antenas ocuparan toda la pantalla del televisor y las posiciones pudieran ser determinadas con claridad utilizando el cursor.

En los registros de los movimientos en el plano horizontal se tomaron las posiciones del extremo de la antena derecha (D), el extremo anterior de la cabeza (C) y el extremo de la antena izquierda (I) (**Figura Cuatro-7**) en cada cuadro seleccionado con el criterio mencionado anteriormente. Las coordenadas x- e y- de cada una de esas posiciones fueron posteriormente analizadas en una planilla de cálculo. Finalmente, se obtuvo el ángulo promedio formado entre las dos antenas en respuesta a los distintos tratamientos aplicados.

Para el cálculo del ángulo antenal se procedió de la siguiente manera. Primero se definieron dos ángulos, uno formado por la antena derecha (α_d) y el otro formado por la antena izquierda (α_i) y el plano medio de referencia (M). Se procedió de esta manera para poder contar con dos triángulos (DCM e ICM) y un punto de referencia (M) necesario para calcular los ángulos de interés.

Figura Cuatro-7. Definición de los ángulos antenales respecto a un eje de coordenadas rectangulares externo. M indica el plano medio, D indica la antena derecha, I la antena izquierda, C indica la cabeza, α_d es el ángulo formado entre la antena derecha y M, α_i es el ángulo formado entre la antena izquierda y M.



Para cada cuadro, el ángulo correspondiente a la antena derecha, α_d , se calculó usando el triángulo DCM y la función arco tangente como:

$\alpha = \arctg (a / b)$ donde a es el lado opuesto y b el lado adyacente del triángulo.

En nuestro caso, α_d se expresa como:

$$\alpha_d = \arctg (a_d / b)$$

Para obtener α_d , primero se calculó el lado opuesto a_d por diferencia entre las coordenadas x- de los puntos D y M con respecto al eje de coordenadas.

$$a_d = Dx - Mx.$$

Luego se calculó b por diferencia entre las coordenadas y- de los puntos M y C con respecto al eje de coordenadas.

$$b = My - Cy.$$

Conociendo los valores de a_d y b , se calculó finalmente α_d .

Siguiendo el mismo procedimiento se calculó el ángulo formado por la antena izquierda y el plano medio del insecto, α_i .

$$\alpha_i = \arctg (a_i / b)$$

Finalmente, para cada cuadro se sumaron los ángulos α_d y α_i y se obtuvo así el ángulo formado entre las dos antenas α .

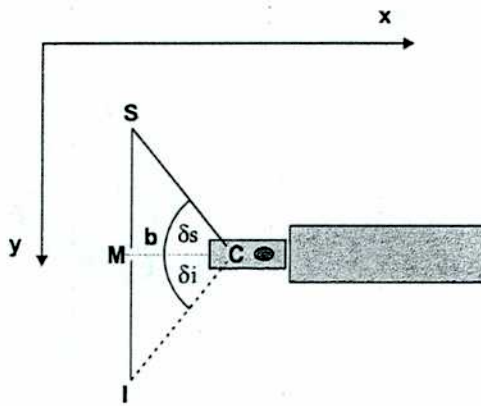
Los ángulos α se promediaron y los ángulos medios α_m se compararon entre tratamientos. El tamaño de las muestras osciló alrededor de 50 para cada insecto en cada situación experimental.

Para los registros de los movimientos en el plano vertical se realizaron cálculos similares, con la diferencia que el ángulo analizado fue el determinado por una de las antenas y el plano horizontal (**Figura Cuatro-8**) y no el formado entre las dos antenas. Esto se debió a la imposibilidad de que las dos antenas estuvieran simultáneamente en foco.

Las posiciones antenales en este caso se obtuvieron registrando la posición de la punta de la antena y la posición de la cabeza (C) en cada cuadro seleccionado con el criterio

usado anteriormente. Cuando la antena se encontraba en una posición superior al plano horizontal se la llamó S y cuando se encontraba por debajo del plano se la llamó I.

Figura Cuatro-8. Definición de los ángulos antenales respecto a un eje de coordenadas rectangulares externo. M indica el plano medio, S indica la antena cuando se encuentra por encima de M e I cuando se encuentra por debajo de M, δ_s es el ángulo formado entre la antena en posición superior y M, δ_i es el ángulo formado por la antena en posición inferior y M.



Las coordenadas x- e y- de cada una de esas posiciones fueron posteriormente analizadas y se calculó el ángulo promedio formado por la antena y el plano horizontal. Los ángulos formados por la antena en posiciones superiores al plano horizontal se denominaron δ_s y se consideraron positivos y los formados en posiciones inferiores se denominaron δ_i y se consideraron negativos.

Para cada cuadro se calculó el ángulo δ_s formado por la antena y el plano horizontal usando el triángulo CSM y la función arcotangente

$$\delta_s = \text{arctg} (a_s / b)$$

El lado opuesto a_s y el lado b se calcularon por el mismo procedimiento usado en los cálculos de los ángulos horizontales.

$$a_s = S_y - M_y.$$

$$b = M_x - C_x.$$

Conociendo a y b se calculó δ_s .

De la misma manera se calculó el ángulo formado por la antena y el plano medio cuando la antena se encontraba por debajo de ese plano (δ_i).

$$\delta_i = \arctg (a_i / b)$$

Los ángulos δ se promediaron para las posiciones superiores e inferiores al plano y los ángulos medios δ_m se compararon entre tratamientos. El tamaño de las muestras fue aproximadamente 50 para cada insecto en cada situación experimental.

Todos los ángulos descritos fueron determinados con un error de 1°.

Es importante aclarar que si bien la porción de las antenas elegida para registrar su posición –el flagelo– no está controlada por músculos, la estructura de la antena es suficientemente fuerte como para que este artejo no se desvíe de la dirección general de la antena y por lo tanto resulta un buen punto de muestreo.

Cálculo del ángulo subtendido por la fuente de calor

En los experimentos presentados en *SIETE. Los movimientos antenales frente a una fuente térmica* y *OCHO. Los movimientos antenales y la evaluación del tamaño de una fuente térmica* se usaron fuentes de tamaños distintos colocadas a distintas distancias del insecto. Los tamaños y distancias fueron seleccionados de manera que subtendieran los ángulos deseados en cada experimento.

En cada caso, se calculó el ángulo subtendido a partir de una fuente de tamaño conocido y a una distancia determinada, o se construyó la fuente de manera que subtendiera un ángulo deseado al ser colocada a una distancia determinada.

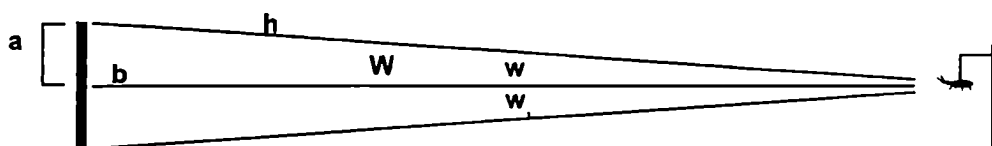
Los cálculos se realizaron usando un método similar, pero esta vez a partir del teorema de Pitágoras que se expresa como

$$h^2 = a^2 + b^2$$

y aplicando la función seno al ángulo subtendido.

El lado b es la distancia entre el insecto y la fuente de estimulación, el lado opuesto a es la mitad de la altura de la fuente y h es la hipotenusa del triángulo formado (**Figura Cuatro–9**).

Figura Cuatro–9. Definición de los ángulos subtendidos por la fuente térmica en la posición del insecto suspendido (a la derecha). b es la distancia entre el insecto y la fuente, a es la mitad de la altura de la fuente, h es la hipotenusa del triángulo formado; ω es el ángulo subtendido por la mitad superior de la fuente y ω_1 es el ángulo subtendido por la mitad inferior de la fuente ($W = \omega + \omega_1$).



En el experimento presentado en *OCHO. Los movimientos antenales y la evaluación del tamaño de una fuente térmica*, por ejemplo, se trabajó con una fuente de 10 x 10 cm colocada a 15 cm de la cabeza del insecto.

En este caso, $a = 5$ cm y $b = 15$ cm.

Primero, se calculó el valor de h .

$$h^2 = a^2 + b^2$$

$$h^2 = 5^2 + 15^2 = 25 + 225 = 250$$

$$h = 15,81$$

Una vez obtenido h , se calculó el ángulo subtendido por la mitad de la fuente ω o ω_1 a partir de la función seno:

$$\text{sen } \omega = a/h = 5/15,81 = 0,32$$

$$\omega = \text{arcsen } a/h = \text{arcsen } 0,32 = 18,43^\circ$$

El ángulo calculado ω o ω_1 es el subtendido por la mitad de la fuente. Por lo tanto, el ángulo subtendido por la fuente entera es el doble.

$$W = \omega \times 2 = 18,43 \times 2 = 36,6^\circ$$

Así, una fuente de 10 x 10 cm, colocada a 15 cm del insecto, subtiende un ángulo W de $36,6^\circ$.

Los dos métodos descritos hasta ahora –uno usando la función arcotangente y el otro usando la función seno– dan los mismos resultados y son formas alternativas de cálculo que pueden ser útiles en distintas condiciones, según los datos iniciales con los que se cuente.

Con esta metodología se calcularon los ángulos subtendidos por una fuente a una distancia dada.

En *OCHO. Los movimientos antenales y la evaluación de una fuente térmica (Primera Serie Experimental)* los ángulos subtendidos por las fuentes de 5; 7,5 o 10 cm de lado, colocadas a una distancia de 20 cm enfrente del insecto, se calcularon de la misma manera y dieron como resultado los siguientes valores: 14,25°; 21,2° y 28,08° respectivamente. A partir de esos ángulos subtendidos se eligieron las distancias a las que se colocó la fuente de 10 cm de lado en la *Segunda Serie Experimental*: 40; 26,7 o 20 cm frente al insecto experimental. De esta manera se logró que en las dos series experimentales las fuentes subtendieran los mismos ángulos en los tres tratamientos.

CINCO. El papel de los receptores antenales en el sentido térmico

Introducción Teórica

La temperatura del ambiente influye en numerosos procesos fisiológicos, entre ellos la regulación de la actividad metabólica, el crecimiento y el desarrollo. En animales ectotérmicos como los insectos, en los que la temperatura corporal depende básicamente de la del ambiente, la regulación térmica es llevada a cabo por mecanismos fisiológicos y comportamentales (Precht *et al.* 1973). Por esta razón, la clave térmica y la capacidad de percibir la temperatura cobran especial importancia en estos organismos.

Pero sin duda, el sentido térmico cumple una función clave en animales de hábitos hematófagos como los triatominos, ya que el calor que emana de sus hospedadores potenciales puede representar una clave de gran significación (Nicolle y Mathis 1941, Fujita y Kloetzel 1976, Lazzari y Núñez 1989, Núñez y Lazzari 1990).

La influencia de la clave térmica en el comportamiento ha sido documentada en varios insectos triatominos (*ver DOS. Algunos aspectos del comportamiento de los triatominos: la búsqueda de alimento*). Tanto *Triatoma infestans* como *Rhodnius prolixus* extienden la proboscis para picar cuando se encuentran en proximidad de una fuente de calor que tenga una temperatura superficial similar a la de un hospedador potencial, es decir, alrededor de 32°C. La respuesta se desencadena cuando la temperatura de la fuente es un par de grados mayor que la del ambiente y se incrementa hasta alcanzar un valor máximo a 40°C y 45°C en ninfas y adultos respectivamente (Wigglesworth y Gillet 1934, Lazzari 1990). En el contexto de la búsqueda de alimento, la diferencia que exista entre la temperatura del hospedador y la del ambiente también es relevante, independientemente de los valores absolutos de ambas (Nicolle y Mathis 1941).

Por otra parte, la información térmica también influye en la elección de microambientes donde permanecer y, por lo tanto, en la distribución espacial de las vinchucas. Larvas de *T. infestans* colocadas en un gradiente térmico durante períodos breves –de 2 horas– muestran una preferencia por microambientes a temperaturas entre 26° y 27°C (Di Luciano 1983). Experimentos en los que se expuso a los insectos a un gradiente

de temperatura durante varios días demostraron que la preferencia térmica de *T. infestans* no es un fenómeno estático, sino un proceso dinámico que revela un ritmo endógeno con variación circadiana (Minoli 1999). También se ha demostrado que las vinchucas usan la información térmica para la sincronización de los relojes circadianos (Lazzari 1992).

En cualquiera de los casos mencionados, el uso de la clave térmica requiere de la recepción de información en forma de calor. Las vinchucas cuentan con una gran cantidad de termorreceptores que se encuentran distribuidos en todo el cuerpo, pero en una mayor cantidad en las antenas (Lazzari 1983, McIver y Siemicki 1985, Lazzari y Wicklein 1994, ver *TRES. Las antenas de Triatoma infestans*).

Los trabajos clásicos de Wigglesworth y Gillet realizados en *R. prolixus* fueron los primeros en demostrar el papel central de las antenas de las vinchucas en la búsqueda de un hospedador usando la clave térmica. Cuando estos insectos son antenectomizados bilateralmente pierden la capacidad de localizar una fuente de calor (Wigglesworth y Gillet 1934). Los autores demostraron que la antenectomía unilateral también afecta la orientación en esa especie. Trabajos posteriores revelaron que *R. prolixus* presenta una preferencia por temperaturas cercanas a 37° C para orientarse y picar (Fujita y Kloetzel 1976), si bien los resultados no fueron analizados rigurosamente (ver *DOS. Algunos aspectos del comportamiento de los triatominos: la clave térmica*).

Aunque todas las evidencias morfológicas y comportamentales mencionadas apoyan la idea de que las antenas constituyen la principal vía de ingreso de la información térmica, no todos los comportamientos en los que el calor demostró tener alguna influencia se ven afectados por la ausencia de las antenas. Por ejemplo, la sincronización de los ritmos circadianos –un proceso que depende de la entrada de información térmica– sólo es afectado por la antenectomía en su expresión (i.e., adopta una forma unimodal en vez de bimodal), pero no en la utilización de la clave de sincronización para ajustar la actividad en un período diario (Lazzari 1992). Evidentemente, en este caso la falta de antenas, aunque tiene un claro efecto en el control de la actividad no impide que el insecto obtenga información, lo que indica que termorreceptores localizados en otras partes del cuerpo

deben informar al sistema nervioso central de la variación diaria en la temperatura ambiente.

En este contexto, surge el interrogante acerca de si existe una especialización en la función de los termorreceptores antenales de las vinchucas. Esa pregunta se puede desmembrar en diferentes preguntas más específicas: ¿Tienen los insectos un “sentido térmico general” en el que participan termorreceptores distribuidos en todo el cuerpo o ciertos termorreceptores están involucrados en el control de comportamientos particulares? ¿Pueden ciertos termorreceptores asumir la función de otros?

Para contestar estas preguntas se realizaron experimentos en los que se comparó la respuesta de insectos intactos con la de animales antenectomizados en dos comportamientos diferentes en los que la entrada térmica tiene una influencia importante: la elección de un sitio donde permanecer y la extensión de la proboscis en actitud de picar. Asimismo, se analizó la capacidad de recuperación por parte de los insectos antenectomizados del comportamiento que normalmente presentan los controles.

Por otra parte, se realizó un experimento en el que –a diferencia de la mayoría de los estudios sobre sentido térmico realizados en esta Tesis– los insectos contaban con entrada de información visual. Esto se hizo para evaluar la posible interferencia que puede tener la falta o no de entrada de luz, un estímulo que sincroniza el ritmo circadiano de termopreferencia (Minoli 1999).

Sección experimental

Para estudiar el papel de las antenas en la preferencia térmica y en la respuesta de extensión de la proboscis frente a una fuente de calor se realizaron dos clases de ensayos. En el primero, se analizó la distribución de insectos antenectomizados en un gradiente térmico usando insectos con y sin entrada de información visual (*Primer y Segundo experimento*, respectivamente) y se la comparó con la distribución de insectos intactos.

En el segundo, se estudió la capacidad de reconocer una fuente potencial de alimento en animales sin antenas (*Tercer experimento*). En todos los casos se estudió la evolución de la respuesta a lo largo del tiempo.

En este contexto, si los termorreceptores antenales están especializados en la recepción de la temperatura usada como clave para la elección de un microambiente donde permanecer, esperamos que la distribución de animales antenectomizados en un gradiente térmico sea diferente de la de los controles intactos. Por el contrario, si los insectos tienen un sentido térmico general, no esperamos encontrar diferencias en las distribuciones.

De manera análoga, si los termorreceptores antenales están especializados en la recepción de calor como clave para el reconocimiento de una fuente de alimento, esperamos que animales sin antenas no se alimenten a pesar de tener varios días de ayuno. Finalmente, si ciertos termorreceptores pueden asumir la función de otros, esperamos que las diferencias entre antenectomizados y controles, si las hay, desaparezcan con el tiempo.

Primer experimento

Se analizó la distribución de animales antenectomizados y controles privados de información visual en un gradiente de temperatura.

Animales, materiales y métodos

Animales

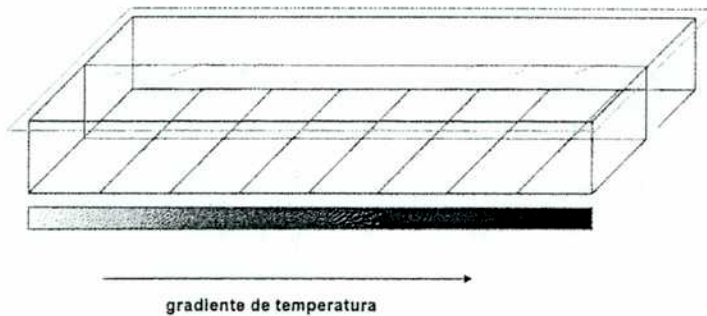
Se utilizaron 20 larvas de quinto estadio de *T. infestans* con un ayuno cercano a los 30 días postecdisis privados de la entrada visual. La mitad de los insectos fueron antenectomizados bilateralmente. Los 10 restantes conservaron sus antenas intactas. El tratamiento de los animales se describe en *CUATRO. El enfoque experimental y las manipulaciones: los animales y su preparación.*

Dispositivo

Los ensayos se realizaron dentro de una caja de vidrio de 20 x 40 cm dividida en dos áreas de 10 x 40 cm por una pared intermedia. La caja contaba con una tapa del mismo material que permitía ver la distribución de los insectos. El fondo de la caja fue cubierto por papel de filtro en el que se marcaron 7 líneas divisorias que determinaron 8 secciones de 5 cm cada una. Así, la caja se constituyó en una arena experimental. Un extremo de la arena se apoyó sobre una resistencia plana a 50°C y todo el dispositivo se colocó sobre una base

de telgopor que funcionaba como aislante (**Figura Cinco-1**). De esta manera se generó un gradiente de temperatura a lo largo del eje mayor de la arena que abarcaba valores desde 22°C a 46°C. La temperatura fue registrada en las 8 zonas.

Figura Cinco-1. Esquema de la arena experimental. La superficie de la arena en la que se creó un gradiente de temperatura se encuentra dividida en 2 áreas longitudinales que separan a los insectos antenectomizados de los controles y en 8 zonas. Dentro de cada área los insectos podían circular libremente.



Entorno

La arena experimental fue mantenida en una habitación a 20 °C bajo un ciclo de 12 hs luz:12 hs oscuridad.

Procedimiento

Los insectos con y sin antenas fueron trasladados dentro de sus correspondientes frascos de plástico en donde habían sido mantenidos antes del experimento para ser colocados en la arena. Los frascos fueron invertidos y apoyados en el centro de cada una de las dos áreas longitudinales de la (**Figura Cinco-1**). Luego de transcurridos 2 minutos los frascos fueron retirados con cuidado liberando así a los animales. A partir de ese momento los insectos permanecieron en la arena durante dos días sin ser perturbados.

Registro del comportamiento

Se filmó el experimento por medio de una cámara sensible a la iluminación infrarroja colocada encima de la arena que permitía filmar a los animales en ausencia de luz durante durante ambas fases del ciclo diario de iluminación, i.e., luz y oscuridad, (ver *CUATRO. El enfoque experimental y las manipulaciones: la adquisición y el procesamiento de los*

datos). Dada su longitud de onda, la iluminación infrarroja representaba oscuridad funcional para los insectos (Reisenman et al. 1998). Las video filmaciones se realizaron a intervalos de 60 minutos durante 26 horas. Las posiciones de los insectos fueron posteriormente registradas y analizadas.

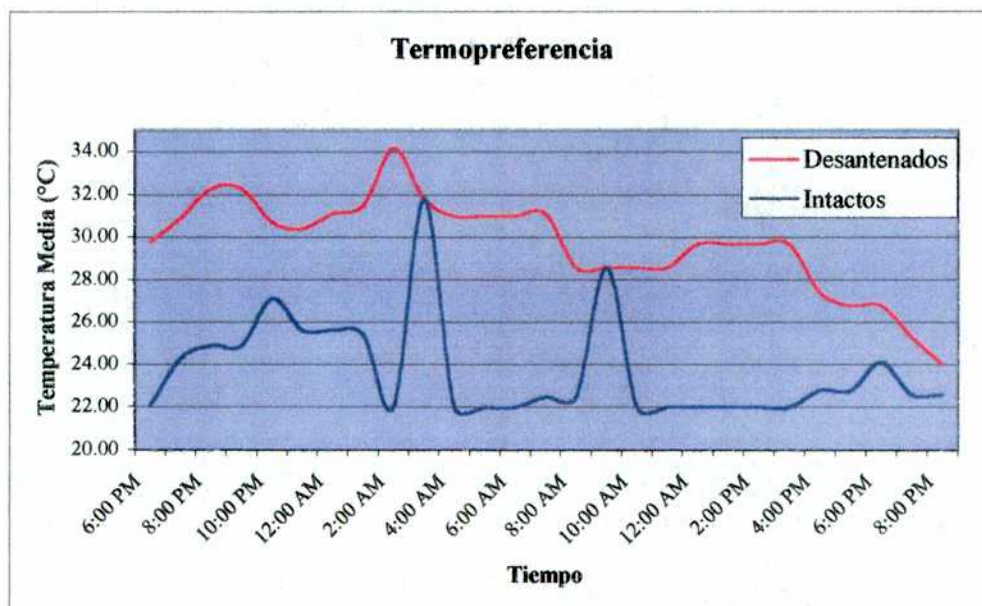
Análisis de los datos

A partir de los datos sobre las posiciones de los insectos se calculó el número de individuos en cada zona de la arena experimental y se obtuvo la frecuencia de insectos para cada temperatura, así como la temperatura media de cada grupo experimental a las distintas horas del día. Las medias se compararon por medio de una prueba de Mann-Whitney.

Por otra parte se comparó, por medio de una prueba de Chi-cuadrado, la distribución en el gradiente de los insectos intactos y los desantennados con respecto a una distribución al azar en cuatro momentos del ensayo separados por períodos de 6 horas entre sí (18:00 hs, 24:00 hs; 6:00 hs y 12:00 hs).

Resultados

La preferencia térmica difirió en forma significativa entre los dos grupos analizados, controles y antenectomizados (**Figura Cinco-2**).

Figura Cinco-2. Distribución de insectos controles y antenectomizados

Mientras los insectos intactos permanecieron a una temperatura media de $23,19^{\circ}\text{C} \pm 0,24$, los animales sin antenas prefirieron una media de $29,72^{\circ}\text{C} \pm 0,59$ (Prueba de Mann-Whitney de dos colas, $p=0,0126$).

Con el fin de explorar el patrón de distribución de los insectos intactos y desantenados, y a modo de análisis preliminar, se comparó la distribución de las vinchucas en el gradiente de temperatura a distintas horas del día con una distribución aleatoria por medio de una prueba de Chi.-cuadrado (**Tabla Cinco-1**).

Tabla Cinco-I. Comparación de la distribución de los insectos antenectomizados y controles con respecto a una distribución al azar.

Grupo	vs. Azar
Control 18:00 hs	p < 0,001
Antenectomizado 18:00 hs	n.s.
Control 24:00 hs	p < 0,001
Antenectomizado 24:00 hs	p < 0,001
Control 6:00 hs	p < 0,001
Antenectomizado 6:00 hs	n.s.
Control 12:00 hs	p < 0,001
Antenectomizado 12:00 hs	n.s.

El análisis de distribución reveló que, mientras los insectos intactos mostraron distribuciones que difirieron significativamente del azar a todas las horas analizadas (en todos los casos, $p < 0,001$), la distribución de los insectos antenectomizados no se diferenció de aquella esperada por azar (Chi.-cuadrado n.s), salvo en un caso en el que esta diferencia resultó significativa.

Por otra parte, se observó que la dispersión fue marcadamente diferente en los dos grupos. Las varianzas diarias para la temperatura preferida fueron mucho mayores en los insectos antenectomizados que en el grupo control; en muchos casos la diferencia fue de un orden de magnitud. Los insectos controles permanecieron reunidos durante la mayor parte de la fotofase a bajas temperaturas pero se dispersaron hacia temperaturas mayores durante la noche. En contraste, los insectos sin antenas no mostraron ninguna preferencia y permanecieron dispersos durante todo el tiempo que duró el experimento, i.e., 26 horas).

Estos resultados son relevantes en cuanto demuestran que la falta de antenas altera marcadamente el patrón de termopreferencia, algo no del todo esperable en un animal ectotermo que podría responder "como un todo" y no en función de órganos termorreceptores especializados.

Sin embargo, el ensayo anterior no permite resolver con certeza algunos interrogantes importantes en el contexto del presente trabajo de Tesis, tales como: ¿la termopreferencia es realmente abolida por la falta de antenas? o, dicho de otro modo, ¿se distribuyen los insectos antenectomizados al azar?; ¿se recupera la capacidad de elección de un ambiente por su temperatura con el tiempo? En caso de recuperarse ¿resulta el valor preferido por los insectos sin antenas el mismo que el de los animales intactos?

Segundo experimento

Para responder las preguntas surgidas en el experimento anterior se realizó un experimento similar al anterior con las siguientes diferencias: 1) los insectos no tenían los ojos cubiertos, 2) el ensayo se prolongó por 30 días, 3) se utilizaron 7 animales en el grupo antenectomizado y 9 en el control, 4) la temperatura ambiente fue mantenida alrededor de 25°C, 5) El gradiente de temperatura a lo largo del eje mayor de la arena abarcó valores desde 21°C a 35°C.

Resultados

Durante los primeros cinco días del ensayo, inmediatamente después de la antenectomía, la distribución de las vinchucas fue similar a la observada en el *Primer experimento*, a pesar de que los insectos tenían los ojos descubiertos. Nuevamente los insectos antenectomizados se distribuyeron sobre un intervalo amplio de temperaturas, mucho mayor que el de los animales intactos (**Figura Cinco-3**). Sin embargo, a partir de el sexto o séptimo día (144-168 horas), la varianza en los animales antenectomizados fue disminuyendo, es decir, los insectos se agregaron (**Figura Cinco-4**). También se observó, a partir de este momento, una mayor agregación del grupo control. Llamativamente, el valor de preferencia de los insectos antenectomizados fue de alrededor de 26 °C, mientras que los insectos intactos permanecieron a alrededor de 21-22°C.

Figura Cinco-3. Variación de los valores de temperatura media preferida por insectos con y sin antenas.

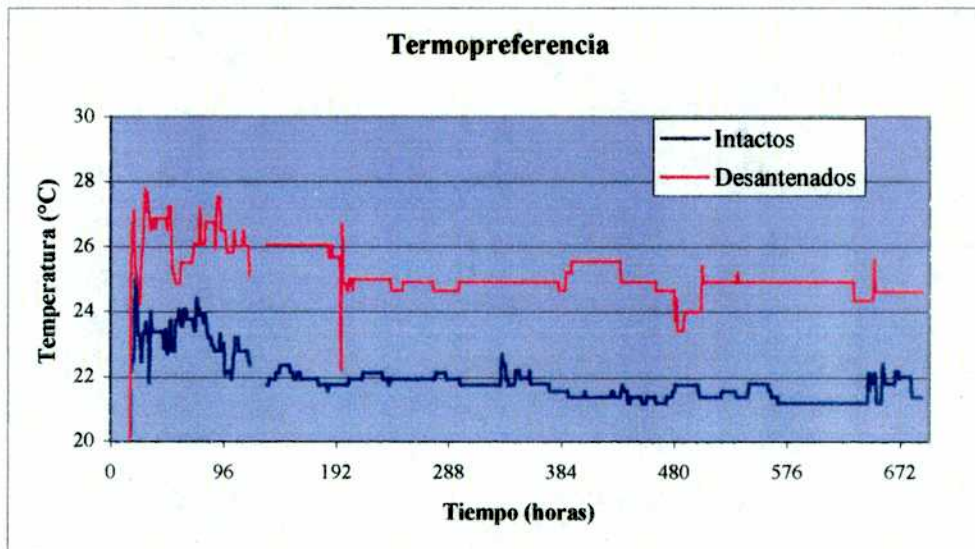
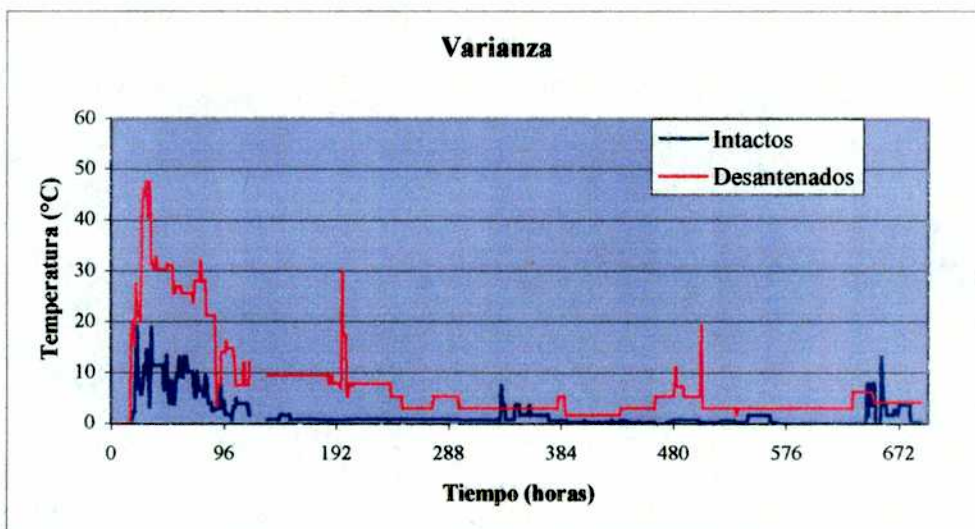


Figura Cinco-4. Dispersión de las temperaturas medias preferidas por insectos con y sin antenas.



Tercer experimento

En este experimento, se analizó la capacidad de los insectos antenectomizados para reconocer una fuente térmica a 34°C únicamente a partir de su temperatura.

Animales, materiales y métodos

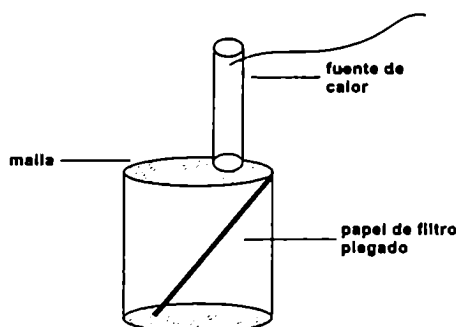
Animales

Se utilizaron 10 larvas de quinto estadio de *T. infestans* con un ayuno cercano a los 30 días postecdisis. Todos los animales fueron privados de la entrada de información visual y antenectomizados bilateralmente como se describe en *CUATRO. El enfoque experimental y las manipulaciones: los animales y su preparación.*

Dispositivo

Los insectos antenectomizados fueron colocados dentro de un frasco de acrílico con base de malla plástica y tapa de malla de tela como los utilizados para la cría. Dentro del frasco se colocó un papel de filtro plegado que permaneció allí durante todo el tiempo que duró el experimento. La fuente térmica usada fue un cilindro de aluminio de 6 cm de alto y 1,7 cm de diámetro (**Figura Cinco-5**), que se mantuvo a una temperatura en su superficie de $34^{\circ} \pm 0,1^{\circ} \text{C}$ por medio de un termostato electrónico (ver *CUATRO. El enfoque experimental y las manipulaciones*).

Figura Cinco-5. Esquema del dispositivo experimental



Entorno

Los insectos fueron mantenidos en la cámara de cría a 29°C. Antes de los ensayos, se trasladaba el frasco con los insectos a una habitación a la misma temperatura donde se los enfrentaba a la fuente térmica.

Procedimiento

La fuente térmica era colocada sobre la tapa de malla. Los insectos tenían acceso al tubo a través del papel plegado que trepan fácilmente. El papel de filtro era colocado en forma vertical de manera que tocara la base y la tapa del frasco, permitiendo el libre movimiento de las vinchucas sobre su superficie.

Registro del comportamiento

Los insectos enfrentados a la fuente de calor eran observados desde fuera de la habitación durante 30 minutos con la ayuda de una cámara de video y un monitor. Se registró la respuesta de orientación hacia la fuente térmica. Este comportamiento y la extensión de la proboscis se tomaron como indicadores del restablecimiento de la capacidad de percepción de calor.

Análisis de los datos

Se calculó la frecuencia de insectos que presentaron la respuesta de picar sobre el total de insectos analizados en forma individual.

Resultados

Durante los primeros 34 días posteriores a la antenectomía ningún insecto respondió a la fuente térmica. Sólo a los 35 días los primeros 3 insectos comenzaron a reaccionar y a picar la fuente. Llegado a ese punto muchos animales comenzaron a morir. Debemos destacar que el nivel de ayuno alcanzaba ya más de 60 días, lo que probablemente provocó un deterioro del estado de los insectos.

Discusión

La antenectomía provocó un cambio en de la preferencia de las vinchucas para permanecer en microambientes a determinadas temperaturas. También afectó transitoriamente su habilidad para reconocer un cuerpo térmico a la temperatura de un hospedador, capacidad que se manifiesta a través del comportamiento de extensión de la proboscis.

En los primeros dos experimentos realizados, la preferencia térmica por un microambiente donde permanecer se vio afectada por la antenectomía de manera similar, a pesar de que en uno de los experimentos los insectos carecían de la entrada de información visual y en el otro no. Los valores de temperatura preferidos por los animales antenectomizados fueron mayores que en el caso de los controles y la dispersión también fue mayor, *i.e.* los insectos no se agregaron a una determinada temperatura sino que se distribuyeron en un intervalo amplio. En el *Segundo experimento*, a medida que pasaron los días (alrededor del sexto o séptimo) la varianza comenzó a disminuir en los antenectomizados y la preferencia térmica se manifestó cada vez más claramente. Sin embargo, los valores preferidos fueron marcadamente mayores que los expresados por los controles (21-22 °C y 26°C, respectivamente).

Este resultado expresa una recuperación de la capacidad de orientación térmica, por un lado, y una preferencia térmica por ambientes a cierta temperatura, por el otro. Ésta última se manifiesta con un valor de temperatura diferente, varios grados mayor que aquel que muestran los insectos intactos.

En el *Tercer experimento* se comparó insectos antenectomizados bilateralmente con animales intactos que normalmente extienden la proboscis cuando son enfrentados a una fuente de calor a la temperatura de un hospedador potencial (Wigglesworth y Gillet 1934, Lazzari 1990). Si bien la antenectomía eliminó transitoriamente este comportamiento, los insectos recuperaron esa habilidad. Sin embargo, esto sólo ocurrió después de un período prolongado (de alrededor de 34 días), cuando el nivel de ayuno ya era demasiado alto como para permitir la recuperación de una parte significativa de la población.

Los resultados presentados en este capítulo indican que existe una especialización en la función termorreceptora. Si bien los termorreceptores antenales proveen la principal entrada térmica en *T. infestans* –tanto para el reconocimiento de una fuente de alimento como para la elección de un microambiente donde permanecer– la recuperación de la capacidad termorreceptora en los antenectomizados sugiere que la función de los termorreceptores antenales puede ser asumida por termosensilias distribuidas en otras regiones del cuerpo del insecto. Este resultado es de interés ya que revela cierta plasticidad en el sistema termorreceptivo en esta especie.

Experimentos realizados recientemente en otros insectos apoyan la idea de una especialización en los receptores sensoriales. Por ejemplo, la mosca *Drosophila melanogaster* presenta dos tipos de termorreceptores funcionalmente diferentes (Zars 2001). A partir de ensayos comportamentales en moscas controles, antenectomizadas y mutantes defectuosas en la termosensación se describió un termorreceptor localizado en la antenas responsable de sensor temperaturas relativamente bajas (menores de 33°C) y de detectar gradientes térmicos. Un segundo tipo de receptor, ubicado en algún sitio del cuerpo fuera de la antena, responde a temperaturas mayores. La función de los receptores no antenales –sensibles a altas temperaturas– estaría relacionada con la formación de memoria espacial en situaciones que podrían poner en peligro la supervivencia de las moscas mientras que el termorreceptor de baja temperatura sería usado para la orientación a las temperaturas a las que los insectos están más comúnmente expuestos y a diferencias en la intensidad de estímulos relevantes.

Por otra parte, existen antecedentes que indican que la entrada de información térmica puede afectar comportamientos no directamente relacionados con la entrada de calor. En grillos, se analizó el efecto de la antenectomía en la respuesta térmica de los insectos en relación con las vías metabólicas de hormona juvenil y los niveles de hormonas esteroides (Hoffmann 1986). En animales criados a temperaturas subóptimas, la antenectomía causó un aumento del peso corporal y una mayor producción de huevos. Este resultado se interpretó como un efecto de la antenectomía de mimetizar condiciones de altas temperaturas ya que, en estas condiciones, los insectos intactos presentan un mayor

desarrollo. La falta de antenas sería análoga a una reducción de la estimulación de “receptores de frío” en el sistema reproductivo de los grillos que afecta la estimulación de las células neurosecretoras y de los órganos endocrinos periféricos.

En este sentido, es sugestivo que las vinchucas antenectomizadas hayan modificado su termopreferencia eligiendo permanecer en ambientes a mayor temperatura ya que este comportamiento sería el esperado si nos basamos en los antecedentes obtenidos en grillos y en *D. melanogaster*. *Drosophila* sin antenas o mutantes para la termosensación también se ubican en sitios a temperaturas más altas. La falta de termorreceptores antenales impide que los insectos perciban temperaturas menores de 33°C. Sin embargo, siguen detectando diferencias de 3 o 6°C. Esto indica que la función de los dos tipos de receptores es bien distinta. Por otra parte, cuando se remueven los receptores periféricos, las cucarachas pierden termosensibilidad de manera similar (Sayeed y Benzer 1996) y los insectos se distribuyen a temperaturas mayores. Zars (2001) menciona también que los receptores de *T. infestans* podrían corresponder a los analizados por él en *Drosophila*.

Todas estas evidencias demuestran que la entrada térmica tiene efectos fisiológicos no vinculados directamente con la sensación térmica (e.g., en el ejemplo citado en grillos afecta la fecundidad y en nuestro trabajo en vinchucas altera el patrón diario de actividad). También indica que la entrada térmica tiene varias vías con conexiones complejas. Los termorreceptores involucrados en distintos efectos pueden ser los mismos, pero las vías distintas e impredecibles *a priori*. Los resultados obtenidos en los experimentos de preferencia térmica pueden ser interpretados en forma análoga al experimento realizado en grillos: la capacidad de recepción de estímulos térmicos se recupera pero con un patrón alterado.

En resumen, si bien el sentido térmico de las vinchucas está distribuido en termorreceptores ubicados en distintas partes del cuerpo, las antenas juegan un papel fundamental en la percepción del calor como una clave indicativa de la presencia de un hospedador. De los tres comportamientos que demostraron estar afectados por la clave térmica, dos se modifican con la falta de antenas. Estos son la capacidad de reconocer una fuente potencial de alimento y la elección de un microambiente térmico determinado donde

permanecer. Es interesante destacar que ambos están relacionados con la búsqueda de alimento. El primero –el reconocimiento de un hospedador potencial– está relacionado en forma directa, ya que el calor es la clave principal en este comportamiento. El segundo se puede interpretar en el contexto de la búsqueda de un ambiente que logre un contraste máximo entre la temperatura del ambiente y la de un hospedador, un hecho que facilitaría el reconocimiento de una fuente de alimento a partir de su temperatura. El tercer comportamiento afectado por el calor, la sincronización de los ritmos circadianos, responde de manera no muy diferente. Las vinchucas mantienen la capacidad de sincronizar su actividad, pero el patrón de actividad es distinto.

SEIS. El papel de las antenas en la orientación térmica

Introducción Teórica

Un problema que deben resolver la mayoría de los animales es el de identificar la posición o la dirección en la que se encuentran ciertos recursos del ambiente que se constituyen en “metas”. El hecho de asignar una meta a un organismo no hace alusión a procesos mentales sino a un objetivo que éste debe alcanzar como, por ejemplo, encontrar una pareja, un determinado hábitat o una fuente de alimento. La información que obtienen los organismos a través de sus sentidos es fundamental para guiar su locomoción hacia objetivos que a veces se encuentran distantes en el espacio. Todos los organismos de vida libre, desde mamíferos hasta bacterias, usan la entrada sensorial como guía y las distancias a recorrer pueden ser de unos pocos centímetros hasta miles de kilómetros.

La explotación de una determinada meta espacial por parte de un organismo puede ser subdividida en fases o etapas para facilitar su estudio. En este trabajo, nos basamos, principalmente, en la clasificación propuesta por Dusenbery (1992), aunque mencionamos los puntos de vista de otros autores para facilitar la explicación de los mecanismos propuestos.

La primera fase corresponde a la *búsqueda* de la meta, en la que el animal puede contar o no con información previa sobre su localización o sobre dónde es más probable encontrarla. En cualquier caso, si la búsqueda es exitosa, sigue la *detección* de la señal que provee información sobre esa meta. A la detección sigue la fase de *aproximación* y, una vez producido el contacto con la meta, puede ser necesaria la *confirmación* de su identidad. Los insectos muchas veces usan las antenas o las piezas bucales para confirmar la identidad de una fuente de alimento potencial. La etapa final es la de *consumación* que, en el caso de la búsqueda de alimento, consiste en la ingesta. La secuencia puede presentar distinta complejidad y número de etapas y en ocasiones, algunas etapas pueden ser completamente omitidas.

Se han propuesto varias estrategias de aproximación que pueden ser muy simples, como la orientación de las bacterias en un gradiente químico, o muy complejas, como el

caso de las abejas que usan el sol como un compás. Las distintas estrategias se diferencian en la presencia o no de un estímulo que permita acercarse a la meta, en la relación entre el estímulo y la meta, en la disponibilidad de información relativa a la dirección de la meta y en la especificidad del estímulo. La estrategia que utilice cada tipo de organismo depende de cómo se distribuye el estímulo en el ambiente y de las capacidades sensoriales de ese organismo.

En el caso de que exista un estímulo que el animal pueda utilizar, la relación entre ese estímulo y la meta puede ser compleja o simple. En el primer caso, la información que provee ese estímulo debe ser comparada con información adicional, generalmente adquirida con anterioridad. Si, en cambio, la relación es simple, la información adicional no es necesaria; los estímulos simples “guían” al animal hacia la meta ya que emanan de ella y forman un “campo” a su alrededor. En esos casos, para alcanzar la meta basta con que se mueva en contra del gradiente de intensidad formado dentro del campo del estímulo por medio de un mecanismo reflejo simple, o contra la dirección de movimiento del estímulo.

Las estrategias de aproximación guiada pueden subdividirse, a su vez, de acuerdo con la disponibilidad o no de información acerca de la dirección de la meta.

Si el animal no cuenta con esa información, se habla de una aproximación guiada indirecta o *kinesis*. Las *kinesis* comprenden respuestas no dirigidas que dependen de la intensidad o de cualquier cambio temporal en la intensidad de un estímulo.

En las *kinesis* la respuesta del animal no depende de la dirección del estímulo. Se trata de respuestas moduladas relacionadas con alguna expresión de la actividad. Se reconocen dos clases principales: la ortokinesis y la klinokinesis. La *ortokinesis* es el mecanismo por el cual la actividad locomotora es mayor o menor en función de la intensidad del estímulo. El ejemplo clásico es la variación de la velocidad de desplazamiento de los bichitos de humedad en función de la humedad relativa del ambiente. La *klinokinesis*, por otra parte, implica un cambio en la tendencia de giro del animal, es decir, que mantiene o cambia de rumbo con mayor amplitud o frecuencia en función de la intensidad del estímulo. Los ejemplos más conocidos son la respuesta a la luz de las larvas de dípteros y las mariposas siguiendo una pluma de olor. Otra clasificación de las *kinesis* es

la basada en la modalidad del estímulo (e.g., *quimiokinesis*, *fotokinesis*, etc.). Sin embargo, no profundizaremos en esta agrupación ya que no hace referencia al punto de nuestro interés, es decir, a los mecanismos de orientación.

Si se da el caso de que el animal cuenta con información que le permita girar en la dirección apropiada, la aproximación guiada se denomina directa o *taxia*. Las taxias se refieren a los movimiento orientados con respecto a la dirección de un estímulo o gradiente establecido. Estos desplazamientos se mantienen por medio de giros dirigidos que presentan un sesgo con respecto a la orientación del campo del estímulo.

Por otra parte, para que un organismo pueda determinar la orientación de un campo de estímulo, es necesario que mida la intensidad del estímulo en diferentes posiciones. Esta tarea se lleva a cabo a través de dos tipos de muestreo. El *muestreo simultáneo* se realiza a través de múltiples receptores ubicados en distintas partes de la superficie del cuerpo del animal. El organismo mide directamente el gradiente espacial comparando la intensidad en las diferentes posiciones al mismo tiempo. Por otra parte, el *muestro secuencial* se lleva a cabo con un único receptor que es movido de una posición a otra. El organismo mide directamente el gradiente temporal y luego infiere el gradiente espacial con la información de cómo fue movido el receptor.

De acuerdo con el tipo de muestreo efectuado, las taxias pueden clasificarse en klinotaxis, tropotaxis y telotaxis. La *klinotaxis* es una *taxia* resultante de las respuestas dirigidas a muestreos secuenciales de la intensidad o dirección de un estímulo. Es un mecanismo similar a la *klinokinesis* indicada más arriba pero difiere de ella en el hecho de que el animal determina la dirección del estímulo mediante un muestreo sucesivo con movimientos pendulares del cuerpo o a través de un cambio de dirección de desplazamiento. Otra diferencia consiste en que su respuesta no es un simple cambio en la actividad (frecuencia de giro), sino en la amplitud del giro, lo que resulta en una respuesta orientada (e.g., los giros en una dirección tienen mayor amplitud que aquellos en la dirección opuesta).

La *tropotaxis* es una *taxia* resultante de las respuestas dirigidas a muestreos simultáneos de la distribución espacial o direccional de un estímulo. Se trata de un

mecanismo por el cual el organismo integra entradas bilaterales (e.g., proveniente de las dos antenas o de los dos ojos) e intenta igualarlas para determinar la dirección de la fuente. Ante la privación de una de las entradas de información, la compensación no ocurre y el animal comienza a describir giros intentando alcanzarla.

En el caso de la *telotaxis*, cada uno de los órganos sensoriales bilaterales provee al animal suficiente información para la localización de la fuente y la falta de una entrada no dificulta la correcta orientación.

Las taxias, que como mencionamos, comprenden mecanismos de orientación en los que la respuesta del animal depende de la dirección del estímulo, pueden también ser clasificadas en función de la naturaleza del estímulo que las desencadena y guía (e.g., *termotaxis*, *quimiotaxis*, *fototaxis*, etc). Sin embargo, no nos referiremos a la clasificación basada en los mecanismos subyacentes.

Debemos destacar, finalmente, dos aspectos relevantes a cualquier clasificación o agrupamiento de los mecanismos de orientación. En primer lugar, estos mecanismos no siempre ocurren de manera rígida, asociados a una clave en particular. Un organismo puede emplear más de una modalidad durante su aproximación a una meta. En segundo lugar, existe en general una asociación entre la naturaleza del estímulo y el mecanismo involucrado. Por ejemplo, los estímulos discretos que emanan de una fuente puntual y que contrastan con el fondo (e.g., la luz) suelen estar asociados a mecanismos dependientes de la dirección. Por otra parte, los estímulos difusos que se dispersan por el aire y sufren turbulencias (e.g. olores) suelen evocar una modulación de la actividad o de la tendencia de giro.

El mecanismo de orientación en *T. infestans*

Los antecedentes provenientes de trabajos realizados en triatominos indican que las vinchucas se orientan básicamente por el calor emanado de sus hospedadores cuando éstos se encuentra en las cercanías. El comportamiento de aproximación a una fuente térmica fue descrito por primera vez en *R. prolixus* un insecto que muestra movimientos conspicuos de sus antenas durante la localización de un hospedador (Wigglesworth y Gillet 1934a). Estudios posteriores realizados en *T. infestans* enfrentada a una fuente artificial de calor

mostraron una secuencia de comportamientos similar (Lazzari y Núñez 1989b) que además es idéntica a la exhibida frente a un animal endotermo.

El comportamiento de la *T. infestans* se puede describir en términos de la clasificación presentada anteriormente aunque se desconoce el mecanismo de orientación involucrado. Cuando se enfrenta una vinchuca a una fuente térmica, el insecto usualmente *detecta* la fuente y se *aproxima* a ella. Si la fuente de calor es un hospedador, generalmente se *consume* el acto de alimentación.

Así, los insectos disponen de información que guarda una *relación simple* con la meta e indica la *dirección* en la que se encuentra. Esto se debe a que el calor es un estímulo que emana de la meta y forma un campo a su alrededor con características predecibles. Por lo tanto, de acuerdo con la clasificación propuesta, se puede afirmar que la vinchuca es guiada en forma directa por el estímulo hacia la meta. La orientación térmica de las vinchucas es, claramente, una respuesta dirigida, es decir, una *taxia*.

Los movimientos conspicuos de las antenas que despliegan las vinchucas estimuladas con calor sugieren que estos órganos sensoriales tienen una participación importante en la orientación (ver *DOS. Algunos aspectos del comportamiento de los triatomíneos: la clave térmica*). Las antenas bilaterales son clave para el muestreo que permite a los insectos aproximarse a la fuente térmica. La alta concentración de receptores sensoriales, entre ellos termorreceptores, apoya esta idea. En *CINCO. El papel de los receptores antenales en el sentido térmico*, demostramos que existe una especialización en la función termorreceptora, i.e., los termorreceptores antenales proveen la principal entrada térmica en *T. infestans* durante el reconocimiento de una fuente de alimento.

En este capítulo, presentamos experimentos en los que se estudió el papel de las antenas en la localización espacial de una fuente térmica en *T. infestans* en un intento de dilucidar el mecanismo de orientación involucrado en la búsqueda de un hospedador

Sección Experimental

Se realizaron dos experimentos. En ambos se compararon las trayectorias de aproximación de animales antenectomizados unilateralmente y controles hacia una fuente

de calor a la temperatura del cuerpo de un hospedador potencial. Los dos experimentos fueron llevados a cabo en condiciones muy similares pero variando el tamaño de la arena experimental usada en cada caso. El objetivo de trabajar con arenas de diferente tamaño fue poner la prueba la existencia de posibles diferencias en los mecanismos utilizados por los insectos ubicados a distancia y en cercanía de la fuente de calor.

En este contexto, de acuerdo con el mecanismo de orientación utilizado, los insectos deberían presentar distintas trayectorias hacia la fuente térmica. Si el mecanismo involucrado es la *telotaxis*, esperamos que la integridad de ambas antenas no sea un factor determinante de la correcta orientación mientras que si los insectos usan la *tropotaxis*, esperamos que sus trayectorias se vean afectadas por la falta de uno de los órganos bilaterales, por ejemplo, que los animales caminen en círculos.

Animales, materiales y métodos

Animales

Se utilizaron quince larvas de quinto estadio de *T. infestans*. A cinco insectos se les extirpó la antena derecha; a otros cinco les fue cortada la antena izquierda y cinco individuos control conservaron ambas antenas intactas. Todos los insectos fueron privados de la entrada de información visual (ver *CUATRO. El enfoque experimental y las manipulaciones: los animales y su preparación*). Los controles recibieron el mismo tratamiento que los insectos experimentales, excepto que no les fueron cortadas las antenas. Sólo se analizaron las trayectorias de los insectos que se dirigieron hacia la fuente y que extendieron la proboscis en su cercanía.

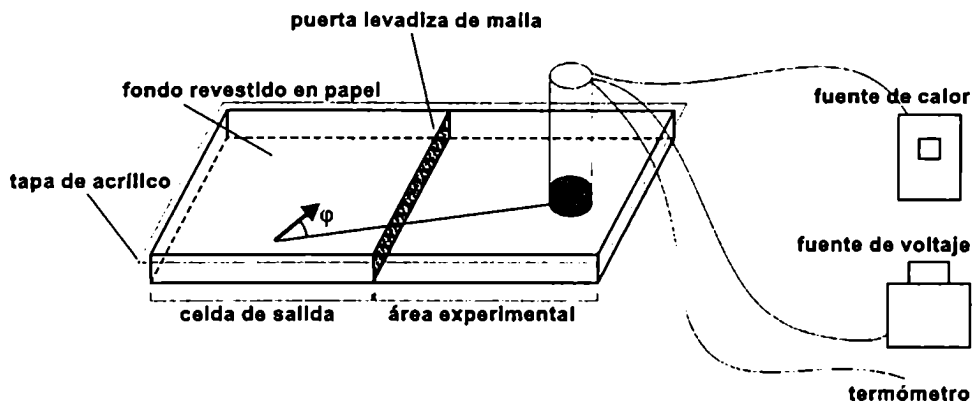
Primer experimento: Arena pequeña

Dispositivo

La arena pequeña consistía en una caja de acrílico transparente de 5 cm de ancho por 11 cm de largo y 1 cm de alto, dividida en dos secciones (de 6 y 5 cm de largo) por una puerta levadiza de malla metálica (**Figura Seis-1**). La puerta se mantenía cerrada hasta el comienzo de cada ensayo individual, impidiendo el desplazamiento del insecto que se

quería estudiar entre las secciones, pero no el pasaje de calor. La puerta se accionaba desde el exterior de la habitación por medio de un *relay*.

Figura Seis-1: Diagrama de la arena pequeña.



La arena contaba con una tapa corrediza, también de acrílico que protegía a los insectos de las corrientes de aire que suelen perturbarlos. En la tapa, sobre el área experimental, se practicó previamente un orificio de 2,5 cm de diámetro en donde se colocaba la fuente de calor. Ésta era un tubo de aluminio, de 6 cm de alto y 1,7 cm de diámetro, que se mantenía a una temperatura superficial de $34 \pm 0,1$ °C por medio de un dispositivo electrónico que incluía un termómetro termistor (ver *CUATRO. El enfoque experimental y las manipulaciones: las condiciones experimentales*). Debido a la escasa altura de la arena, sólo una pequeña porción del cilindro, exactamente 1,5 cm de alto, se encontraba expuesta a los insectos.

Entorno

La arena se encontraba sobre una mesada a una altura de 90 cm del piso y era iluminada por medio de un tubo fluorescente de 20 W ubicado a 70 cm sobre la arena. La temperatura de la habitación era de 23 °C. Los experimentos se realizaron siempre después de las 18 hs.

Procedimiento

En cada uno de los ensayos correspondientes a este experimento se analizaba una vinchuca en forma individual. Luego de que el insecto era colocado dentro de la celda de salida (ver **Figura Seis-1**), se deslizaba la tapa en su lugar y 1 minuto más tarde se colocaba la fuente térmica en el área experimental. El insecto podía recibir el calor a través de la puerta de malla, estando aún confinado en la celda de salida. A continuación se abría la puerta y, a partir de ese momento, se daba comienzo al ensayo y a la filmación. Con la puerta abierta el animal podía acceder al compartimiento en donde se encontraba la fuente.

El criterio para dar por terminado un ensayo fue que el animal extendiera la proboscis en actitud de picar, ocurriera esto en proximidad de la fuente o no.

Al finalizar el ensayo se retiraba al animal de la arena experimental y se procedía a registrar al siguiente, previo control de la temperatura de la fuente con el termómetro termistor.

Registro del comportamiento

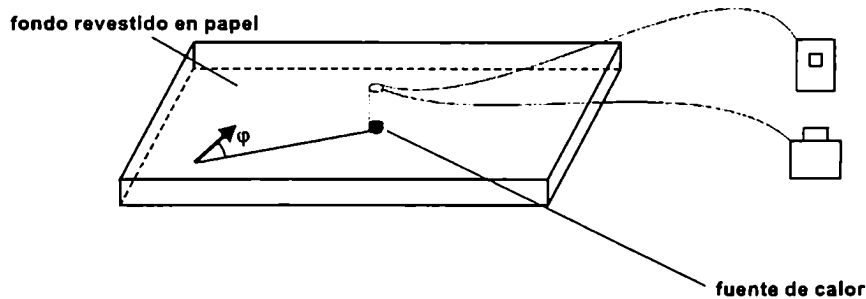
El ensayo fue filmado con una cámara de video colocada a 50 cm de la arena y monitoreado desde el exterior de la habitación (para más detalles sobre la filmación ver **CUATRO. El enfoque experimental y las manipulaciones: las condiciones experimentales**). El área filmada abarcaba las dos secciones de la arena experimental.

Segundo experimento: Arena grande

Dispositivo

La arena grande consistía en una caja abierta, con paredes de vidrio de una altura de 10 cm y una superficie de 80 x 100 cm, cuya base estaba revestida con papel blanco. En el centro de la arena se ubicaba la fuente de calor cilíndrica utilizada en el experimento en la arena pequeña (**Figura Seis-2**).

Figura Seis-2: Diagrama de la arena grande.



Entorno

La arena se encontraba ubicada en el piso, en el centro de una habitación iluminada con luz natural. Los ensayos se realizaban después de las 18 hs, por lo que la intensidad de luz era baja y disminuía con el tiempo.

Procedimiento

En este experimento se estudió un grupo de vinchucas en forma simultánea. Los insectos eran colocados bajo un vaso de precipitados invertido cerca de uno de los lados de la arena, donde permanecían cerca de 10 minutos. Posteriormente, el vaso era retirado y las vinchucas quedaban libres para desplazarse. Luego de transcurrido un período de media hora se encendía la fuente. Ésta se calentaba gradualmente, llegando a la temperatura de equilibrio en aproximadamente 20 minutos. El comportamiento de los insectos se filmaba durante la media hora siguiente.

Registro del comportamiento

El ensayo fue filmado con una cámara de video sensible a la luz infrarroja, con un sistema de iluminación propio de longitud de onda de alrededor de 900 nm, colocada en un trípode dentro de la arena. El área filmada era de 25 x 25 cm, con la fuente colocada en el centro de la imagen.

En ambos experimentos se filmaron los ensayos y las posiciones de los insectos fueron digitalizadas para la reconstrucción de las trayectorias. El proceso de digitalización

se explica en detalle en *CUATRO. El enfoque experimental y las manipulaciones: la adquisición y el procesamiento de los datos*.

Las posiciones sucesivas de los insectos fueron establecidas cuadro a cuadro (30 cuadros por segundo) en los experimentos realizados en la arena pequeña y cada 10 cuadros en la grande. A partir de esos datos, se analizaron los valores angulares de orientación del cuerpo respecto de la fuente, en relación con la distancia a la fuente.

Análisis de los datos

Las trayectorias de aproximación hacia la fuente de calor en los dos experimentos fueron reconstruidas y graficadas para los tres grupos experimentales: controles y antenectomizados del lado derecho e izquierdo.

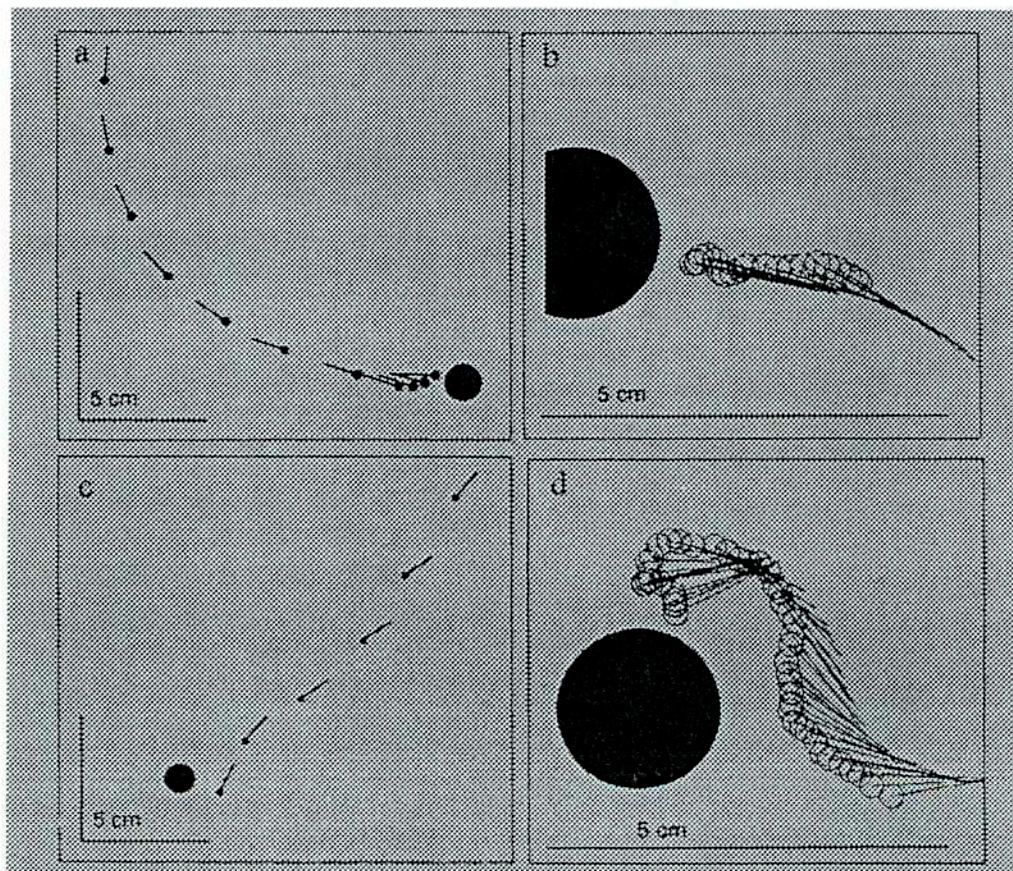
La posición del insecto en cada instancia se representó por medio de dos puntos: uno correspondiente al extremo anterior de la cabeza (cab) y el otro correspondiente al extremo posterior del cuerpo (col). Ambos puntos determinaban un vector e indicaban la orientación del eje longitudinal del cuerpo con respecto a la línea imaginaria formada entre el insecto y la fuente de calor (ángulo φ) (ver **Figura Seis-1** y **Seis-2** para la definición de φ en el *Primer y Segundo experimento*, respectivamente). El cálculo de las posiciones de los insectos libres se explica en detalle en *CUATRO. El enfoque experimental y las manipulaciones: la adquisición y el procesamiento de los datos*.

Resultados

Se estudio la orientación de insectos antenectomizados y controles hacia una fuente de calor en arenas de dos tamaños distintos. En el experimento realizado en la arena pequeña, en todos los casos y luego de pocos segundos, los insectos se dirigieron hacia la fuente. En el caso de la arena grande, hubo mayor dispersión de los insectos, pero la mayoría de ellos se acercó a la fuente a picar.

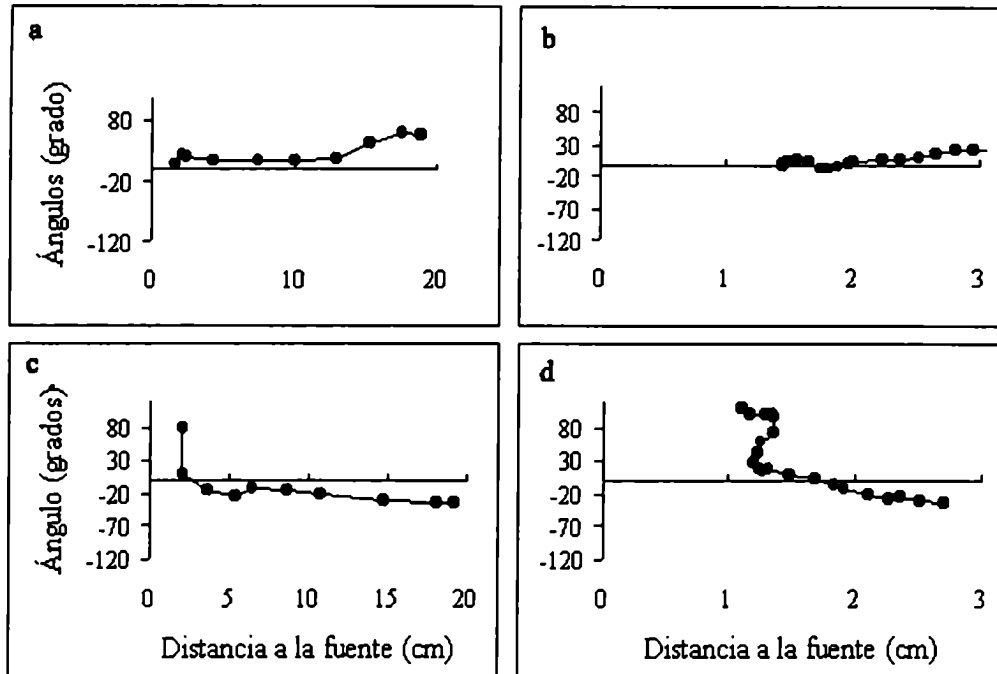
Tanto en los experimentos realizados en arenas grandes como en las pequeñas, los controles mostraron trayectorias relativamente rectas hacia la fuente (**Figura Seis-3 a y b**). Por el contrario, los animales antenectomizados unilateralmente siguieron trayectorias que se desviaban al llegar cerca de la fuente de calor. La desviación, indefectiblemente ocurría hacia el lado de la antena intacta (**Figuras Seis-3 c y d**).

Figura Seis-3. Trayectorias de insectos antenectomizados y controles hacia la fuente térmica. a) Insecto control (intacto) en una arena grande y b) en una arena pequeña. c) Insecto al que le falta la antena derecha en una arena grande y d) insecto al que le falta la antena izquierda en una arena pequeña. Los círculos negros llenos representan la fuente de calor. Las líneas representan el cuerpo del insecto, el pequeño círculo de la punta de las líneas representa la cabeza.



A pesar de las diferencias de tamaño entre las arenas, y, en consecuencia, de las distintas distancias que debían ser recorridas por los insectos para alcanzar la fuente de calor, las desviaciones, computadas como el ángulo de desviación φ , ocurrieron a una distancia relativamente constante de la fuente, alrededor de 15 mm entre el extremo anterior de la cabeza y la superficie de la fuente caliente (**Figuras Seis-4 c y d**). En otras palabras, φ no varió en forma proporcional a la distancia a la fuente térmica, es decir, en una forma gradual, sino en una forma bastante abrupta.

Figura Seis-4: Variación del ángulo ϕ con la distancia a la fuente. a) Insecto control en la arena grande y b) en la arena pequeña. c) Insecto sin la antena izquierda en la arena grande y d) en la arena pequeña.



Una vez alcanzada la fuente de calor, los animales antenectomizados usualmente extendían la proboscis ubicando el cuerpo en una posición tangencial respecto de la superficie curva de la fuente (Figuras Seis-3 c y d), siempre desviados hacia el lado de la antena intacta. En consecuencia, al intentar picar, la proboscis extendida no tomaba contacto con la fuente. La posición era muchas veces corregida en una instancia posterior, en general, luego de haberse producido algún contacto físico entre la fuente y alguna parte del cuerpo que solía ser la antena. Luego de realizar la corrección de la posición, el contacto entre la proboscis y la fuente ocurría normalmente.

Por otra parte, los animales controles siempre extendían la proboscis con el cuerpo en una posición perpendicular respecto de la fuente térmica, y siempre tomaban contacto con la fuente de calor en el primer intento (Figuras Seis-3 a y b).

Con respecto a la precisión en la localización de la fuente, en todos los casos, los insectos finalizaron su desplazamiento cerca de la fuente de calor. Sin embargo, se verificó

que, en los controles, la extensión de la proboscis estuvo siempre precisamente dirigida hacia la fuente y en consecuencia, ésta fue siempre “picada”. Por otra parte, las trayectorias de aproximación se dirigían claramente hacia la fuente del estímulo térmico.

Los insectos antenectomizados, por el contrario, en muchos casos, dirigieron la proboscis a sitios cercanos a la fuente y no específicamente hacia ésta. Incluso, hubo casos en que los insectos sin una antena pasaron cerca de la fuente pero picaron en algún sitio cercano.

Con respecto al contacto previo de las antenas con el objeto a picar, se observó que tanto los antenectomizados del lado derecho como los del lado izquierdo, extendían la proboscis en el momento de contactar algún objeto con la antena intacta. Los controles lo hacían en algunos casos, pero también se observaron algunos en que la extensión y dirección de la proboscis se realizaba sin contacto antenal alguno y en forma correcta. Estas observaciones se encuentran resumidas en la **Tabla Seis-I**.

Tabla Seis-I. Observaciones del comportamiento de insectos individuales antes y durante la extensión de la proboscis.

Antenectomía izquierda	Individuos	Distancia de desviación (mm)	Distancia de extensión (mm)	Contacto previo con las antenas	Objeto picado
	1	14	9	Con el papel	Papel
	2	15	6	Con el papel	Papel
	3	14	15	Con el papel	Fuente
Antenectomía derecha					
	4	13	5	Con la fuente	Fuente
	6	14	7	Con la fuente	Fuente
	9	15	6	Con la fuente	Fuente
	5	15	3	Con el papel	Papel
	7	16	6	Con el papel	Papel
	8	15	9	Con el papel	Papel
Controles					
	10	15	12	Con la fuente	Fuente
	11	16	9	Con la fuente	Fuente
	13	15	13	Con la fuente	Fuente
	12	14	11	No	Fuente

La distancia entre el extremo anterior del rostro y el objeto picado, en el momento inmediatamente previo a la extensión de la proboscis, fue variable y no hubo ningún tipo de relación aparente entre la falta de una de las antenas y este parámetro. Sin embargo, el pequeño tamaño de la muestra estudiada, no permite un análisis cuantitativo riguroso de este aspecto del comportamiento de los insectos.

Discusión

Wigglesworth y Gillet (1934a) analizaron la función de las antenas y el mecanismo de orientación hacia el hospedador en *R. prolixus* de acuerdo con las teorías vigentes en la época en que realizaron sus experimentos (Loeb 1918, Kühn 1919 y Fraenkel 1931 citados por Wigglesworth y Gillet 1934a). El análisis que realizan estos autores no coincide completamente con el presentado en este trabajo. A continuación presentamos las

coincidencias y diferencias entre nuestras interpretaciones y las expuestas en este trabajo clásico.

Análisis de las estrategias de aproximación

En nuestros experimentos, las trayectorias obtenidas a partir de insectos controles y antenectomizados muestran notables diferencias entre los dos grupos (**Figuras Seis-3a, b, c y d**) y confirman que, en *T. infestans*, la integridad de las antenas es esencial para adquirir la información que lleva a una correcta orientación hacia una fuente de calor.

Sobre la base de los resultados obtenidos y de acuerdo con la clasificación adoptada por Dusenbery (1992) y otros autores, el mecanismo involucrado en la evaluación de un hospedador potencial a distancias mayores de 1,0-1,5 cm sería la *telotaxis*. Este mecanismo permite la localización de la meta usando únicamente la información proveniente de uno de los órganos bilaterales en el que se encuentra un grupo de receptores. Las trayectorias exhibidas por los animales antenectomizados en experimentos realizados en arenas grandes pueden ser explicados por este mecanismo, ya que los caminos seguidos por los insectos controles y experimentales son ambos bastante rectos hacia la fuente, hasta que las vinchucas alcanzan una distancia de alrededor de 1,5 cm.

Sin embargo, cuando se encuentran más cerca de la fuente, la *telotaxis* ya no es capaz de explicar el comportamiento observado, i.e., un abrupto giro del cuerpo inmediatamente previo a la extensión de la proboscis. Esta desviación fue observada en animales privados de una de las antenas pero nunca en controles y siempre ocurrió hacia el lado de la antena intacta. Proponemos que la *tropotaxis* subyace a este comportamiento, considerando que este mecanismo requiere de la integración de la información obtenida en forma simultánea a través de los dos órganos bilaterales. La integración por *tropotaxis* predice que en un insecto antenectomizado, que recibe una mayor intensidad de estimulación en el órgano intacto, se produzca un giro del cuerpo hacia ese lado, buscando igualar la intensidad recibida en ambos órganos bilaterales.

En muchos animales que usan la *tropotaxis*, el giro lleva al movimiento en círculos cuando falta una de las antenas (Fraenkel y Gunn 1940 citado por Wigglesworth y Gillet

1934a). En nuestros experimentos no observamos insectos describiendo círculos, aunque sí bruscos giros en dirección a la antena intacta.

Como ya mencionamos, Wigglesworth y Gillett (1934a) realizaron experimentos similares a los expuestos en este trabajo con *R. prolixus* antenectomizados. Los resultados obtenidos fueron explicados en el marco teórico clásico de los mecanismos de orientación – que incluyen la tropotaxis y la telotaxis– propuestos por Kühn en 1919 (Wigglesworth y Gillett, 1934a).

En primer lugar los autores, para evaluar la utilización del mecanismo de tropotaxis, realizaron dos pruebas críticas. La primera consistió en extirpar uno del par de órganos bilaterales, con el objetivo de determinar si el animal se movía o no en círculos hacia el lado del órgano intacto. La segunda prueba consistió en enfrentar al animal intacto a dos fuentes de estímulo en forma simultánea –que en ese caso eran a la vez fuentes de calor y de olor– para establecer si el animal se dirigía hacia un punto intermedio entre las dos, como predice la teoría.

Rhodnius no describió círculos en la primera prueba sino que se dirigió hacia la fuente de estímulo, cualquiera fuera el lado en el que se encontrara. Los autores –que realizaron sus experimentos en condiciones comparables a nuestras arenas de tamaño pequeño– describieron una desviación gradual en las trayectorias de los insectos hacia el lado que conserva la antena intacta. También observaron que los insectos con una antena se dirigían hacia la fuente térmica ya sea que ésta estuviera del lado operado o del intacto y en algunos insectos observaron un giro abrupto. Por otra parte, en la segunda prueba, los insectos intactos se dirigieron hacia una de las dos fuentes térmicas, nunca hacia un punto intermedio.

Los autores descartaron entonces la tropotaxis y propusieron, para explicar sus resultados, que cada antena podría actuar como un órgano bilateral. En ese caso, las superficies derecha e izquierda determinarían el tono de las partes correspondientes del cuerpo de acuerdo con la llamada *hipótesis del tono* (Loeb 1918 citado por Wigglesworth y Gillett 1934a). Pero para sostener esa hipótesis se requiere la percepción de calor radiante, único capaz de proporcionar una estimulación diferencial a ambos lados de una antena ya

que el olor o el aire caliente no serían lo suficientemente direccionales. Los autores descartaron que *R. prolixus* respondiera a la radiación térmica (Wigglesworth y Gillet 1934 a y b) y, en consecuencia, también descartaron este mecanismo de aproximación.

Propusieron entonces la *telotaxis*, introducida por Khün, como el mecanismo de orientación en juego. Según Khün, por medio de la *telotaxis* el animal “fija” una de las fuentes de estímulo con sus órganos sensoriales y avanza hacia ella manteniendo una cierta región de su aparato sensorial estimulado. Una vez elegida una de las fuentes, descarta otras presentes en el ambiente. Wigglesworth y Gillet propusieron que las antenas, por ser estructuras móviles, pueden ser extendidas hacia cada dirección de giro y que la condición de máxima estimulación se daría cuando ambas antenas estuvieran extendidas hacia una de las dos fuentes de estímulo. Esta hipótesis predice que, en el experimento de las dos fuentes, el insecto intacto con las antenas extendidas de esa manera debería ir en línea recta a una de las dos fuentes, como se observa en *Rhodnius*, y no hacia un punto intermedio. Ese mecanismo también se puede describir como un “movimiento reflejo de seguimiento”, correspondiente al mecanismo de *telotaxis* propuesto por Khün, que consiste en una serie de reflejos encadenados en la que cada reacción está condicionada por la precedente. Este mecanismo explicaría los dos comportamientos observados.

Con respecto a la observación de que los insectos con una sola antena frecuentemente se inclinan hacia el lado del órgano intacto, los autores comentaron que “superficialmente” se parecería a la *tropotaxis*, pero lo explicaron de una manera alternativa. Argumentaron que, si el insecto normalmente sigue la antena dentro de la zona de donde proviene la estimulación más intensa, “no es sorprendente que en ausencia de una de las antenas se incline un poco hacia el lado donde está la otra”. Con respecto al giro brusco hacia la antena intacta, observado en el clímax de la respuesta, propusieron que se podría explicar por un abrupto aumento del tono muscular en uno de los lados del cuerpo (hipótesis del tono) o por un movimiento reflejo de seguimiento, pero no pudieron discernir entre ambos mecanismos.

Los experimentos presentados en este capítulo, realizados con *T. infestans*, basados en filmaciones de gran detalle con la imagen detenida y en análisis cuadro a cuadro de las

trayectorias, permitieron una observación más precisa del comportamiento de los insectos en las últimas instancias de orientación. Sugerimos que ambos mecanismos, la telotaxis y la tropotaxis están involucrados en la orientación a corta y larga distancia, respectivamente.

Se podría argumentar que las vinchucas son guiadas por un mecanismo único, que en la ausencia de una antena desviaría el rumbo de manera proporcional a la intensidad del estímulo *i. e.* a la distancia hacia el objetivo, como es observada en *R. prolixus*. Sin embargo, la desviación del rumbo correcto, como puede verse en las **figuras Seis-4c y 4d**, no ocurre durante toda la aproximación sino a una distancia fija (1,0-1,5 cm) del objetivo. Este resultado sugiere la existencia de un sistema de control que varía entre los dos mecanismos propuestos, telotaxis y tropotaxis, con un comando que cambia de uno a otro en función de la distancia a la fuente. Es decir, la orientación térmica hacia una fuente caliente es guiada por telotaxis hasta que el animal se encuentra a 1,5 cm de la fuente, distancia a la que la aproximación final al sitio a picar es asumida por un mecanismo tropotáctico que guía con precisión el punto de contacto con el cuerpo del hospedador.

SIETE. Los movimientos antenales frente a una fuente térmica

Introducción Teórica

Las antenas de los insectos proveen un soporte sobre el que se distribuyen numerosas sensilias receptoras. La movilidad de estos órganos sensoriales permite al animal recolectar información del medio que lo rodea sin cambiar de posición y a cierta distancia de su cuerpo. El tipo de información recibida depende de la cantidad y del tipo de sensilias que se encuentren en cada especie (Schneider 1964, Zacharuk 1984, Chapman 1998). Los movimientos de las antenas son controlados por medio de músculos que recorren los distintos artejos. La porción más distal de la antena, el flagelo, carece de músculos y es atravesado por un nervio que es puramente sensorial (ver *TRES. Las antenas de Triatoma infestans*).

Los trabajos realizados en *Rhodnius prolixus* en los que se analizó la función de las antenas en el sentido térmico permitieron concluir que estos órganos debían llevar los receptores sensoriales involucrados en la localización del hospedador (Wigglesworth y Gillett 1934a). En ese momento los autores pudieron describir sólo cuatro tipos de sensilias y les asignaron posibles funciones mecano, quimio y termorreceptora en base a criterios morfológicos y de abundancia (e.g., dado que las chinches son muy sensibles al calor, las sensilias más numerosas debían ser las termosensibles). Sin embargo, trabajos posteriores (Bernard 1974, Lazzari 1983, Lazzari 1990, Lazzari y Wicklein 1994) descubrieron que aquellos primeros autores en realidad no habían descrito los termorreceptores de los triatominos (ver *TRES. Las antenas de Triatoma infestans*).

En cuanto a los movimientos antenales, si bien no fueron cuantificados ni medida su amplitud, su descripción detallada en forma cualitativa apoyó también la idea de una función de las antenas en la detección de una fuente térmica por *R. prolixus* (Wigglesworth y Gillett 1934a).

En *T. infestans*, las sensilias más abundantes son las quimiorreceptoras y su mayor concentración se encuentra en la porción proximal del flagelo y en el pedicelo. También hay abundantes mecanorreceptores en el pedicelo y propioceptores en menor cantidad,

pero ubicados en lugares clave como las articulaciones entre los distintos artejos. Los termorreceptores se presentan en abundancia, sobre todo en el pedicelo y el flagelo proximal (ver *TRES. Las antenas de Triatoma infestans*).

Frente a una fuente térmica, *T. infestans* despliega movimientos característicos, similares a los descritos para *R. Prolixus* que, además, resultan idénticos a los exhibidos en presencia de un hospedador vivo (Lazzari y Núñez 1989 a y b). Más aún, en experimentos realizados para medir la respuesta a la radiación infrarroja en *T. infestans*, se observó que la frecuencia de movimientos antenales es mayor frente a una fuente a la temperatura de un hospedador potencial (i.e. 32°C) que frente a fuentes más calientes o más frías (i.e. 50 y 18°C). Además, la duración de la actividad locomotora es mayor cuando la fuente de infrarrojo está presente (Lazzari y Núñez 1989). Los experimentos de orientación descritos en *SEIS. El papel de las antenas en la orientación térmica*, realizados con animales antenectomizados y controles, confirman una función de las antenas en la orientación hacia una fuente de calor. En los insectos que carecen de una antena se produce un giro que determina que la proboscis sea extendida fuera de la fuente térmica. Esto refuerza la idea de que estos órganos están involucrados en la adquisición de información térmica referida a fuentes de alimento y sugiere que el calor participa en la “toma de decisión” de picar .

Aunque existe abundante información sobre los termorreceptores de insectos (ver *TRES. Las antenas de Triatoma infestans: los receptores sensoriales en insectos*) la adquisición activa de información térmica y su utilización en la orientación hacia fuentes potenciales de alimento no han sido estudiadas.

Los ensayos que se presentan a continuación fueron realizados con el propósito de caracterizar los movimientos antenales, un prerequisite para luego poder realizar un análisis funcional. Los movimientos de las antenas fueron descritos en relación con el patrón de locomoción de *T. infestans* en respuesta a la estimulación térmica. Con estos resultados intentamos establecer condiciones de estimulación que resulten adecuadas para experimentos posteriores.

Sección experimental

Se realizó un experimento en el cual se analizaron los movimientos antenales en los planos horizontal y vertical, así como la locomoción frente a fuentes a temperatura ambiente y a la de un hospedador.

Si los movimientos antenales cumplen la función de muestreo del ambiente en busca de un posible hospedador, esperamos que los insectos estimulados por la fuente térmica muevan más las antenas o presenten un patrón particular frente a la estimulación térmica. Con respecto a la locomoción, esperamos que los insectos caminen más rápido o caminen más tiempo para acercarse efectivamente a la meta.

Animales, materiales y métodos

Animales

Se utilizaron 10 larvas de quinto estadio de *T. infestans* con un ayuno cercano a los 30 días postecdisis. Los animales fueron privados de la entrada visual y a cada uno se le fijó un pequeño rectángulo de papel al tórax, del que serían suspendidos durante los ensayos de lazo abierto (ver CUATRO. *El enfoque experimental y las manipulaciones: los animales y su preparación*).

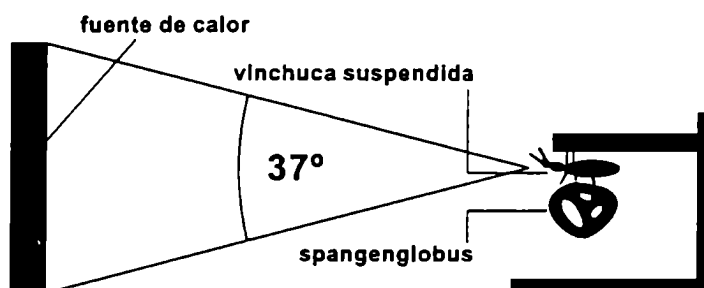
Dispositivo

Los experimentos se realizaron dentro de una arena que consistía en una caja de telgopor de 53 cm de largo x 30 cm de ancho x 23 cm de alto en la que se colocaba una fuente de calor. La fuente era una placa de aluminio de 10 x 10 cm mantenida a una temperatura de 34°C (experimental) o a temperatura ambiente (control). La placa, colocada a 15 cm del insecto, subtendía un ángulo de 37° (ver CUATRO. *El enfoque experimental y las manipulaciones: la adquisición y el procesamiento de los datos*). Una pantalla de telgopor aislante de 29 cm de ancho x 22 cm de alto se ubicaba por delante de la placa de manera que quedaba interpuesta entre la fuente térmica el insecto. La placa era retirada durante el período de ensayo de cada insecto y permitía la presentación y cese de la estimulación de manera rápida y controlada.

Durante los experimentos se colocaba una tapa de telgopor con ventanas removibles de acrílico por donde se observaba el comportamiento de los insectos o donde se colocaba la cámara para la filmación desde una perspectiva dorsal o lateral.

Los insectos, que en ambas condiciones (experimental y control) se estudiaban en forma individual, se encontraban suspendidos frente a la fuente de calor y sujetaban entre sus patas un tetraedro esférico como se describe en *CUATRO. El enfoque experimental y las manipulaciones: las condiciones experimentales* y en la **Figura Siete-1**.

Figura Siete-1. Esquema de la arena experimental que muestra la posición del insecto frente a la fuente térmica.



En estas condiciones, los insectos no podían acercarse a la fuente térmica, pero podían manifestar una tendencia a hacerlo. La velocidad de locomoción de los insectos en el lugar –medida como el número de pasos dados por el primer par de patas durante 1 minuto– se tomó como un indicador de la respuesta a la presencia de la fuente de estimulación.

Entorno

La arena se encontraba sobre una mesada a una altura de 90 cm del piso y era iluminada por medio de un tubo fluorescente de 20 W ubicado a 70 cm sobre la arena. La temperatura de la habitación era de 23°C. Los experimentos se realizaron siempre después de las 18 hs, al inicio de la escotofase, período de máxima actividad de los insectos (ver *DOS. Algunos aspectos del comportamiento de los triatominos: factores que afectan la distribución de las vinchucas*).

Procedimiento

Este experimento se realizó en condiciones de lazo abierto (ver *CUATRO. El enfoque experimental y las manipulaciones: las condiciones experimentales*), lo que permitió mantener constantes los parámetros de estimulación como la distancia o la intensidad de la radiación de la fuente de calor. En cada ensayo, se colocaba al insecto dentro de la arena. Luego de transcurridos 5 minutos de habituación a la situación experimental se desenmascaraba la placa, retirando la pantalla de telgopor. Transcurrido otro minuto, se procedía a registrar el comportamiento.

Registro del comportamiento

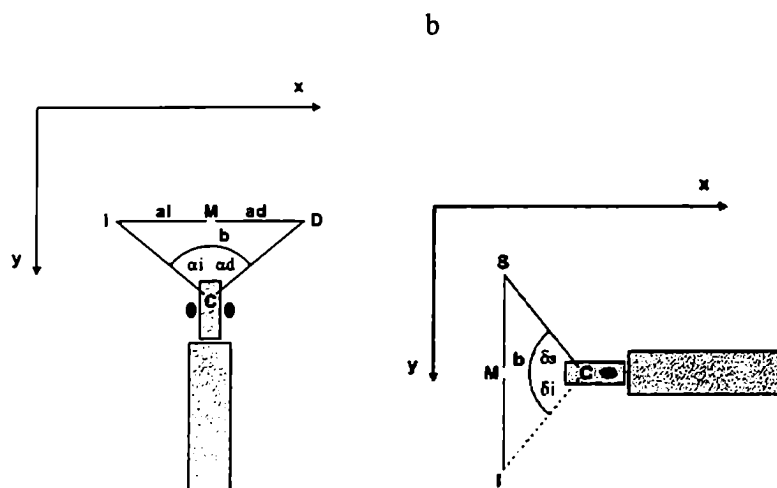
Cada registro se realizó durante un período de 1 minuto. Para caracterizar en detalle los movimientos antenales durante la estimulación, se filmó a los insectos en los planos horizontal y vertical.

Para el registro se utilizó una videocámara equipada con un lente “macro” y se digitalizaron las posiciones sucesivas de la cabeza y ambas puntas de los pedicelos de las antenas con un dispositivo diseñado *ad hoc* en nuestro laboratorio (ver *CUATRO. El enfoque experimental y las manipulaciones: la adquisición y el procesamiento de los datos*). Los movimientos en el plano horizontal y vertical fueron registrados filmando a los insectos desde una perspectiva dorsal o lateral, respectivamente. La misma filmación se utilizó para registrar el tiempo de locomoción y el número de pasos por unidad de tiempo.

Análisis de los datos

El análisis del componente horizontal de los movimientos antenales fue realizado computando los ángulos formados por cada una de las antenas y el plano sagital del cuerpo por medio de cálculos trigonométricos. Se definió α_d como el ángulo correspondiente a la antena derecha, α_i el correspondiente a la antena izquierda y $\alpha = \alpha_d + \alpha_i$, la suma de ambos (ver *CUATRO. Las manipulaciones experimentales: la adquisición y el procesamiento de los datos* y la **Figura Siete–2a**).

Figura Siete-2. Definición de los ángulos antenales en el plano horizontal (a) y vertical (b). En a) α_d es el ángulo formado entre la antena derecha y el plano medio M y α_i es el ángulo formado entre la antena izquierda y M. En b) δ_s es el ángulo formado entre la antena y plano medio M cuando la antena se encuentra por encima de M y δ_i es el ángulo formado entre la antena y M cuando la antena se encuentra por debajo de M.



Los movimientos verticales se registraron usando una segunda cámara de video colocada a un costado del insecto. Los ángulos verticales se calcularon de manera similar a los horizontales, con la diferencia de que sólo una de las antenas era tomada en cuenta debido a que no se podían tomar ambos órganos simultáneamente en foco. Por lo tanto, los ángulos evaluados eran los formados entre una de las antenas y el plano horizontal del cuerpo, ya sea que ésta se encontrara por encima o por debajo del plano (ver CUATRO. *Las manipulaciones experimentales: la adquisición y el procesamiento de los datos*).

Los ángulos positivos δ_s corresponden a posiciones angulares por encima del plano medio y los negativos δ_i corresponden a posiciones angulares debajo de este plano (Figura Siete-2b). Para la descripción de los movimientos antenales se analizaron seis insectos en forma individual.

La intensidad de la respuesta de los animales a la estimulación térmica se caracterizó utilizando tres variables: la frecuencia de movimientos antenales, el tiempo de

locomoción de los insectos y la velocidad de locomoción, medida como número de pasos por unidad de tiempo. El tipo de movimiento fue estudiado en relación con la presencia o ausencia de locomoción. Los resultados se compararon por medio de una prueba de Student. También se estudió la coordinación entre los movimientos de las dos antenas por medio de un análisis de correlación.

Resultados

Se estudió la respuesta comportamental de vinchucas privadas de la entrada de información visual frente a la estimulación térmica. Los insectos mostraron significativamente más movimientos antenales en presencia de una fuente a 34°C que al ser confrontados con la misma fuente a temperatura ambiente (21°C).

Con respecto a la actividad locomotora, no se encontró diferencia entre insectos controles y experimentales en cuanto al tiempo de locomoción, pero la velocidad fue significativamente mayor en los insectos estimulados con la fuente de calor (Tabla Siete-I).

Tabla Siete-I. Movimientos antenales y actividad locomotora

Temperatura de la fuente	Número de movimientos antenales	Número de pasos	Duración de la locomoción (segundos)
21° C (ambiente)	380,06 ± 52,40	81,79 ± 9,66	41,79 ± 4,09
34°C	496,1 ± 42,18	109,4 ± 9,90	48,84 ± 7,90
Prueba de Student	p = 0,005	p = 0,003	n.s.

La actividad locomotora se manifestó como una alternancia de tandas de locomoción y detención. Este tipo de movimiento fue descrito por Taneja y Guerin (1995) en condiciones experimentales diferentes, lo que sugiere que podría tratarse de un patrón de locomoción en las vinchucas.

Los períodos de actividad locomotora, de duración variable, eran seguidos por detenciones abruptas durante las cuales los insectos permanecían completamente

inmóviles o movían únicamente las antenas. La duración de las detenciones también fue variable y no ocurrió en forma regular. Sin embargo, las tandas de locomoción eran en general largas e interrumpidas por ocasionales detenciones más breves.

Durante las tandas de locomoción, las antenas se mantenían en permanente movimiento. Durante los cortos períodos de detención, las antenas o bien permanecían quietas o bien se movían, pero lo hacían con un patrón totalmente distinto al observado durante la locomoción. Nunca se observó un insecto que caminara con las antenas completamente fijas ni tampoco un insecto que moviera las antenas rítmicamente durante una fase de detención, lo que indica un cierto grado de acoplamiento entre los movimientos de las patas y de las antenas cuya análisis funcional haremos más adelante.

La marcada diferencia de movimientos antenales entre insectos en fase de detención y de locomoción nos llevó a realizar un análisis de las posiciones de las antenas en los planos horizontal y vertical en esas dos situaciones. Las antenas de *T. infestans* están formadas por un escapo, un pedicelo y un flagelo dividido en dos porciones (ver *TRES. Las antenas de Triatoma infestans*).

A pesar de que el flagelo carece de músculos, es suficientemente rígido como para no curvarse con el movimiento antenal. Así, cada antena se mueve como un todo, doblándose a la altura de la unión del escapo con su base, pero generalmente manteniendo las otras uniones sin flexionar. Sólo en casos excepcionales, por ejemplo cuando se toma a una vinchuca de las patas con una pinza o cuando el insecto deja caer el tetraedro y queda suspendido en el aire, las antenas se doblan por la otra unión con músculos, la del escapo con el pedicelo. Esto resulta en ángulos antenales muy grandes (alrededor de 180°), que en otras situaciones no se observan.

Movimientos antenales durante las fases de locomoción

Mientras el insecto camina, mueve las antenas en forma constante y rítmica, acompañando la locomoción. Los órganos ascienden y descienden, son extendidos hacia afuera y hacia adentro, en forma similar a la descrita para *R. prolixus* por Wigglesworth y Gillett (1934a).

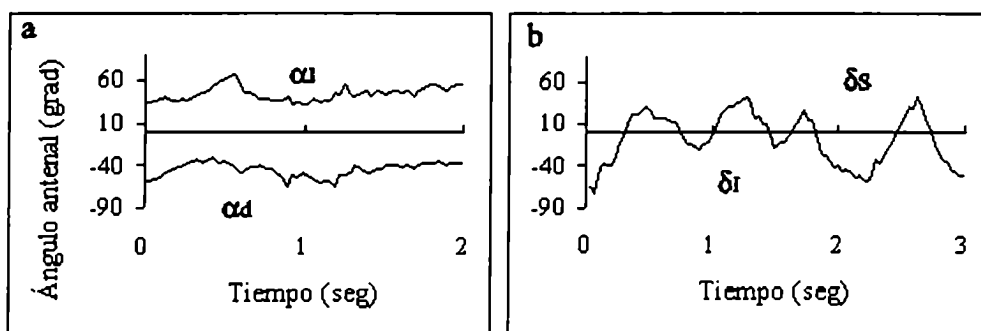
Las observaciones independientes de cada antena en el plano horizontal permitieron caracterizar valores angulares mínimos y máximos a niveles individual y poblacional (Tabla Siete–II). Estos valores permiten conocer la amplitud de movimientos que los insectos presentan en promedio y de su variación. La observación directa indica que cuando los insectos caminan, el ángulo formado entre las antenas en el plano horizontal se mantiene relativamente constante en comparación con los movimientos verticales que son muy amplios.

Tabla Siete–II. Amplitud de los movimientos antenales en el plano horizontal frente a un ángulo subtendido de 36.6°.

Amplitudes máximas y mínimas	α_d	α_l	α ($\alpha = \alpha_d + \alpha_l$)
Mínimo individual	15°	15°	50°
Máximo individual	75°	75°	120°
Media poblacional	43° ± 10	40° ± 10	83° ± 36° ES=1,39

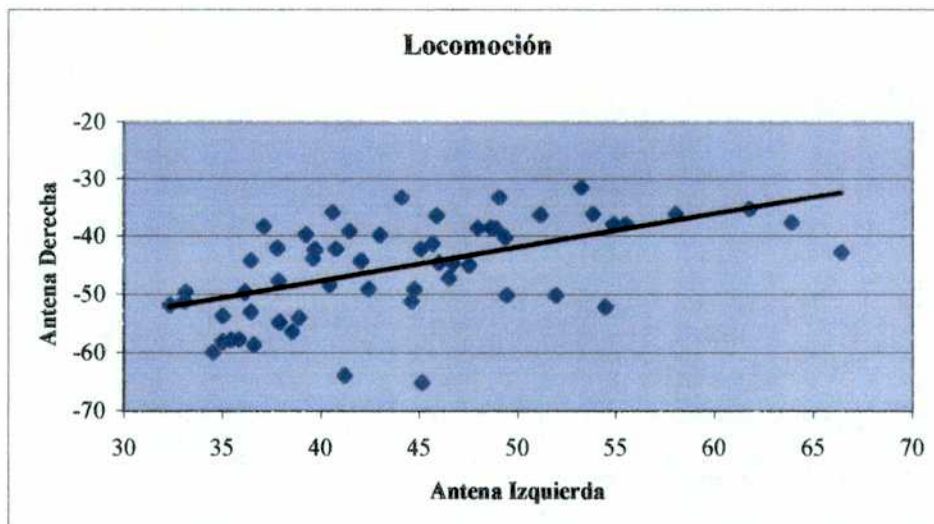
Un hecho interesante es que, a pesar de que las antenas podrían moverse en forma independiente, lo hacen mayormente en coordinación y en forma simultánea. Esto se hace evidente en los movimientos horizontales que se pueden observar en la secuencia de la Figura Siete–3a.

Figura Siete–3. Ejemplos de registros de los movimientos antenales de dos insectos diferentes en fase de locomoción. a) Movimientos antenales horizontales y b) verticales.



El análisis de correlación de las posiciones antenales en el plano horizontal durante la locomoción confirma una dependencia significativamente alta de la posición angular de una antena sobre la otra. En el análisis del insecto en movimiento, el valor del coeficiente de correlación r entre las dos antenas es de $-0,57$; $p < 0,0001$ (Figura Siete-4) lo que indica que las antenas se mueven en forma paralela, es decir, cuando una antena se acerca al plano sagital, la otra se aleja.

Figura Siete-4. Análisis de correlación entre los movimientos horizontales de la antena derecha e izquierda de una vinchuca en fase de locomoción.



Los movimientos en el plano vertical también se encuentran asociados con la actividad locomotora. Mientras el insecto camina, las antenas barren el espacio moviéndose constantemente hacia arriba y hacia abajo (ver Figura Siete-3b). La coordinación en el plano vertical para ángulos formados entre las dos antenas no pudo ser analizada debido a la imposibilidad de obtener imágenes en las que ambas antenas se encontraran en foco simultáneamente, como ya fue discutido en *Animales, materiales y métodos* en este capítulo. Sin embargo, la observación directa de los insectos mostró que los movimientos verticales pueden ocurrir simultáneamente o en una forma alternada, de la misma manera que los movimientos horizontales.

Los valores angulares obtenidos en el análisis descriptivo de los movimientos antenales se resumen en la tabla de la **Tabla Siete-III**.

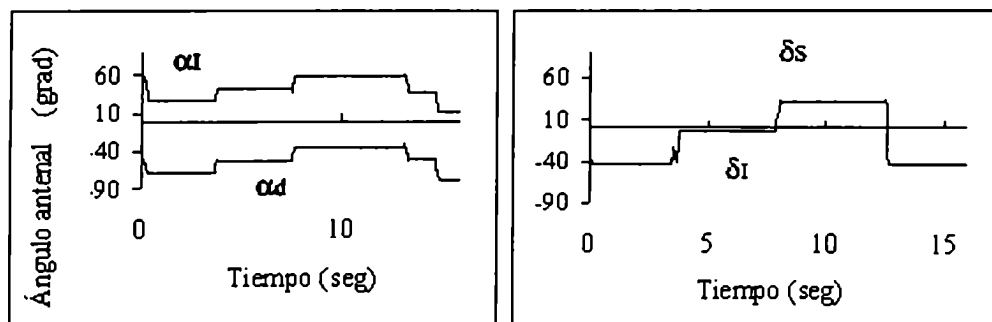
Tabla Siete-III. Amplitud de los movimientos antenales en el plano vertical.

Amplitudes máximas y mínimas	δ_s	δ_i
Mínimo individual	0°	0°
Máximo individual	94°	56°
Media poblacional	24° ± 17	20° ± 11

Movimientos antenales durante las fases de detención

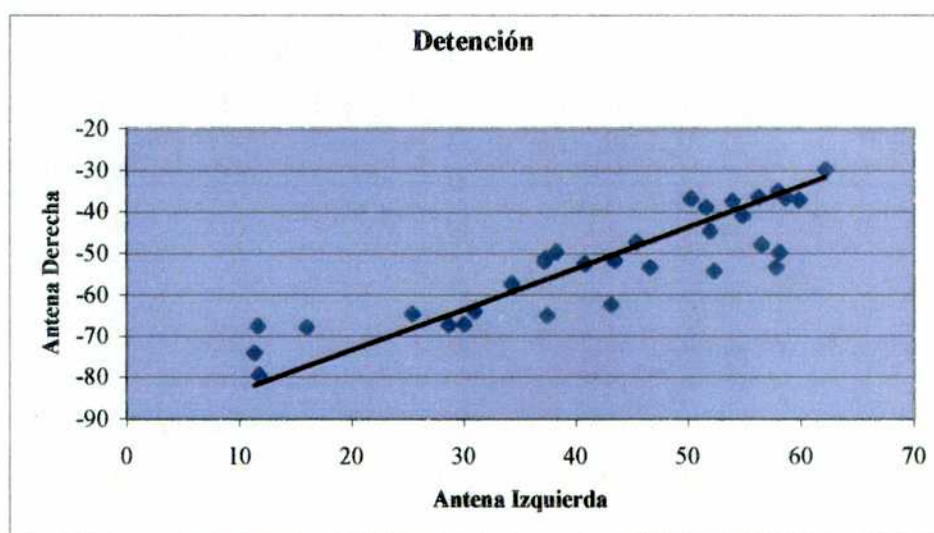
Cuando el insecto entra en una fase de detención, el patrón de movimientos antenales experimenta cambios dramáticos, tanto en el plano horizontal como en el vertical (**Figuras Siete-5 a y b**, respectivamente). El cambio se relaciona, principalmente, con el tipo de movimiento desplegado en cada caso y con su frecuencia. Los movimientos suaves observados durante las fases de locomoción son reemplazados por cambios bruscos de dirección durante los períodos de detención. Mientras que en las fases de locomoción, las antenas se mueven constantemente, durante las de detención los órganos pueden permanecer inmóviles por varios segundos, y luego moverse en forma simultánea y sacádica.

Figura Siete-5. Ejemplos de registros de los movimientos antenales de dos insectos diferentes en fases de detención. a) Movimientos antenales horizontales y b) verticales.



La coordinación entre los movimientos de las antenas en esta fase se puede observar en el plano horizontal **Figura Siete-5a**. El coeficiente de correlación r en este caso tiene un valor de $-0,98$; $p < 0.01$ (**Figura Siete-6**). Nuevamente, cuando una antena se acerca al plano sagital, la otra se aleja. Si comparamos este valor con el obtenidos para los insectos en movimiento (ver **Figura Siete-4**), se verifica que durante las fases de detención la interdependencia entre las antenas es aun más evidente.

Figura Siete-6. Análisis de correlación entre los movimientos horizontales de la antena derecha e izquierda de una vinchuca en fase de detención.



Discusión

El estudio de la respuesta comportamental de *T. infestans* a la estimulación térmica se realizó tomando como parámetros los movimientos antenales y la actividad locomotora desplegada por los insectos al ser enfrentados a una fuente térmica a temperatura ambiente y a la de un hospedador potencial. El análisis y cuantificación de los movimientos antenales reveló un patrón de movimientos claro y coordinado, tanto en el plano horizontal como vertical.

El aumento de la velocidad de locomoción y de la frecuencia de movimientos antenales en vinchucas estimuladas observados en nuestros experimentos confirma que los insectos, en estas condiciones, responden a la estimulación térmica de la misma

manera que la descripta para insectos libres (Lazzari y Núñez 1989). Este resultado permitió adoptar el diseño experimental de insectos suspendidos para ser usado en experimentos posteriores.

Por otra parte, el hecho que los insectos en presencia de una fuente de calor desplieguen movimientos antenales característicos, similares a los observados en presencia de un hospedador vivo, confirma la importancia de la clave térmica para la búsqueda de un hospedador y sugiere que estos patrones motores están involucrados en la adquisición activa de información relevante relacionada con la posición y características de una fuente potencial de sangre.

Cuando se estudiaron los movimientos antenales, las diferencias observadas entre los períodos de locomoción y de detención fueron muy llamativas. Mientras desplegaba actividad locomotora, *T. infestans* movía las antenas en forma suave y rítmica (**Figura Siete-3 a y b**), manteniendo ángulos horizontales bastante constantes. Antes del comienzo de una fase de locomoción y durante las fases de detención, los movimientos se transformaron en sacádicos, con cambios de dirección súbitos y abruptos (**Figura Siete-5 a y b**).

El estudio de los movimientos de las antenas en relación con el patrón de locomoción sugiere un cierto grado de acoplamiento entre la locomoción y la actividad antenal. En cuanto un insecto se pone en movimiento, también se ponen en movimiento las antenas y si bien durante las tandas de detención las antenas pueden estar quietas, cuando se mueven el patrón es muy diferentes al que se observa en el animal en movimiento. El patrón de movimiento antenal y de locomoción ha sido estudiado en otros insectos. En el bicho palo, por ejemplo, se han relacionado con un papel activo de las antenas en la detección de obstáculos. El contacto con un objeto podría provocar una adaptación del patrón locomotor (Dürr 2001). En este caso, la función de los movimientos antenales sería otra.

El patrón observado recuerda a las estrategias de “parar-evaluar-continuar” descritas para otros insectos, los cuales se detienen, muestrean el ambiente y continúan la marcha, manteniendo un curso dado, como la hormiga del desierto *Cataglyphis bicolor*.

Cuando se encuentra cazando sobre la plana superficie del desierto, esta hormiga detiene su marcha cada pocos segundos y despliega en el sitio conspicuos movimientos rotatorios alrededor del eje vertical del cuerpo y evalúa el patrón de polarización del cielo (Wehner 1989). Si bien *T. infestans* no muestra giros de todo el cuerpo, podría evaluar una amplia porción del entorno con sólo mover las antenas. Mientras camina, el curso elegido podría ser mantenido con sólo fijar el objetivo con las antenas. De hecho, durante la aproximación, la apertura antenal se mantiene relativamente constante para una misma fuente de estimulación. Como veremos más adelante, el ángulo antenal puede variar de acuerdo con otras propiedades de la fuente.

OCHO. Los movimientos antenales y la evaluación del tamaño de una fuente térmica

Introducción Teórica

Las antenas son órganos con una gran amplitud de movimientos voluntarios. Entre los diferentes artejos que componen las antenas, el escapo y el pedicelo están controlados por músculos que permiten movimientos de apertura y cierre en el plano horizontal y de ascenso y descenso en el plano vertical. Como ya mencionamos, las antenas de *T. infestans* son los órganos en donde se encuentran la mayor cantidad de receptores sensoriales (ver *TRES. Las antenas de Triatoma infestans*, Lazzari 1983 y Lazzari y Wicklein 1994).

Por otra parte, la frecuencia de movimientos antenales es alterada significativamente por la presencia de una fuente de calor. Durante las fases de locomoción, las antenas mantienen entre sí un ángulo bastante constante mientras que en las fases de detención presentan movimientos sacádicos de gran amplitud (ver *SIETE: Los movimientos antenales frente a una fuente térmica*). Estos resultados sugirieron que los movimientos antenales podrían ser utilizados activamente para evaluar las propiedades de una fuente térmica.

Experimentos realizados previamente en nuestro laboratorio demostraron que insectos privados de la entrada visual son capaces de responder a dos variables de la fuente de calor: la distancia y la temperatura (Lazzari y Núñez 1989). Los animales son capaces de reconocer y discriminar un objeto caliente de otros que estén a temperaturas diferentes. En este trabajo de Tesis hemos puesto en evidencia, además, que las vinchucas pueden estimar la distancia a la que se encuentran de una fuente de calor a partir de la información térmica únicamente. Esta conclusión surge de los resultados presentados en *SEIS. El papel de las antenas en la orientación térmica* ya que las vinchucas extienden la proboscis sólo cuando se encuentran a una distancia de la fuente que les permite picarla, aun cuando están privadas de la entrada visual.

En resumen, la evidencia experimental sugiere que las vinchucas son capaces de, a partir de información térmica, estimar la distancia y temperatura de una fuente potencial de alimento. La estimación de distancia podría llevarse a cabo a través de mecanismos relativamente sencillos. La estimación de la temperatura de la fuente, sin embargo, requiere integrar estas dos variables – cantidad de calor recibida y distancia – con una tercera: el área emisora de la fuente. La relación entre estas tres variables y sus implicancias para la orientación térmica serán discutidas en detalle en *NUEVE. Un mecanismo para el reconocimiento de una fuente térmica*.

Sin embargo, antes nos concentraremos en una pregunta que es clave en este contexto y de la que, al igual que la mayor parte de lo que hemos descrito en el presente trabajo, no existen antecedentes entre los insectos: ¿pueden las vinchucas estimar el área real o aparente de una fuente térmica?

Sobre la base de evidencia presente y pasada que indica que: 1- las antenas albergan una alta cantidad de receptores térmicos; 2- la posición de las antenas como un todo y de sus artejos entre sí es monitoreada a través de propioceptores de estímulos mecánicos y 3- las antenas son movidas activamente durante la orientación de las vinchucas hacia una fuente caliente siguiendo patrones particulares, planteamos la siguiente hipótesis: “Los movimientos y la posición de las antenas durante la orientación térmica están relacionados con la obtención activa de información relativa al área de una fuente térmica”.

En el presente capítulo ponemos a prueba esta hipótesis analizando cuantitativamente la posición de las antenas frente a fuentes de calor de distinto tamaño presentadas a distinta distancia.

Sección experimental

Se realizaron dos series experimentales en las que se estudió a los insectos en forma individual y en condiciones de lazo abierto (ver *CUATRO. El enfoque experimental y las manipulaciones*).

En la *Primera serie experimental* se analizó el ángulo promedio formado por las dos antenas durante la respuesta comportamental frente a fuentes de distinto tamaño,

presentadas a una misma distancia. En la *Segunda serie experimental*, se mantuvo constante el tamaño de las fuentes, pero éstas fueron colocadas a distinta distancia del insecto. Ambas series se relacionaron entre sí en el hecho de que bajo ambas condiciones (área variable y distancia variable) se mantuvieron constantes los ángulos subtendidos por las fuentes, es decir, su tamaño aparente desde la posición del insecto.

El razonamiento subyacente fue que si los movimientos de las antenas constituyen un mecanismo activo para la evaluación del área emisora, deberíamos poder constatar una variación en esos movimientos que se correlacione o bien con el tamaño real, o bien con el tamaño aparente de la fuente.

Animales, materiales y métodos

Animales

Se utilizaron 10 larvas de quinto estadio de *T. infestans* con un ayuno cercano a los 30 días postecdisis. Los animales fueron privados de la entrada de información visual y preparados para el ensayo en condiciones de lazo abierto como se describe en *CUATRO*. *El enfoque experimental y las manipulaciones: los animales y su preparación.*

Dispositivo

Los experimentos se realizaron dentro de una arena que consistía en una caja de telgopor de 53 cm de largo x 30 cm de ancho x 23 cm de alto. Las fuentes de calor eran placas de aluminio de tres tamaños distintos mantenidas a una temperatura de 34°C.

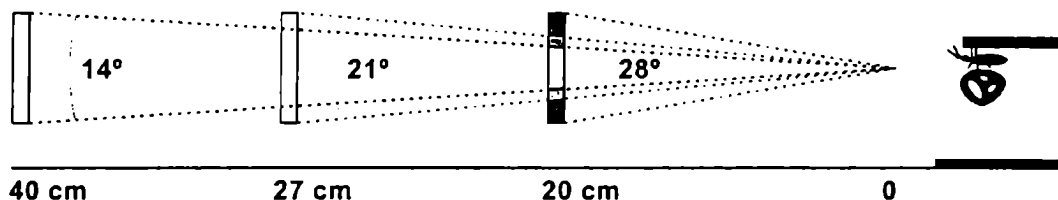
La distancia entre el insecto y la fuente de estimulación, fija durante cada ensayo, variaba entre ensayos según el protocolo experimental que se describe más adelante. En la primera serie experimental se usaron tres fuentes de calor de distinta área (cuadrados de 5; 7,5 o 10 cm de lado) colocadas a una distancia de 20 cm enfrente del insecto. En la segunda serie experimental se empleó una fuente cuadrada de 10 cm de lado, colocada a una de tres distancias (40, 27 y 20 cm). Estos arreglos, obtenidos variando el tamaño y la distancia, daban como resultado tres ángulos subtendidos diferentes ($\theta=14,25^\circ$; $21,2^\circ$ y $28,08^\circ$) (**Figura Ocho-1 a y b**).

Figura Ocho–1. Ángulos subtendidos por fuentes de calor de distinto tamaño o por una misma fuente de calor colocada a distintas distancias.

a)

Tamaño de una fuente colocada a 20 cm de distancia	Distancia a la que es colocada una fuente de 10 x 10 cm de área	Ángulo subtendido por la fuente de calor
5 cm de lado	40 cm	14,25°
7,5 de lado	26,7 cm	21,2°
10 cm de lado	20 cm	28,07°

b)



Entorno

La arena se encontraba sobre una mesada a una altura de 90 cm del piso y era iluminada por medio de un tubo fluorescente de 20 W ubicado a 70 cm sobre la arena. La temperatura de la habitación era de 23°C. Los experimentos se realizaron siempre después de las 18 hs.

Procedimiento

Las dos series experimentales se realizaron en dos días consecutivos. En cada ensayo se procedía de la siguiente manera: un insecto era suspendido dentro de la arena experimental. Una pantalla de telgopor aislante de 29 x 22 cm era interpuesta entre la fuente térmica y el insecto. Transcurridos 2 minutos la placa se retiraba y el insecto quedaba expuesto a la fuente térmica de una determinada área y a una determinada distancia durante otros 2 minutos durante los cuales se filmaban las antenas desde una

vista superior. Una vez terminado el ensayo, la pantalla se volvía a colocar frente a la fuente de manera de aislar al animal de la manipulación.

Luego de un segundo intervalo de 2 minutos sin estimulación, la fuente térmica era reemplazada por otra de diferente área o de la misma área pero colocada a una distancia distinta, según el diseño del experimento y siguiendo una secuencia aleatoria.

A continuación, se removía la pantalla aislante y se repetía el procedimiento para el mismo insecto. De esta manera, cada insecto era expuesto a tres situaciones experimentales distintas cada día, es decir, tres áreas o tres distancias dependiendo del experimento.

En ambas series experimentales, un mismo insecto era estudiado en forma individual y la secuencia de tratamientos era balanceada entre animales.

Registro del comportamiento

Como ya se mencionó, para el análisis de la respuesta de las antenas en el plano horizontal, los animales fueron filmados desde una vista dorsal en las diferentes condiciones experimentales. Las filmaciones fueron subsecuentemente digitalizadas cuadro a cuadro, utilizando el dispositivo descrito en *CUATRO. El enfoque experimental y las manipulaciones: la adquisición y el procesamiento de los datos*.

Análisis de los datos

La apertura antenal fue calculada computando el ángulo α formado entre las antenas en todos los cuadros en que ambas antenas estaban en el plano focal (para más detalles sobre el cálculo de los ángulos antenales, ver *CUATRO. El enfoque experimental y las manipulaciones: la adquisición y el procesamiento de los datos*). Para cada insecto se calculó el ángulo promedio obtenido en respuesta a cada tratamiento y se realizó un análisis de ANOVA de medidas repetidas.

A continuación, se compararon los ángulos antenales obtenidos frente a fuentes que subtendían el mismo ángulo a través de los dos métodos (variación de tamaño y variación de distancia), a través de una prueba de Student pareada.

Resultados

La respuesta de las vinchucas frente a la estimulación con fuentes térmicas que presentaban distintos ángulos subtendidos se estudió en dos series experimentales.

En la *Primera serie*, el ángulo α promedio fue cuantificado cuando los insectos eran estimulados por fuentes de 5; 7,5 o 10 cm de lado, a 34°C. El ángulo antenal promedio obtenido fue de $62,68^\circ \pm 1,45$ (ES); $68,05^\circ \pm 1,58$ (ES) y $74,09 \pm 1,5$ (ES), respectivamente (**Figura Ocho-2**, variación de tamaño). El análisis de ANOVA de medidas repetidas reveló diferencias altamente significativas entre los ángulos subtendidos frente a las distintos tamaño ($F= 9,59$; $p< 0,0001$, $gl= 2$ entre tratamientos; $gl = 24$ entre residuos, (**Tabla Ocho-I**). Las diferencias entre insectos fueron no significativas.

Figura Ocho-2. Ángulo de apertura antenal promedio para la población de insectos estudiada en función del ángulo subtendido por una fuente de tamaño fijo colocada a distintas distancias o fuentes de distintos tamaños colocadas a una distancia fija.

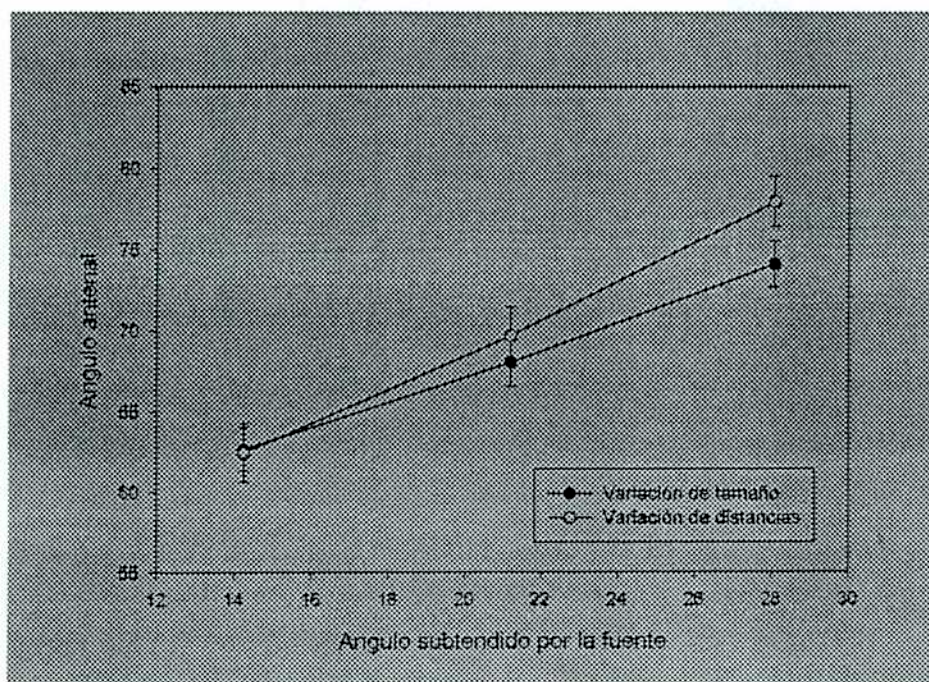


Tabla Ocho-I. Primera serie. Ángulo antenal frente a fuentes térmicas de distintas áreas.

Tamaño de la fuente	N	Ángulo subtendido por la fuente de calor	α medio
5 cm	8	14,25°	62,68 \pm 4,1 ° SE: 1,45
7,5 cm	8	21,2°	68,05° \pm 4,47 SE: 1,58
10 cm	8	28,08°	74,09° \pm 4,27 SE: 1,52

En la segunda serie experimental, el ángulo promedio α fue cuantificado cuando los insectos eran estimulados con una misma fuente térmica a una temperatura constante, pero colocada a 40, 27 o 20 cm del insecto. El ángulo promedio α fue 62,46° \pm 1,95 (ES); 69,7° \pm 1,87 (ES) y 77,97° \pm 1,66 (ES) respectivamente (ver **Figura Ocho-2**, variación de distancias).

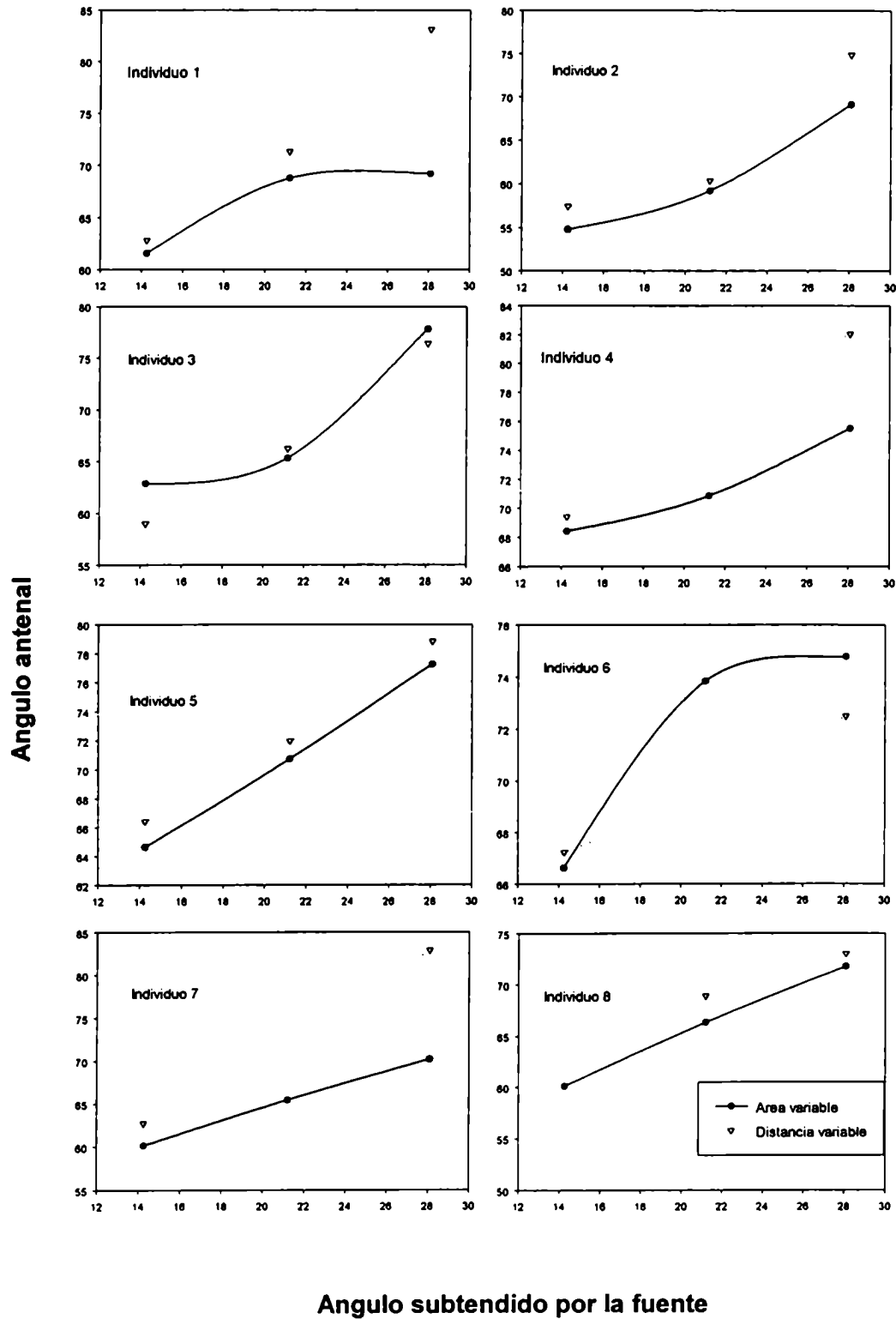
Los valores de los ángulos antenales obtenidos en respuesta a la estimulación difirieron significativamente entre sí ($F=16,66$; $p < 0,0001$, $df= [2$ entre tratamientos, 21 entre residuos) y resultaron mayores cuanto más cerca se encontraba la fuente térmica (**Tabla Ocho-II**). Las diferencias entre insectos fueron no significativas.

Tabla Ocho-II. Segunda serie. Ángulo antenal frente a fuentes térmicas ubicadas a distintas distancias.

Distancia	N	Ángulo subtendido por la fuente de calor	α medio
40 cm	9	14,25°	62,46° \pm 5,15 SE: 1,95
26,7 cm	9	21,2°	69,7° \pm 4,94 SE: 1,87
20 cm	9	28,08°	77,97° \pm 1,66 SE: 1,66

En la **Figura Ocho-3** se muestran ejemplos de los ángulos antenales de diferentes insectos frente a fuentes a distintos ángulos subtendidos obtenidos variando el tamaño o la distancia.

Figura Ocho-2. Ejemplos de insectos individuales. Apertura antenal en función del ángulo subtendido por una fuente de tamaño fijo a distintas distancias o fuentes de distinto tamaño a una distancia fija.



Discusión

La respuesta de las antenas de *T. infestans* frente a fuentes que subtenden distintos ángulos fue estudiada bajo condiciones experimentales controladas. Los resultados demuestran una relación clara entre el ángulo subtendido por la fuente térmica y la apertura antenal. Esta relación se manifiesta independientemente de la forma de establecer los distintos ángulos sólidos, i.e., variando la distancia a una fuente de tamaño constante o presentando fuentes de distinto tamaño a una distancia fija.

Estos resultados sugieren fuertemente que las antenas podrían desempeñar un papel activo en la estimación del área emisora aparente de una fuente térmica. Como ya mencionamos, las antenas llevan numerosos termorreceptores distribuidos en su superficie, además de mecanorreceptores propioceptivos en las articulaciones entre los diferentes artejos (ver *TRES. Las antenas de Triatoma infestans*).

Al mover las antenas, el animal expone distinta superficie y zonas de la antena al calor, lo que estimula cantidades variables de termorreceptores. Esta entrada sensorial es procesada por el sistema nervioso central. Por otra parte, los insectos cuentan con mecanorreceptores articulares que actúan como propioceptores y que podrían monitorear la posición de las antenas y de cada uno de sus artejos en forma permanente. Así, el insecto tiene dos entradas de información de distinta modalidad: la entrada térmica y la entrada mecánica que podrían converger en el sistema nervioso central. En ese caso, la información podría ser analizada en conjunto por medio de un proceso de integración multimodal.

La integración multimodal es un fenómeno conocido y consiste en la toma de información por órganos sensoriales funcionalmente diferentes, cuyas actividades neuronales están conectadas en algún punto de la vía sensorial. Si bien la interacción anatómica puede ocurrir en cualquier punto de la vía –a nivel del receptor, en neuronas ascendentes o descendentes, o incluso en motoneuronas (Horn 1985)–, la probabilidad de encontrar neuronas multimodales es mayor en centros nerviosos de orden superior.

En insectos, los órganos sensoriales multimodales están ampliamente distribuidos. Como ya mencionamos, muchas sensilias receptoras son sensibles a dos modalidades diferentes, como la temperatura y la humedad (ver *TRES. Las antenas de Triatoma infestans: los receptores sensoriales en insectos*). Sin embargo, la integración que nos interesa en este caso son las aferencias sensoriales provenientes de distintas sensilias.

En el caso de *T. infestans*, la convergencia multimodal de estímulos de los propioceptores y termorreceptores podría proveer una “imagen” del contorno de la fuente de calor que otorgaría al insecto información sobre el área de la superficie emisora.

El conocimiento del área aparente de la fuente térmica y la distancia a la que se encuentra esa fuente podría ser usado por las vinchucas para derivar, en primera instancia el tamaño o área emisora absoluta. Esta información, junto con la relativa a la distancia y la estimulación de los termorreceptores antenales completarían la información necesaria para estimar la temperatura de la fuente.

En *NUEVE. Un mecanismo para el reconocimiento de una fuente térmica*, se presenta un modelo que integra estas tres variables de la fuente de calor en un intento de explicar el comportamiento observado en *T. infestans*.

NUEVE. Un mecanismo para el reconocimiento de una fuente térmica

Introducción

En 1934, Wigglesworth y Gillet estudiaron el comportamiento de la vinchuca *R. prolixus* frente a fuentes de estimulación con características similares a las de sus hospedadores habituales. Los resultados mostraron que este insecto es atraído principalmente por el olor y por el calor que despiden los animales homeotermos de los que suele succionar sangre. Los movimientos característicos de las antenas que preceden a la localización de una fuente térmica sugieren que estos órganos son los principales responsables del sentido olfativo y térmico en las vinchucas y que participan en la localización de un hospedador en el ambiente (ver *DOS. Algunos aspectos del comportamiento de los triatomíneos*). El trabajo clásico de Wigglesworth y Gillet fue el punto de partida de esta Tesis.

Experimentos posteriores demostraron que la especie relacionada, *T. infestans*, es capaz de detectar fuentes de calor que se encuentran a la temperatura de un hospedador (Lazzari y Núñez 1989) y diferenciarlas de otros cuerpos calientes a distintas temperaturas (Lazzari 1990). Los movimientos antenales que despliega *T. infestans* frente a la estimulación térmica son similares a los descritos para *R. prolixus* y apoyan la idea de que estos órganos cumplirían una función activa en la búsqueda de un hospedador en ambas especies. El descubrimiento de varios tipos de termorreceptores antenales (Barth 1952, Lazzari 1983, Insausti et al. 1999) refuerza esta idea (ver *TRES. Las antenas de Triatoma infestans*).

En este contexto, en el que las vinchucas demuestran la capacidad de discriminar una fuente de calor de otras similares que difieren sólo en su temperatura, intentamos dilucidar el mecanismo por el cual llevan a cabo esta tarea.

En primer lugar, analizamos el papel de las antenas en la recepción de estímulos térmicos y la importancia relativa de sus termorreceptores en comparación con las termosensilias distribuidas en el resto del cuerpo (ver *CINCO. El papel de los receptores antenales en el sentido térmico*). Los resultados mostraron que si bien existe una especialización de la función de los termorreceptores antenales para determinados comportamientos –la elección de un microambiente donde permanecer

y la extensión de la proboscis para picar– la función de esos termorreceptores puede ser asumida por otros si transcurre tiempo suficiente. Sin embargo, cuando se recupera la función termorreceptora, el patrón de respuesta aparece alterado, i.e. los insectos recuperan la capacidad de orientarse en un gradiente térmico y de expresar una preferencia térmica, pero el valor de temperatura es varios grados mayor que aquel que muestran los insectos intactos. La entrada térmica, además, parece tener efectos fisiológicos que no estarían vinculados directamente con la sensación térmica (e.g. la alteración del patrón diario de actividad), lo que sugiere que la información térmica sigue varias vías con conexiones complejas.

Posteriormente, estudiamos el papel de las antenas durante la aproximación de las vinchucas hacia una fuente de calor así como el mecanismo de orientación involucrado (ver *SEIS. El papel de las antenas en la orientación térmica*). Los resultados demostraron que con sólo uno de estos órganos bilaterales los insectos pueden localizar una fuente térmica. Sin embargo, si bien a cierta distancia las trayectorias de aproximación de los insectos controles y los antenectomizados no difieren entre sí, en proximidad de la fuente –cuando se encuentran suficientemente cerca como para picar– los insectos a los que les falta una antena muestran una desviación marcada hacia el lado de la antena intacta y en su mayoría fallan en el primer intento de picar.

Este comportamiento permitió definir dos mecanismos de orientación involucrados en la localización de un hospedador, la *telotaxis* y la *tropotaxis*. Además, este experimento evidenció que los insectos, a pesar de estar libres y tener los ojos cubiertos, sólo extienden la proboscis cuando se encuentran a una distancia de 1,5 cm de la fuente térmica, aun cuando no han tenido contacto físico con la superficie caliente. Este resultado es interesante porque apoya la idea de que las vinchucas pueden estimar la distancia a la que se encuentra una fuente térmica sin contar con la entrada de información visual y en ausencia de contacto mecánico, es decir, usando sólo el calor que emana la fuente.

Los resultados obtenidos derivaron en un estudio más detallado de la dinámica de los movimientos antenales y su posible conexión con el patrón de actividad locomotora (ver *SIETE. Los movimientos antenales frente a una fuente térmica*). Se analizaron entonces los desplazamientos de las antenas en el plano horizontal y vertical en busca de patrones asociados con la locomoción. Los insectos estudiados

revelaron una patrón de movimientos que difiere consistentemente entre las fases de locomoción y de detención (Flores y Lazzari 1996). Mientras los insectos están detenidos, los movimientos antenales son sacádicos, de amplitud variable y carecen de un ritmo característico. En las fases de locomoción, por el contrario, las antenas se mueven suavemente, acompañando el movimiento de las patas, y mantienen un ángulo de apertura relativamente constante.

En otros insectos, en los que las antenas son usadas como órganos táctiles, se observó un patrón de locomoción en el que se presenta un acoplamiento de los movimientos de las antenas y de las patas (Dürr et. al. 2001). En el caso de *T. infestans*, la diferencia entre los movimientos antenales durante las etapas de detención y de locomoción sugirió una nueva interpretación de la función de los movimientos antenales. Durante la búsqueda de alimento, los insectos se detendrían con cierta frecuencia y realizarían un muestreo del ambiente con movimientos antenales amplios y sacádicos. Una vez detectada una fuente de calor, las vinchucas caminarían hacia ella, desplegando movimientos suaves y manteniendo una apertura antenal relativamente constante, como si de alguna manera “fijaran el objetivo”.

Así, las antenas parecerían ser usadas para 1) “medir” las discontinuidades térmicas y localizar una fuente de calor en el espacio y 2) para mantener un curso de aproximación hacia ella. Si este razonamiento fuera correcto, el ángulo antenal podría presentar alguna relación con los bordes de contraste térmico entre la fuente y el fondo, o sea con el ángulo sólido subtendido por la fuente térmica en la posición del insecto.

Para poner a prueba esta hipótesis, realizamos un experimento en el que se analizó el ángulo de apertura antenal en función del ángulo subtendido por distintas fuentes de calor (ver *OCHO. Los movimientos antenales y la evaluación de una fuente térmica*). Los distintos ángulos subtendidos eran establecidos de dos maneras: o bien variando el área emisora de la fuente térmica o bien modificando la distancia a la que se encontraba esa fuente. En los dos casos se observó una correlación positiva significativa entre el ángulo antenal y el ángulo sólido subtendido en las distintas condiciones experimentales. Se comprobó que el ángulo formado entre las antenas aumenta consistentemente con el aumento del área aparente de la fuente en la posición del insecto. Estos resultados apoyaron la idea de que las vinchucas tienen la capacidad de estimar el área emisora de una fuente de calor.

Como mencionamos en la discusión de ese experimento, esta capacidad, junto con la posibilidad de estimación de distancias, explicaría la habilidad observada en estos insectos de discriminar una fuente a la temperatura de un hospedador potencial de otras que difieren sólo en su temperatura (Lazzari y Núñez 1989, Lazzari 1990 y OCHO. *Los movimientos antenales y la evaluación de una fuente térmica*).

Sobre la base de estos resultados, planteamos un modelo que intenta explicar el mecanismo por el cual las vinchucas reconocen a sus hospedadores utilizando sólo el calor emitido.

Hacia un mecanismo de reconocimiento de la fuente térmica

Para analizar el mecanismo que las vinchucas podrían estar utilizando para diferenciar una fuente térmica de otras presentes en el ambiente a partir de su temperatura debemos primero identificar qué información sobre esa fuente están capacitadas para recibir, y si esa información resulta relevante.

Las vinchucas cuentan con termorreceptores sensibles al calor, un estímulo que evidentemente aporta información sobre la fuente térmica. Por esta razón, y por haber demostrado ser el único necesario y suficiente para desencadenar la respuesta de picar, el calor es el principal candidato a ser la clave utilizada.

El calor emitido por una fuente térmica depende de distintas variables, entre ellas la temperatura, el tamaño, el material del que está hecha y la distancia a la que se encuentra del receptor de calor.

Con respecto a la primera variable, cuanto mayor es la temperatura, mayor es la cantidad de calor emitida. Algo similar ocurre con el tamaño, la cantidad de calor emitida aumenta con el aumento del tamaño del área emisora. También existe una relación entre la cantidad de calor y la distancia entre la fuente y el receptor: cuanto menor es la distancia a la fuente, mayor es la cantidad de calor que llega al receptor. Finalmente, el material que forma la superficie emisora de calor influye también en la emisividad térmica de esa fuente (ver *Anexo I. Algunos conceptos sobre la física del calor: leyes de la radiación*).

La cantidad de calor, el área y la distancia son parámetros que se pueden conjugar de manera que fuentes que varíen simultáneamente en más de uno de ellos pueden “engañar” al receptor: una fuente distante –o pequeña– a una alta temperatura produce el mismo calentamiento local que una fuente más grande –o más próxima– a

una temperatura menor. La evidencia experimental previa a este trabajo indica fuertemente que las vinchucas son capaces de discriminar entre estas alternativas.

Los termorreceptores son sensibles a la cantidad de calor que desencadena una respuesta eléctrica de las sensillas termorreceptoras. Esa información es transmitida y procesada en el sistema nervioso central (ver *TRES. Las antenas de Triatoma infestans*). Como consecuencia de las distintas maneras en que se pueden combinar los parámetros de la fuente para producir un mismo resultado, la cantidad de calor por sí sola no resulta un estímulo inequívoco y no aporta información suficiente al insecto para decidir si un cierto cuerpo caliente representa o no una fuente de alimento.

Sin embargo, si a partir de la información que brindan los termorreceptores las vinchucas pudieran estimar el tamaño de la fuente y la distancia a la que se encuentra, entonces podrían derivar finalmente su temperatura. Esta es, sin duda, la variable más importante para decidir si una fuente térmica resulta lo suficientemente interesante para orientarse hacia ella. Una fuente muy caliente o muy fría se puede descartar inmediatamente si el intervalo de temperaturas posibles de un hospedador es conocido por la vinchuca.

Llegado a este punto, surge la pregunta de cuál o cuáles de las tres variables – *distancia, área y temperatura*– están capacitados los insectos para evaluar y a través de qué mecanismo lo hacen.

Estimación de la distancia

Varias evidencias comportamentales sugieren que las vinchucas pueden estimar la distancia de una fuente térmica sólo a partir del calor emitido por esa fuente. Si bien esas evidencias son indirectas, no dejan lugar a duda de que esa capacidad existe. Como ya mencionamos (ver *SEIS. El papel de las antenas en la orientación térmica*), las vinchucas privadas de la entrada de información visual extienden la proboscis cuando se encuentran a una distancia de alrededor de 1,5 cm de una fuente a la temperatura adecuada. Una fuente a la temperatura de un hospedador ubicada a una distancia mayor no desencadena la extensión de la proboscis; una fuente lo suficientemente cerca pero a una temperatura fuera del intervalo adecuado (i.e., el correspondiente a las temperaturas de un hospedador) tampoco desencadena la respuesta de picar (Lazzari 1990).

Las vinchucas podrían estimar la distancia a una fuente térmica por diferentes mecanismos. Una posibilidad es que sigan el gradiente de temperatura que se forma entre la fuente de calor y la posición en la que se encuentran ya que la energía calórica recibida disminuye en forma no lineal, con el cuadrado de la distancia a la fuente.

Si bien este es un mecanismo posible, se ha observado que vinchucas suspendidas del tórax son capaces de estimar distancias y reponder de acuerdo con la temperatura de la fuente (Lazzari y Núñez 1989 y *CUATRO. El enfoque experimental y las manipulaciones: las condiciones experimentales*). Como ya mencionamos, a pesar de que las vinchucas se orientan hacia la fuente térmica cuando ésta se encuentra a la temperatura del hospedador, no intentan picarla si no la pueden alcanzar (Lazzari y Núñez 1989, Lazzari 1990). En la situación experimental de estimulación a lazo abierto, los insectos se encuentran a una distancia fija, caminando sobre el *Spangenglobus*. Al no poder aproximarse a la fuente, no cuentan con la posibilidad de medir el cambio (en este caso el aumento) de la temperatura o cantidad de calor con la variación de la distancia.

Una alternativa es que los insectos realicen un barrido del ambiente con las antenas y comparen entradas sucesivas o simultáneas por triangulación. Cuando las vinchucas se encuentran frente a una fuente de calor, los movimientos antenales de apertura provocan un alejamiento de las antenas de la fuente mientras que los de cierre provocan un acercamiento. Esta pequeña diferencia de distancias entre una y otra posición de las antenas podría aportar suficiente información como para estimar cuán lejos o cerca está la fuente. Sin embargo, los movimientos antenales de los animales suspendidos no parecen ser lo suficientemente amplios en relación con las distancias a la fuente utilizadas (Lazzari y Núñez 1989, Lazzari 1990) como para que se pueda llevar a cabo esta tarea.

Finalmente, las vinchucas podrían estimar la distancia a la fuente térmica por diferencia de calentamiento entre dos puntos del cuerpo, i.e., entre la cabeza y el extremo posterior del abdomen (los puntos más alejados). De las posibilidades mencionadas, consideramos que la última es la que explica más consistentemente nuestros resultados.

Esta afirmación está apoyada en dos hechos: 1) los termorreceptores no están restringidos en su distribución a las antenas y 2) si los termorreceptores extraantenas son capaces de asumir la función de aquellos localizados en las antenas (ver *CINCO*.

El papel de los termorreceptores antenales en el sentido térmico), no es ilógico pensar que, en condiciones normales, la entrada de aquellos sea integrada con la de éstos.

Estimación del área

La estimación del área es un requerimiento para que las vinchucas puedan diferenciar fuentes térmicas a distintas temperaturas sólo a partir del calor recibido. Los experimentos realizados en *OCHO. Los movimientos antenales y la evaluación del tamaño de una fuente térmica* evidencian una relación entre el ángulo mantenido por las antenas y el tamaño aparente de la fuente térmica, la que sugiere un mecanismo de estimación del área.

Para otros sistemas sensoriales, típicamente el sistema visual, la estimación del tamaño real de un objeto se basa en la integración de su tamaño aparente con, o bien una referencia almacenada en la memoria, o bien con la distancia a que se encuentra el objeto. Éste último es un mecanismo posible para las vinchucas. Por medio de triangulación o barrido con las antenas las vinchucas podrían detectar las discontinuidades térmicas. La medición de la superficie radiante estaría dada por la apertura antenal. Los propioceptores antenales brindarían al sistema nervioso central, por convergencia multimodal, una imagen del contorno de contrastes de la fuente en el espacio, o sea de su tamaño aparente. Relacionando el área aparente con la distancia, el área real de la fuente podría ser finalmente “calculada”.

Estimación de la temperatura

Los resultados experimentales obtenidos no dejan lugar a duda de la capacidad de las vinchucas de estimar la temperatura (Lazzari y Núñez 1989, Lazzari 1990). Para llevar a cabo esta tarea es necesario, en principio, conocer la cantidad de calor recibida a nivel de los termorreceptores (ver *TRES. Las antenas de Triatoma infestans: los receptores sensoriales en insectos*). El calor podría alcanzar los receptores por cualquiera de los mecanismos que reconoce la física para el intercambio de calor entre dos cuerpos, i.e., conducción, radiación y convección (ver *Anexo I. Algunos conceptos sobre la física del calor: la transferencia de calor*). Como ya mencionamos, a partir de esa información, junto con la de del tamaño de la

fuentes y de la distancia a la que se encuentra permitiría derivar finalmente su temperatura.

El calentamiento local a nivel de los termorreceptores también podría ser provocado por la radiación térmica. Esta última posibilidad, como veremos, no implica la existencia de un receptor específico de radiación IR.

En cualquier caso, la cantidad de calor recibida debe ser mayor que el valor umbral del receptor. La sensibilidad de las vinchucas a la radiación térmica fue calculada a partir de la respuesta comportamental a fuentes a distintas temperaturas y por medio del uso de filtros que dejaban pasar distintos porcentajes de radiación. Los valores obtenidos revelaron un umbral de sensibilidad de $3,3 \times 10^{-6}$ Watt cm^{-2} (recalculado de Lazzari 1990). De acuerdo con este cálculo, esta energía, que es la mínima necesaria para estimular al receptor antenal, produciría un aumento de la temperatura local de menos de $0,004^{\circ}\text{C}$.

Estos valores revelan una alta sensibilidad térmica en las vinchucas. Los valores conocidos para otras especies en las que fue demostrada la percepción de IR son 6×10^{-5} Watt cm^{-2} para *Melanophila acuminata* (Evans 1966a) y 8×10^{-5} Watt cm^{-2} para las boas (Hartline 1974). De acuerdo con estos cálculos, las vinchucas serían los animales con mayor sensibilidad térmica conocida hasta el momento.

Ensayos comportamentales realizados en *T. infestans* frente a fuentes de calor indican que las vinchucas podrían percibir el calor irradiado por un disco de 20 cm de diámetro (asimilable a una cara humana) a una distancia de 2,27 metros y el de un disco de 10 cm de diámetro (asimilable a una mano) a 1,13 m (Lazzari 1990).

La integración de la información

Un modelo posible

Si asumimos que las vinchucas pueden, a partir de la información térmica recibida, estimar el área y la distancia y, conociendo estas variables, derivar la temperatura, debemos considerar cómo puede ser integrada esta información de manera de llegar a un resultado que permita catalogar a la fuente térmica como un potencial hospedador o descartarla.

En principio, las entradas de información térmica y mecánica podrían, por medio de la integración multimodal, aportar a la evaluación de la superficie radiante.

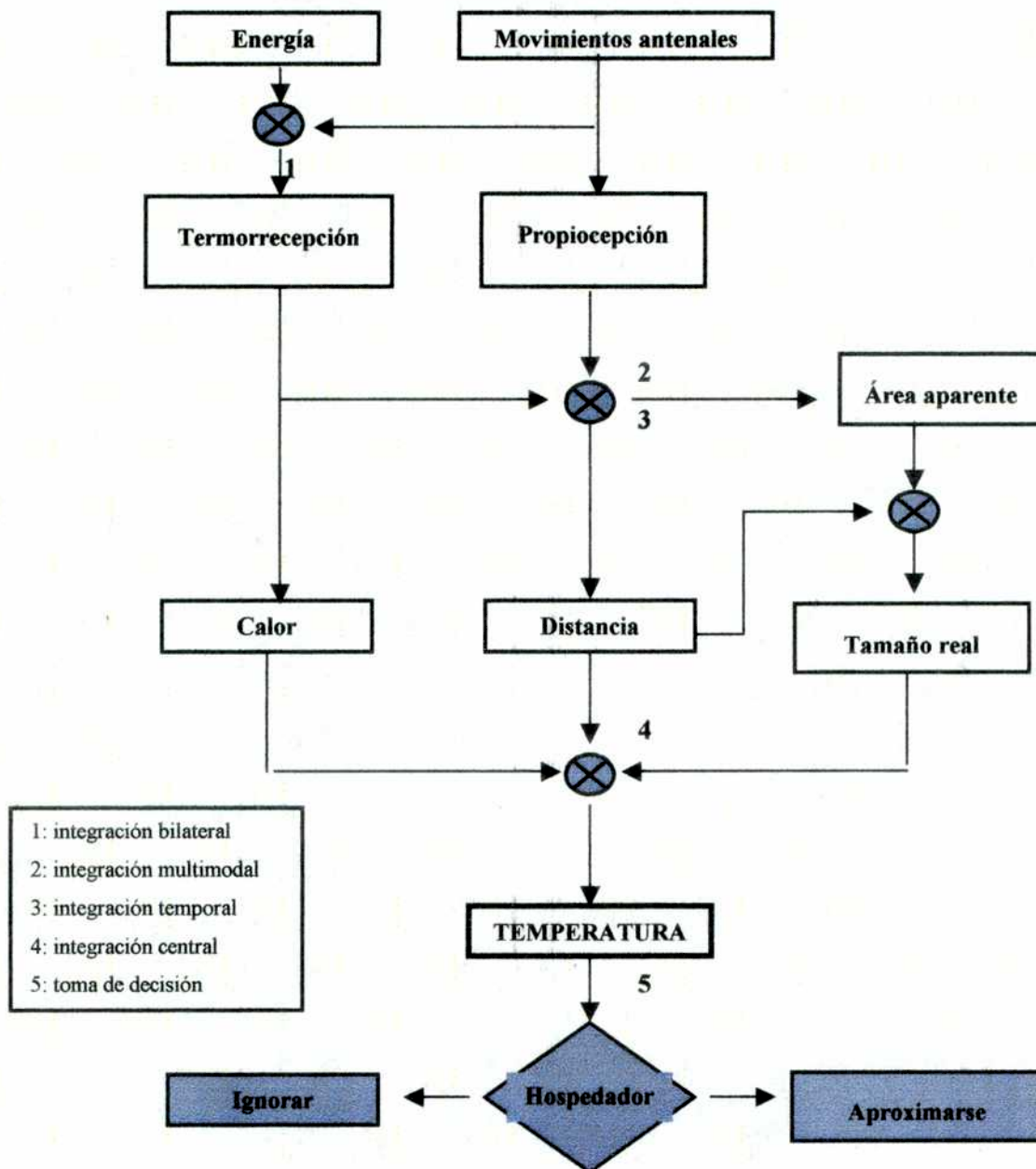
Como ya mencionamos en *OCHO. Los movimientos antenales y la evaluación de una fuente térmica*, la integración multimodal ha sido documentada en varios casos (Horn 1985). Un ejemplo de este tipo de integración es el de *Periplaneta americana*. En esta cucaracha se ha demostrado que diferentes aferencias antenales (olfatorias, mecánicas, térmicas y de humedad) convergen en el deutocerebro (Waldow 1975, Boeckh et al. 1976 citados por Horn 1985). El sistema de control que subyace a la captura de la presa por el mántido *Parastagmatoptera unipunctata* constituye otro ejemplo que apoya el tipo de integración propuesto para *T. infestans*. En el mántido se produce una integración bimodal de entradas propioceptivas y visuales (Mittelstaedt 1962).

En el caso de las vinchucas, las entradas sensoriales involucradas serían la mecánica y la térmica. La entrada que aporta información sobre la posición de las antenas provendría de los mecanorreceptores propioceptivos situados en las uniones entre los segmentos de las antenas. Los propioceptores ubicados entre el tubérculo antenífero y el escapo podrían informar acerca del grado de apertura antenal (ver *TRES. Las antenas de Triatoma infestans: los receptores sensoriales en insectos*).

Por otra parte, una mayor apertura antenal dejaría expuesta al calor una mayor cantidad de termorreceptores que serían estimulados simultáneamente. Con la información proveniente de una red de receptores podría conocerse el área aparente (ver más arriba: *Estimación del área*). Relacionando el área aparente con la distancia, el área real de la fuente podría ser finalmente derivada y las antenas, a partir de su apertura –que es proporcional al ángulo subtendido por la fuente de calor– actuaría así como un instrumento de medición.

En la figura **Nueve-1** presentamos un diagrama en el que se esquematizan los componentes del modelo de integración propuesto.

Figura Nueve-1. Modelo para un posible mecanismo de integración de las entradas propioceptiva (posición de las antenas registrada por los mecanorreceptores antenales) y térmica (cantidad de calor recibida por los termorreceptores antenales) que explica cómo se podría derivar la temperatura de una fuente de calor.



En el modelo presentado en la figura se proponen varias instancias de integración. En primer lugar, la integración bilateral de la información propioceptiva permitiría al insecto conocer la abertura de las antenas (1). Las entradas propioceptiva y térmica podrían también ser integradas de manera que permitirían conocer el área aparente (2). La distancia podría ser derivada integrando la información térmica proveniente de dos partes del cuerpo en forma simultánea o las entradas sucesivas obtenidas del barrido del ambiente con las antenas por triangulación (3). Finalmente, toda esta información sería integrada en el sistema nervioso central y se derivaría la temperatura del potencial hospedador. En esta instancia, el insecto estaría en condiciones de tomar la decisión de aproximarse e intentar picar el cuerpo caliente o ignorarlo.

La extensión de la proboscis: una respuesta dependiente de la distancia

La extensión de la proboscis ocurre cuando el insecto “decide” que la fuente térmica es un hospedador. En los experimentos en los que analizamos los mecanismos de orientación hacia una fuente de calor (*SEIS. El papel de las antenas en la orientación térmica*) concluimos que a distancias entre 1 y 1,5 cm el mecanismo involucrado es la *telotaxis*, que hace posible una aproximación más o menos recta hacia la fuente aun cuando los insectos cuentan con una sola antena. Una vez cerca de la fuente, a una distancia de alrededor de 1,5 cm, se desencadena la extensión de la proboscis. Si una de las antenas está ausente, se produce un giro abrupto hacia el lado de la antena intacta. De estos resultados se dedujo que la *telotaxis* es reemplazada por la *tropotaxis*, un mecanismo de orientación en el que se comparan las entradas de los dos órganos bilaterales.

Sobre la base de estos resultados surge la pregunta: ¿cómo se desencadena la extensión de la proboscis? Una explicación posible es la integración bilateral de la información térmica en la que la entrada de ambas antenas sería comparada. Sin embargo, los insectos antenectomizados unilateralmente extienden la proboscis a la misma distancia que los intactos.

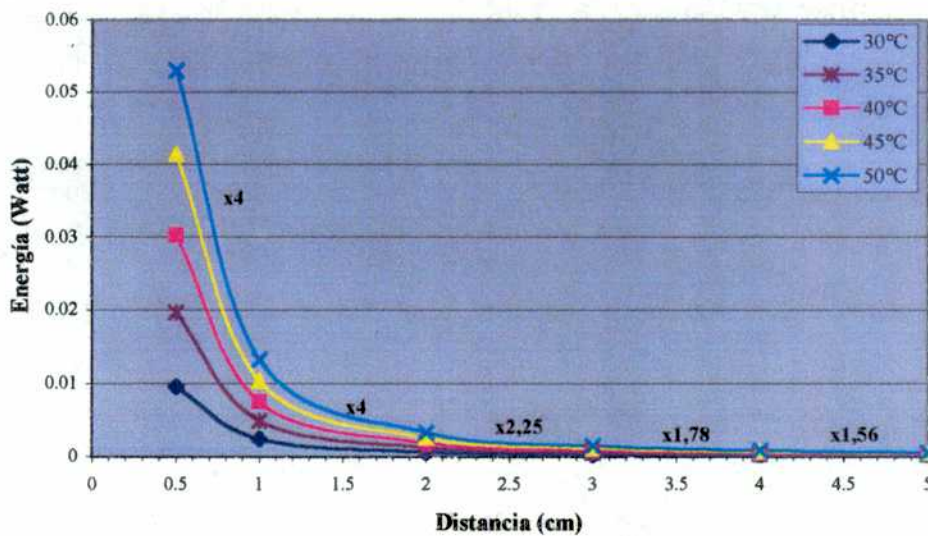
Una alternativa posible es que las vinchucas respondan a un incremento en el gradiente de energía calórica. Si este fuera el caso, la integración bilateral no sería necesaria aunque sí sería requerida para otros comportamientos. Por ejemplo, los resultados del experimento de orientación muestran que para una correcta orientación

de la picada es necesaria la integridad de ambas antenas; de lo contrario ocurre lo que observamos en las trayectorias de insectos sin una antena: el objetivo era errado con un sesgo hacia la antena intacta.

En este contexto es importante conocer cuál es el nivel de cambio en la cantidad de energía que sería necesario para ser percibido como un estímulo que gatille la extensión de la proboscis. Sabemos que las vinchucas tienen un umbral muy bajo de sensibilidad, que se ha calculado en $3,3 \times 10^{-6}$ Watt cm^{-2} (recalculado de Lazzari 1990). Si hubiera un cambio lo suficientemente grande en la radiación a una distancia que permitiera una rápida evaluación de ese cambio por parte de los insectos, éstos podrían, aun sin claves visuales, saber que se encuentran en una posición adecuada para picar. Las vinchucas podrían estar “midiendo” la cantidad de calor recibida y, una vez superado determinado umbral, podría desencadenarse el comportamiento de picar.

Las características físicas de la propagación del calor en las situaciones experimentales analizadas aportaron una explicación compatible con el mecanismo propuesto. Sabemos que la cantidad de calor de una fuente térmica disminuye con el cuadrado de la distancia (Figura Nueve-2).

Figura Nueve-2. Decaimiento de la energía con la distancia en proximidad de la fuente térmica para fuentes de 1cm^2 a distintas temperaturas (temperatura ambiente 25°C). Los números sobre las líneas indican el incremento en energía entre los intervalos de distancia 0,5-1cm, 1-2cm, 2-3cm, 3-4cm y 4-5cm, respectivamente.



En el gráfico se puede verificar que el incremento relativo en la energía es mayor a medida que disminuye la distancia y, no menos importante, que ese incremento es similar para cualquier temperatura de la fuente. Estos factores de incremento en la cantidad de calor tampoco varían con el tamaño de la fuente.

Estos dos últimos puntos indican que el efecto de la variación de la temperatura de la fuente y de su área es lineal, a pesar de que la energía aumenta con la diferencia entre la cuartas potencias de las temperaturas del ambiente y de la fuente y de que el área aumenta con el cuadrado del lado (ver *Anexo I. Algunos conceptos sobre la física del calor: leyes de la radiación*). Por esa razón, si se aumenta la temperatura de la fuente o su área la cantidad de energía emitida se incrementa linealmente y es sólo función del cuadrado de la distancia: la forma de la curva de decaimiento con la distancia no varía.

Estas propiedades de la propagación del calor tienen una consecuencia particularmente interesante. Como el incremento relativo del calor a medida que el animal se acerca es constante independientemente del tamaño de la fuente, el incremento no se produce en magnitud sino en la proporción, es decir que la cantidad de calor se duplica, cuadruplica, etc.

Sobre esta base proponemos que las vinchucas podrían estar utilizando una regla simple como la siguiente: "aproximarse a una fuente hasta el momento en que la estimulación de los termorreceptores se incremente X veces en Y mm; en ese momento, estirar la proboscis ya que se ha alcanzado la distancia crítica".

El gradiente térmico también podría dar información de la distancia a la fuente en un intervalo de distancias mayor, siempre y cuando el valor de energía y su variación en el espacio se encuentren por encima del umbral de discriminación. Así, esta función de decaimiento no es sólo potencialmente utilizable a la distancia crítica de extensión de la proboscis sino a distancias mucho mayores que dependerán del tamaño y de la temperatura de la fuente. No olvidemos que una mano puede ser percibida desde más de 1 m y una cara desde más de 2,5 m.

Como hemos indicado en *Siete. El papel de las antenas en la orientación térmica* y en este mismo capítulo, las vinchucas, intactas o antenectomizadas unilateralmente, extienden la proboscis a una distancia de 1,5 cm de la fuente. En la

Figura Nueve-2 se puede observar que en esa región se produce un gran incremento de la energía calórica el insecto podría percibir a medida que se aproxima a la fuente.

Un mecanismo alternativo. ¿Espectroscopía IR?

Una posibilidad adicional de reconocer a un hospedador sólo a través de su temperatura es por medio del análisis del espectro de energía radiante (infrarrojo lejano y medio), en una manera muy similar a como funcionan los termómetros de infrarrojo (IR) modernos. Para esto, sería necesario comparar la energía radiante recibida en por lo menos dos regiones no superpuestas del espectro y así inferir la forma de la curva de emisión. Dado que cuerpos a diferente temperatura difieren en la distribución de su energía (ver *Anexo I. Algunos conceptos sobre la física del calor*), la medida de la longitud de onda de la radiación emitida permitiría una estimación de la temperatura.

Para poder llevar a cabo esta tarea son necesarias dos capacidades: absorber energía radiante de distintos intervalos de longitudes de onda y discriminar entre zonas ligeramente diferentes del espectro. Así, si un dado espectro se corresponde con una fuente a 32°-40°C (el intervalo determinado por las temperaturas de la superficie de la piel humana y el cuerpo de las aves) esta estimulación se podría asumir como proveniente de un hospedador de sangre caliente.

Un primer requerimiento es que los insectos cuenten con un receptor de IR que, por definición, es diferente de un termorreceptor clásico. De acuerdo con Evans (1966a), la diferencia entre un receptor de temperatura clásico y un receptor de IR radica en que, aunque los dos absorben energía calórica, el receptor de IR es selectivo para la recepción de energía radiante en un intervalo particular del espectro electromagnético –i.e. es sensible a un intervalo estrecho de longitudes de onda–.

La presencia de un receptor IR brindaría una ventaja adicional en insectos que basan la búsqueda de alimento en el calor emanado y es que el tiempo de respuesta de un receptor IR podría ser mucho menor que el de un termorreceptor clásico si el mecanismo de transducción se basara en un sistema similar al visual, i.e. en la fotoconversión de pigmentos.

Sin embargo, en la actualidad se acepta que la recepción de calor radiante no requiere necesariamente la presencia de fotorpigmentos y, de hecho, en los animales en que se han descrito este tipo de termorreceptores (serpientes y el coleóptero

Melanophila acuminata) los pigmentos no parecen estar presentes. Aparentemente, para el uso de la calve IR resulta suficiente poseer estructuras sensoriales capaces de transducir la energía calórica absorbida en forma de radiación en impulsos eléctricos a través del simple calentamiento local de alguna estructura.

En las serpientes el mecanismo de transducción parece estar relacionado con cambios en la membrana de las fosetas termosensibles que incrementan su temperatura (Hartline, 1974). En el caso de *Melanophila acuminata*, los receptores IR parecen derivar de mecanorreceptores (y actuar, de alguna manera como mecanorreceptores) que modificarían su volumen al absorber calor (Vondran et al. 1995) (ver *TRES. Las antenas de Triatoma infestans: los receptores sensoriales en insectos*).

Estas dos opciones han generado posiciones encontradas respecto al funcionamiento de los receptores IR pero finalmente, la vieja controversia entre los que señalaban que recepción IR implicaba necesariamente fototransducción (e.g., Loftus, 1981) y aquellos que sostenían la posibilidad de otros mecanismos (e.g., Hartline, 1974) terminó resolviéndose a favor de los últimos.

En este contexto, merece ser señalada la contribución de P. Callahan (1965a), quien analizó las propiedades dieléctricas de la cutícula y demostró que los órganos sensoriales de los insectos están físicamente capacitados para absorber radiación IR. Sin embargo, Callahan se interesó más en la vinculación de estas observaciones con la extraordinaria capacidad de algunos insectos de seguir rastros de olor desde grandes distancias, más que en la termorrecepción.

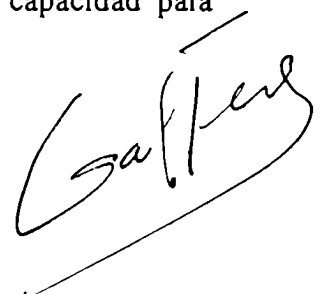
Volviendo a las vinchucas, como ya mencionamos, estudios preliminares realizados sobre la capacidad de absorción de la radiación IR de las antenas de *T. infestans* mostraron que el material cuticular es capaz de absorber radiación en una zona del espectro que coincide con la ventana atmosférica al IR (entre 3 y 5 μ y entre 8 y 12 μ) así como con la emisión de vertebrados endotermos: un cuerpo térmico a 32°C emite en un intervalo de longitudes de onda de 4 a 20 μ (Lazzari y Núñez, 1989). Esta capacidad indica que, en principio, la radiación IR es capaz de atravesar la cutícula, un requerimiento para que alcance un potencial receptor de IR.

IR vs. otros mecanismos de intercambio de calor

Más allá del mecanismo de transducción involucrado, la existencia de la capacidad de recepción IR en las vinchucas presentaría la ventaja de aportar información relativa a la dirección y tamaño de una fuente térmica ya que la radiación es una forma más discreta de transmisión de calor que las corrientes de convección o la conducción. La conducción por medio de gradientes de aire caliente y la convección son demasiado difusas para servir a este propósito. Además, la radiación exhibe dos propiedades que la convierten en una señal más confiable. Por un lado, no es afectada por corrientes de aire y por otro, permitiría detectar una fuente desde cualquier dirección. Tanto la convección como la conducción son afectadas por turbulencias del fluido y la convección sólo es útil si el insecto se encuentra por encima de la fuente de calor (ver *Anexo I. Algunos conceptos sobre la física del calor*).

Aunque la percepción infrarroja ha sido demostrada en *T. infestans* (Lazzari y Núñez 1989), la discriminación de longitudes de onda aún no ha sido experimentalmente estudiada. Sin embargo, en el caso particular de las vinchucas, la capacidad de discriminar longitudes de onda no sería particularmente útil. Para que la diferencia en la longitud de onda sea suficiente para ser discriminada es necesario que la diferencia en la temperatura sea a su vez muy grande. Las temperaturas que las vinchucas demostraron ser capaces de discriminar, 32 y 50°C (Lazzari y Núñez 1989), se corresponden con espectros muy similares que no podrían, en principio, ser diferenciados (ver *Anexo I. Algunos conceptos sobre la física del calor*).

En síntesis, en este trabajo de Tesis hemos presentado evidencias de que la vinchuca *T. infestans* es capaz de evaluar ciertos parámetros de una fuente térmica que aportan información relevante. Hemos propuesto, además, un posible mecanismo de integración de esa información que explica cómo estos insectos podrían discriminar un hospedador potencial de otras fuentes de calor sólo a partir del calor emitido. Asimismo, hemos presentado alternativas del uso de distintas formas de transferencia de calor para llevar a cabo esta tarea. Esperamos haber dado un primer paso hacia la comprensión de cómo las vinchucas emplean esta capacidad para identificar y localizar a sus hospedadores.



DIEZ. Bibliografía

Altner H. y Loftus R. (1985). Ultrastructure und function of insect thermo- and hygrosensors. *Ann. Rev. Entomol.* 30: 273-295.

Barth R. (1952). Estudos anatômicos e histológicos sobre a subfamília Triatominae (Hemiptera-Reduviidae). II parte: Um novo orgao sensível das Triatominae. *Bol. Inst. Oswaldo Cruz* 5: 1-4.

Barth R. (1953). Estudos anatômicos e histológicos sobre a subfamília Triatominae (Hemiptera-Reduviidae). III parte: Pesquisas sobre o mecanismo de picada das Triatominae. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 51: 11-33.

Bernard J. (1974). Etude électrophysiologique de récepteurs impliqués dans l'orientation vers l'hôte et dans l'acte hématophage chez un Hémiptère: *Triatoma infestans*. Thèse, Université Rennes, 285 pp..

Bullock T.H. y Cowles R.B. (1952). Physiology of an infrared receptor – the facial pit of pit vipers. *Science* 115: 541-543.

Callahan P.S. (1965a). Far infrared emission and detection by night-flying moths. *Nature* 206: 1172-1173.

Carcavallo R.U., Curto de Casas S.I., Sherlock I.A., Galíndez Girón I., Jurberg J., Galvão C., Mena Segura C.A., Noireau F. (1999). Geographical distribution and altitudinal dispersion. En: Carcavallo R.U., Galíndez Girón I., Jurberg J., Lent H. (eds.) *Atlas of Chagas' Disease vectors in the Americas*, Vol. III, Capítulo 17, Editora Fiocruz-Rio de Janeiro. p: 747-792.

Carcavallo R.U., Franca Rodríguez M.E., Salvatella R., Curto de Casas S.I., Sherlock I.S., Galvão C., Da Silva Rocha D., Galíndez Girón I., Otero Arocha M.A., Martínez A., Da Rosa J.A., Canale D.M., Farr T.H., Barata J.M. (1998a). Habitats and related fauna. En: Carcavallo R.U., Galíndez Girón I., Jurberg J., Lent H. (eds.) *Atlas of Chagas' disease vectors in the Americas*, Vol. II, Capítulo. 14, parte A. Editora Fiocruz-Rio de Janeiro. p: 561-600.

Catalá S. (1994). The cave organ of Triatominae (Hemiptera. Reduviidae) under scanning electron microscopy. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 89: 275-277.

Chagas C. (1909). Nova tripanozomíaze humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi*. Gen. N. Sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 1: 160-431.

Chapman R.F. (1998). The insects. Structure and function. Chapman R.F. (ed.), London, pp. 770.

Chiang R.G., Chiang J.A. y Davey, K.G. (1992). A sensory input inhibiting heart rate in an insect *Rhodnius prolixus*. *Experientia* 48: 1122-1125.

Di Luciano VS (1983). Orientation of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) to environmental temperatures. *J. Med. Entomol.* 20: 446-454.

Dias J.C.P. y Schofield C.J. (1999). The evolution of Chagas' disease (American Trypanosomiasis). Control after 90 years since Carlos Chagas discovery. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 94, Suppl. I. 103-121.

Dürr V., König Y., Kittmann R. (2001). The antennal motor system of the stick insect *Carausius morosus*: anatomy of the antennal movement pattern during walking. *J. Comp. Physiol.* 187: 131-144.

Dusenbery D.B. (1992). Sensory Ecology: how organisms acquire and respond to information. Freeman W.H. (ed.), New York, USA, pp. 558.

Ehn R., Tichy H. (1994). Hygro- and thermoreceptive tarsal organ in the spider *Cupiennus salei*. *J. Comp. Physiol. A.* 174: 345-350.

Evans W.G. (1964). Infrared receptors in *Melanophila acuminata* De Geer. *Nature* 202: 211.

Evans W.G. (1966a). Perception of infrared radiation from forest fires by *Melanophila acuminata* De Geer (Buprestidae, Coleoptera). *Ecology* 47: 1061-1065.

Evans W.G. (1966b) Morphology of the infrared sense organs of *Melanophila acuminata* (Buprestidae: Coleoptera). *Ann. ent. Soc. Am.* 59: 873-877.

Flores G.B. y Lazzari C.R. (1996). The role of the antennae in *Triatoma infestans*: orientation towards thermal sources. *J. Insect Physiol.* 42 (5), 433-440.

Friend W.G. y Smith J.J.B. (1977). Factors affecting feeding by bloodsucking insects. *Ann. Rev. Entomol.* 22: 309-331.

Fujita T. y Kloetzel K. (1976). A resposta de *Rhodnius prolixus* a estímulos térmicos. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 10: 119-125.

Galun R. (1977). Responses of blood-sucking arthropods to vertebrate host. En: Shorey & McKelvey (eds.) Chemical Control of Insect Behavior, pp. 103-115. Wiley.

García Zapata M.T., Schofield C.J., Marsden P.D. (1985). A simple method for detecting the presence of live triatomine bugs in houses sprayed with insecticides. Trans R. Soc. Trop. Med. Hyg. 79: 558-559.

Giojalas L.C. y Catalá S. (1993). Changes in male *Triatoma infestans* reproductive efficiency caused by a suboptimal temperature. J insect Physiol. 39, 4 297-302.

Gómez-Núñez J.C. (1965). Desarrollo de un nuevo método para evaluar la infestación intradomiciliaria por *Rhodnius prolixus*. Ac. Cientif. Venez. 16: 26-31.

Guerenstein P.G. y Núñez J.A. (1994). Feeding response of the haematophagous bugs *Rhodnius prolixus* y *Triatoma infestans* to saline solution: a comparative study. J. Insect Physiol. 40: 747-752.

Guerenstein PG y Guerin PM (2001). Olfactory and behavioural of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* to odours of the vertebrate host. J. Exp. Biol. 204: 585-597.

Guhl F., Jaramillo C., Yockteng R., Vallejo G.A., Cárdenas-Arroyo F. (1997). *Trypanosoma cruzi* DNA in human mummies. The Lancet; 349: 9062.

Gürtler R.E., Cécere M.C., Canale D.M., Castañera M.B., Chuit R., Coñen J.E. (1999). Monitoring house reinfestation by vectors of Chagas' disease: a comparative trial of detection methods during a four-year follow-up. Acta Tropica 72: 213-234.

Hardy J.D. (1934). The radiation of heat from the human body. III. The human skin as a black-body radiator. J. clin. Invest. 13: 615-620.

Hartline P. (1974). Thermoreception in snakes. En: A. Fessard (ed.) Electoreceptors y other Specialized Receptors in Lower Vertebrates (Handb. Sens. Physiol. III/3), pp. 297-312. Springer Verlag.

Hocking B. (1971). Blood-sucking behavior of terrestrial arthropods. Ann. Rev. Entomol. 16: 1-26.

Hoffmann K H. (1986). Hormones mediate temperature effects on reproduction in insects. Biona Report 4: Temperature relations in animals and man: 33-40.

Horn E. (1985). Multimodal convergences. En: Kerkut & Gilbert (eds.). *Nervous System: Sensory* (Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology, vol. VI), pp. 653-669.

Hsiao H.S. y Susskind C. (1970). Infrared and microwave communication by moths. *IEEE Spectrum* 7: 69-76.

Ianowski J.P., Manrique G., Núñez J.A., Lazzari C.R. (1998). Feeding is not necessary for triggering plasticization of the abdominal cuticle in haematophagous bugs. *J. Insect Physiol.* 44, 379-384.

Insausti T.C., Lazzari C.R. y Campanucci V.A. (1999). *Neurobiology of Behaviour. A: Morphology of the nervous system and sense organs.* En: Carcavallo et al. (eds.). *Atlas of Chagas' disease vectors in America*, vol. III, pp. 1017-1051, Editora Fiocruz, Rio de Janeiro.

Iwasaki M. (1999). Mechano- and phonoreceptors. En: Eguchi E., Tominaga Y. (eds.) *Atlas of Arthropod Sensory Receptors*, Capítulo VII, Springer-Verlag, Tokio, pp 178-190.

Kennedy J.S. (1977). Olfactory responses to distant plants and other odour sources. En: Shorey & McKelvey (eds.) *Chemical Control of Insect Behavior*, pp. 67-91 Wiley.

Khan A.A., Maibach H.I. y Strauss W.G. (1968). The role of convection currents in mosquito attraction to human skin. *Mosquito News* 28: 462-464.

Lazzari C.R. (1983). Estudio de los receptores sensoriales de las antenas de *Triatoma infestans* (Klug, 1834) (Heteroptera: Reduviidae). Diploma Thesis. Universidad de Buenos Aires, 81 pp.

Lazzari C.R. (1990). Fisiología del comportamiento de *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae). Orientación térmica. Tesis doctoral, UBA, 161 pp.

Lazzari C.R. (1991a). Circadian rhythm of egg hatching in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *J. Med. Entomol.*, 24: 740-741.

Lazzari C.R. (1991b). Temperature preference in *Triatoma infestans*. *Bull. Entomol. Research* 81, 273-276

Lazzari C.R. (1992). Circadian organization of locomotion activity in the haematophagous bug *Triatoma infestans*. *J. Insect Physiol.*, 38: 895-903.

Lazzari C.R. y Núñez J.A. (1989a). Blood temperature and feeding behaviour in *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae). Ent. Gen. 14, 133-138.

Lazzari C.R. y Núñez J.A. (1989b). The response to radiant heat y the estimation of the temperature of distance sources in *Triatoma infestans*. J. Insect Physiol. 35, 525-529.

Lazzari C.R., Schilman P.E., Guerenstein P.G. y Ianowski J.P. (1999). Neurobiology of Behaviour. B: Nervous integration. En: Carcavallo et al. (eds.). Atlas of Chagas' disease vectors in America, vol. III, pp. 1053-1070 Editora Fiocruz, Rio de Janeiro.

Lazzari C.R., Diotaiuti L., Pires H. H., Corchs J.M., Guarneri A.A. Nuñez C.M.S., Reisenman C.E., Lorenzo Figueiras A.N. y Lorenzo M.G. (2000). Microenvironments and spatial distribution of Chagas' disease vectors. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 95 (Supl I): 86-88.

Lehane M.J. (1991). Biology of blood-sucking insects. Harper Collins Academic, London U. 288 pp.

Lent H. y Wygodzinsky P. (1979). Revision of the Triatominae (Reduviidae, Hem.) and their significance as vectors of Chagas' disease. Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 163.

Loftus R. (1978). Peripheral thermal receptors. En: M.A. Ali (ed.) Sensory Ecology, pp. 439-466. Plenum Press.

Loftus R. y Corbière-Tichané G. (1981). Antennal warm and cold receptors of the cave beetle, *Speophyes lucidulus* Delar., in sensilla with lamellated dendrite I. Response to sudden temperature change. J. Comp. Physiol. 143: 443-452.

Lorenzo Figueiras A.N., Lazzari C.R. (1998). Aggregation in the haematophagous bug *Triatoma infestans*: a novel assembling factor. Physiological Entomology 23: 33-37.

Lorenzo Figueiras A.N., Manrique G., Lorenzo M.G., Lazzari C.R. y Schilman P.E. (1999). Sensory Ecology. B: Communication. En: Carcavallo et al. (eds.). Atlas of Chagas' disease vectors in America, vol. III, pp. 1089-1103 Editora Fiocruz, Rio de Janeiro.

Lorenzo Figueras A.N.; Kenigsten A. y Lazzari C.R. (1994). Aggregation in the haematophagous bug *Triatoma infestans*: Chemical signals y temporal pattern. J. Insect Physiol. 40: 311-316.

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: 277-284.

Lorenzo M.G. y Lazzari C.R. (1996). The spatial pattern of defaecation in *Triatoma infestans* y the role of faeces as a chemical mark of the refuge. *J. Insect Physiol.* 42 (9): 903-907.

Lorenzo M.G. y Lazzari C.R. (1998). Activity pattern in relation to refuge exploitation y feeding in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Acta Tropica* 70: 163-170.

Lorenzo M.G. y Lazzari C.R. (1999). Temperature and relative humidity affect the selection of shelters by *Triatoma infestans*, vector of Chagas' disease. *Acta Tropica* 72: 241-249.

Lorenzo M.G., Flores G.B., Lazzari C.R. y Reisenman, C.E. (1999). Sensory Ecology. A: Orientation. En: Carcavallo et al. (eds.). Atlas of Chagas' disease vectors in America, vol. III, pp. 1071-1087. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro.

Lorenzo M.G., Manrique G., Pires H.H.R., de Brito Sánchez M.G., Diotaiuti L. y Lazzari C.R. (1999). Yeast volatiles as attractants for *Rhodnius prolixus*; electroantennogram responses and captures in yeast-baited traps. *Acta Tropica* 72:119-124.

Mayer M.S. (1968). Response of single olfactory cell of *Triatoma infestans* to human breath. *Nature* 220: 924-925.

McIver S. y Siemicki R. (1984). Fine structure of antennal mechanosensilla of adult *Rhodnius prolixus* Stål (Hemiptera: Reduviidae). *J. Morphol.* 180: 19-28.

McIver S. y Siemicki R. (1985). Fine structure of antennal putative thermo/hygro-sensilla of adult *Rhodnius prolixus* Stål (Hemiptera: Reduviidae). *J. Morphol.* 183: 15-23.

Minoli S. A. (1999). Bases cronobiológicas de la termopreferencia en *Triatoma infestans*. Tesis de Licenciatura en Ciencias Biológicas, Universidad de Buenos Aires. 50 pp.

Mittelstaedt H. (1962). Control systems of orientation in insects. *Ann. Rev Ent.* 7, 177-198

Morel C.M. (1999). Chagas' disease, from discovery to control and beyond: history, myths and lessons to take home. Mem. Inst. O. Cruz. 94, Suppl. I: 3-16.

Neiva A. (1913). Informações sobre a biologia da vinchuca, *Triatoma infestans* Klug. Mem. Inst. Oswaldo Cruz; 5(1):24-31.

Nicolle P. y Mathis M. (1941). Le termotropisme, facteur déterminant primordial pour la pique des Réduvidés hématophages. C. R. Soc. Biol. 135: 25-27.

Nishikawa M., Yokohari F., Ishibashi (1992). Response characteristics of two types of cold receptors on the antennae of the cockroach *Periplaneta americana* L. J Comp. Physiol. A. 171: 299-307.

Núñez J.A. (1982). Food source orientation and activity in *Rhodnius prolixus* Stål (Hemiptera: Reduviidae). Bull. ent. Res. 72: 253-262.

Núñez J.A. (1987). Behaviour of Triatominae bugs. En Brenner R.R. & Stoka A.M. (eds.) Chagas' Disease Vectors, CRC Press, Florida, vol II, pp. 1-28.

Núñez J.A. y Segura E.L. (1987). Rearing of Triatominae. En: Brenner & Stoka (eds.) Chagas' Disease Vectors, vol. II, pp. 29-40. CRC Press.

Núñez JA y Lazzari CR (1990). Rearing of *Triatoma infestans* Klug (Het., Reduviidae) in the absence of a live host. I. Some factors affecting the artificial feeding. J. Appl. Ent. 109: 87-92.

OMS (Organización Mundial de la Salud)/WHO (World Health Organisation) (1997). UNDP/ World Bank/ WHO Special programme for research and training in tropical diseases. World Health Organisation, Geneva. 141 pp.

OMS (Organización Mundial de la Salud)/WHO (World Health Organisation) (1998). Effective treatment for early chronic disease in children. Final report series 1, 1.

OMS (Organización Mundial de la Salud)/WHO (World Health Organisation) (2000). Weekly epidemiological record 76: 9-16.

Peterson D.G. y Brown, A.W.A. (1951). Studies of the female *Aedes* mosquito. Part III. The response of *Aedes aegypti* (L.) to a warm body and its radiation. Bull. ent. Res. 42: 535-541.

Prata A (1999). Bibliografía brasileira sobre doença de Chagas Aluizio Prata. Vol 1. Trabalhos por extenso, 365 pp.; Vol. 2 Resumos de apresentações em Eventos, 411 pp. Facultad de Medicina del Triângulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, Brasil.

Prata A (1999). Bibliografía brasileira sobre doença de Chagas Aluizio Prata. Vol 1. Trabalhos por extenso, 365 pp.; Vol. 2 Resumos de apresentações em Eventos, 411 pp. Facultad de Medicina del Triângulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, Brasil.

Precht H., Christophersen J., Hensel H. y Larcher W. (1973). Temperature and life. Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York.

Reisenman C.E. y Lazzari C.R. (1996). The phototactic response of *Triatoma infestans*. Mem. Inst Oswaldo Cruz, 91, Suppl: 156.

Reisenman C.E., Lazzari C.R. y Giurfa M. (1998). Circadian control of photonegative sensitivity in the haematophagous bug *Triatoma infestans*. J Comp Physiol A 183: 533-541.

Reisenman C.E., Lorenzo Figueiras A.N., Giurfa M., Lazzari C.R. (2000). Interaction of visual and olfactory cues in the aggregation behavior of the haematophagous bug *Triatoma infestans*. J Comp Physiol A 186: 961-968.

Remmert H. (1985). Crickets in sunshine. Oecologia 68: 29-33.

Roca M. y Lazzari C.R. (1994). Effects of relative humidity on the haematophagous bug *Triatoma infestans*: hygro-preference and eclosion success. J. Insect Physiol. 40 (10): 901-907.

Salvatella R., Franca Rodríguez M.E., Curto de Casas S.I., Barata J.M., Carcavallo R.U. (1998). Human environment: dwellings and peridomiliary sites. En Carcavallo R.U., Galíndez Girón I, Jurberg J., Lent H. (eds): Atlas of Chagas' disease vectors in the Americas, Vol. II, Capítulo 14 parte B. Editora Fiocruz-Rio de Janeiro. p: 601-619.

Sayeed O. Y Benzer S. (196). Behavioral genetics of thermosensation and hygro-sensation in *Drosophila*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:6079-6084

Schaller D. (1982). Structural and functional classification of antennal sensilla in the cockroach *Leucophaea maderae*. Cell Tissue Res 225: 129-142.

Schmitz H., Bleckmann H. y Murtz M. (1997). Infrared detection in a beetle. Nature 386: 773-774.

Schmitz H., Trenner S., Hofmann M.H. y Bleckmann H. (2000). The ability of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) to approach a thermal source solely by its infrared radiation. *J. Insect Physiol.* 46: 745-751.

Schneider D. (1964). Insect Antennae. *Annual Review of entomology*, 9, 103-122.

Schofield C.J. (1979). The behaviour of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): a review. *Bull. ent. Res.* 69: 363-379.

Schofield C.J. (1994). Triatominae: Biología y Control. Eurocommunica Publications, UK. 76 pp.

Schofield C.J. (2000). *Trypanosoma cruzi*. The vector–parasite paradox. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 95 (1), 133-137.

Schofield C.J. y Patterson J.W. (1977). Assembly pheromone of *Triatoma infestans* and *Rhodnius prolixus* nymphs (Hemiptera: Reduviidae). *J. Med. Entomol.* 13: 727.

Schofield C.J., Diotaiuti L., Dujardin J.P. (1999). The process of domestication in Triatominae. *Mem. Inst. O. Cruz* 94, Suppl. I: 375-378.

Shelford V.E. (1913). The reaction of certain animals to gradients of evaporating power of the air. A study in experimental ecology. *Biol Bull* 25: 79-120.

Snodgrass R. E. (1935). *Principles of Insect Morphology*. New York: McGraw-Hill.

Steinbrecht R..A Muller B. (1991). The thermo-/hygrosensitive sensilla of the silkworm, *Bombyx mori*: morphological changes after dry- and moist- adaptation. *Cell Tissue Res* 266:441-456

Taneja J. y Guerin P.M. (1995). Oriented responses of the triatomine bugs *Rhodnius prolixus* and *Triatoma infestans* to vertebrate odours on a servosphere. *J. Comp. Physiol. A* 176: 455-454.

Vondran T., Apel K.-H y Schmitz H. (1995). The infrared receptor of *Melanophila acuminata* De Geer (Coleoptera: Buprestidae): ultrastructural study of a unique insect thermoreceptor and its possible descent from a hair mechanoreceptor. *Tissue & Cell* 27 (6), 645-658.

Wehner R. (1989). Neurobiology of polarization vision. *Trends Neurosci.* 12, 353-359.

Wiesinger D. (1956). Die Bedeutung der Umweltfaktoren für den Saugakt von *Triatoma infestans*. Acta Tropica 13: 97-141

Wigglesworth V.B. y Gillet J.D. (1934b). The function of the antennae in *Rhodnius prolixus*: confirmatory experiments. J. Exp. Biol. 11: 408.

Wigglesworth V.B. (1931). The physiology of excretion in a blood sucking insect, *Rhodnius prolixus*. I. Composition of the urine. J. Exp. Biol. 8: 411-427.

Wigglesworth V.B. (1941). The sensory physiology of the human louse *Pediculus humanus corporis* de Geer (Anopura) Parasitology 33: 67-109

Wigglesworth V.B. (1964). The hormonal regulation of growth and reproduction in insects. Adv. Insect Physiol. 2: 247-336.

Wigglesworth V.B. y Gillet J.D. (1934a). The function of the antennae in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera) and the mechanism of orientation to the host. J. Exp. Biol. 11: 120-138.

Wigglesworth VB (1972). The principles of insect physiology. London. Methuen.

Yokohari F. (1999). Hygro-and thermoreceptors. En: Eguchi E., Tominaga Y. (eds.) Atlas of Arthropod Sensory Receptors, Capítulo VII, Springer-Verlag, Tokio, pp 191-210.

Zacharuk R.Y. (1984). Antennae and Sensilla. Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology, Vol 6 (editado por G.A. Kerkut y L.I. Gilbert), pp 1-69. Pergamosn Press, Oxford.

Zars T. (2001). Two thermosensors in *Drosophila* have different behavioral functions. Journal of Comparative Physiology A 187(3), 235-242

Zeledón R. y Rabinovich J.E. (1981). Chagas' disease: an ecological appraisal with special emphasis on its insect vectors. A. Rev. Ent. 26, 101-133.

Anexo I. Algunos conceptos sobre la física del calor

Definiciones generales

Cuando dos cuerpos o sistemas que poseen diferentes temperaturas son puestos en contacto, se establece un flujo de *calor* desde el cuerpo de mayor temperatura hacia el de menor temperatura. El *calor* es entonces una forma no mecánica de energía y puede mostrarse que es además equivalente al *trabajo*. Los sistemas pueden intercambiar energía bajo la forma de calor o bien de trabajo; no “poseen” calor sino energía interna.

La *energía interna* es una propiedad de los sistemas en el sentido que su variación entre dos estados de equilibrio depende sólo de estos dos estados y no del camino empleado. La energía interna es la parte de la energía total que depende sólo del estado *interno* del sistema: por ejemplo, la suma de la *energía cinética* asociada con el movimiento microscópico de átomos y moléculas y la *energía potencial* interna asociada a la posición de esos átomos y moléculas.

La *temperatura* es una medida de la energía cinética translacional asociada con el movimiento microscópico de los átomos y moléculas que componen el material. No es directamente proporcional a la energía interna ya que no toma en cuenta otros tipos de energía cinética presentes.

La transferencia de calor

El calor se transfiere por propagación en distintos medios por tres mecanismos: conducción, convección y radiación.

La *conducción* es la transferencia de calor por medio de la agitación de las moléculas que componen un material, sin movimiento del material como un todo. Si un extremo de un cuerpo se encuentra a mayor temperatura, la energía es transferida hacia el otro extremo más frío del cuerpo porque las partículas de mayor velocidad chocan con las más lentas y, en el proceso, les transfieren energía. La velocidad de conducción depende de la diferencia de temperaturas.

La *convección* es la transferencia de calor por el movimiento en masa de un fluido como el aire o el agua. Cuando el fluido es calentado, tiende a alejarse de la fuente de calor

llevando energía con él. La convección sobre una superficie caliente rodeada de aire ocurre porque el aire caliente se expande, se vuelve menos denso y asciende.

La *radiación* es la transferencia de calor por medio de la emisión de ondas electromagnéticas que transportan la energía hacia el receptor. Implica una doble transformación de energía: la energía térmica del sólido radiante (emisor) se transforma en energía radiante, la cual es transformada de nuevo en calor -o energía térmica- al ser absorbida por el cuerpo irradiado.

Un cuerpo que absorbe toda la energía incidente de la radiación térmica y re-irradia de una manera que es dependiente sólo de ese sistema y no del tipo de radiación que incide sobre él se denomina *cuerpo negro*.

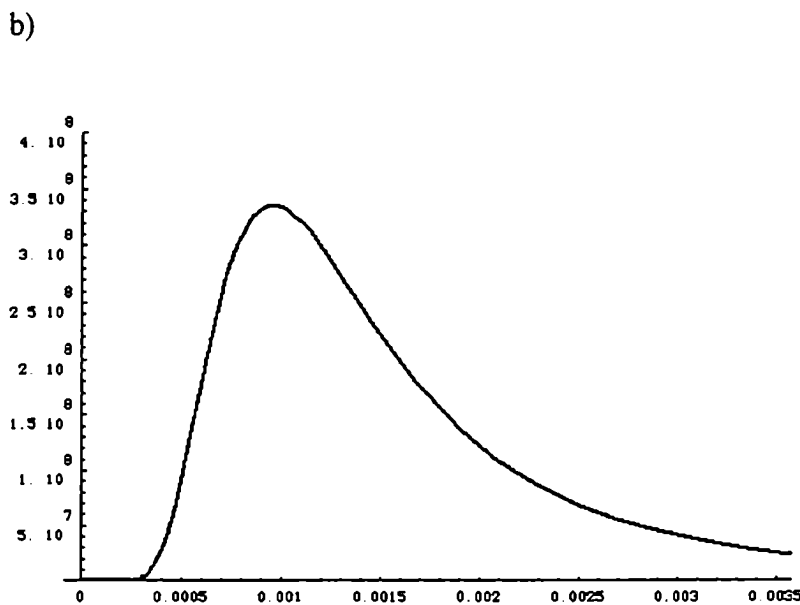
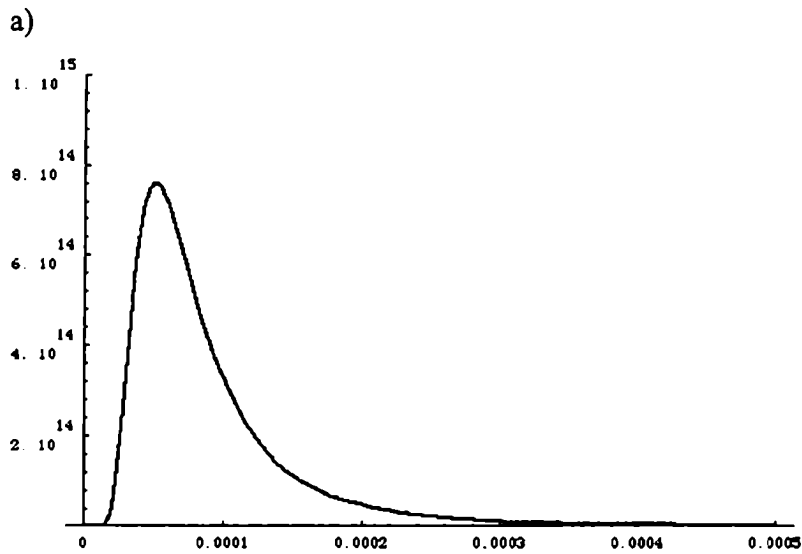
Leyes de la radiación

Básicamente todo cuerpo que se encuentre a una temperatura mayor que 0°K emite radiación infrarroja. El término *infrarrojo* se refiere a un amplio intervalo de ondas del espectro electromagnético que abarca longitudes de onda desde 1 mm hasta 750 nm. La porción de ese intervalo que se encuentra más cerca del intervalo visible del espectro se denomina *infrarrojo cercano*, y la porción de longitudes de onda mayores se denomina *infrarrojo lejano*. La luz visible abarca longitudes de onda entre 750 y 400 nm.

La distribución de la intensidad de radiación varía en función de la longitud de onda y de la temperatura. Los cambios de temperatura afectan el espectro de emisión; cuanto mayor es la temperatura, mayor es la intensidad de emisión de onda corta y menor la intensidad de emisión de onda larga.

La *Ley de Planck* relaciona la intensidad de radiación (poder emisivo), la temperatura y la longitud de onda. En la **Figura Anexo-2a y b** se muestran las curvas de distribución de intensidad de radiación para un cuerpo a 5.600°K (el sol) y otra para un cuerpo a 300°K (27°C). La gran diferencia entre las dos curvas se debe a la gran diferencia en temperaturas.

Figura Anexo-2. Curvas de distribución de intensidad de radiación en función de la longitud de onda para dos cuerpos a temperaturas muy diferentes. a) 5.600°K y b) 300° K.



Por otra parte, la intensidad total de la radiación emitida por un cuerpo aumenta con la temperatura ya que ésta provoca un aumento de su energía interna. A su vez, la radiación proveniente de un cuerpo emisor resultará en el calentamiento de un cuerpo receptor debido al aumento de la actividad vibracional de las moléculas que componen este último.

El *poder emisor total* de un cuerpo negro está dado por la *Ley de Stefan y Boltzmann* que establece que la energía irradiada por segundo y por unidad de área de la superficie emisora es una función de la cuarta potencia de la temperatura absoluta del cuerpo negro.

La ley de Stefan y Boltzmann se expresa como

$$E = \gamma e (T_{\text{fuente}}^4 - T_{\text{amb}}^4)$$

$$\gamma \text{ (constante de Boltzmann)} = 5,67 \times 10^{-12} \text{ Watt cm}^{-2} \text{ } ^\circ\text{K}^{-4}$$

De esa radiación emitida, no toda alcanza al receptor. La atenuación de la radiación depende de ciertos factores como el ángulo formado entre el receptor y el emisor. La *Ley de los cosenos de Lambert* establece que la energía recibida en el sitio del receptor depende del ángulo entre el receptor y la línea perpendicular al plano de la fuente, y se expresa como

$$E_1 = E \cos \phi$$

donde E es la energía total emitida, E_1 es la energía que alcanza el receptor y ϕ es el ángulo entre el receptor y la fuente.

Otro factor que interviene en la atenuación es la distancia a la fuente térmica. La radiación es inversamente proporcional al cuadrado de la distancia entre la fuente y el receptor.

Si se combinan los factores mencionados, se llega a la siguiente ecuación.

$$E_1 = \frac{E}{2\pi d^2} \cos \phi$$

donde E es la proporción de la energía total de la fuente irradiada en un hemisferio de radio d , E_1 es la irradiancia a una distancia d y ϕ es el ángulo entre la fuente y el receptor.

La energía E se expresa en Watts/m^2 mientras que la distancia d se expresa en metros.

Así, esta ecuación relaciona el área, la temperatura y la energía que irradia una fuente térmica.