



Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción
Facultad de Ciencias y Tecnología
Centro de Tecnología Apropriada

Maestría en Gestión de Riesgo de Desastre y Adaptación al Cambio Climático

Variaciones morfobiométricas de *Aedes aegypti* y su relación con variables ambientales urbanas y rurales de áreas endémicas de dengue en Paraguay

Tesis de Maestría

Asunción, septiembre de 2020



Con el apoyo de:





Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción
Facultad de Ciencias y Tecnología
Centro de Tecnología Apropiada

Maestría en Gestión de Riesgo de Desastre y Adaptación al Cambio Climático

Variaciones morfológicas de *Aedes aegypti* y su relación con variables ambientales urbanas y rurales de áreas endémicas de dengue en Paraguay

Tesis de Maestría

Asunción, septiembre de 2020



Con el apoyo de:



“La presente publicación ha sido elaborada con el apoyo del CONACYT. El contenido de la misma es responsabilidad exclusiva de los autores y en ningún caso se debe considerar que refleja la opinión del CONACYT”.

DEDICATORIA

A mis Padres

Por su completa entrega para que yo logré formarme profesionalmente, por inculcarme siempre el valor de la verdad, por motivarme a superarme día a día.

Mami, papi: gracias por estar en esta nueva etapa de mi vida, por ustedes soy lo que soy.

A mis maestros y tutores

Por el tiempo y esfuerzo que dedicaron a compartir sus conocimientos, a quienes brindaron dedicación, de tal forma que lo aprendido será utilizado en mi vida como un instrumento de desarrollo y la construcción de una sociedad mejor a través de la ciencia.

A mis compañeros/as

Que juntos pasamos innumerables momentos, buenos y malos, pero que han dejado una gran enseñanza en cada uno. Conocerlos, ha calado hondo en mi corazón.

A Dios

Por brindarme vida, salud y sabiduría y por sobre todo por nunca dejarme de amar.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Porfiria y Emilio con todo mi amor, por el apoyo incondicional, por llorar mis penas y festejar mis alegrías como propias, por coserme alas y enseñarme a volar.

A mis hermanos Gustavo y Marco por hacerme reír en los momentos que quería echarme a llorar.

A mi prometido Alexander con todo mi amor, por cada paso a mi lado, por brindarme su comprensión, cariño y amor. Su apoyo fue indispensable.

A mi tutora Antonieta Rojas de Arias, *Phd*, por ser mi maestra, por sus enseñanzas y su paciencia, por alentarme y apoyarme de principio a fin

A mi cotutor Elvio Gayozo, *MsC*. por ser mi maestro, mi guía, sin él, este trabajo no sería posible, por enseñarme algo nuevo siempre, por alentarme de principio a fin.

Al Centro para el desarrollo de Investigación Científica (CEDIC) por brindarme un espacio lleno de amor donde realizar la investigación.

A mis maestros del programa, por alentarme a no decaer, por enseñarme a velar por una sociedad mejor y buscar a través de la ciencia, un mundo mejor.

RECONOCIMIENTOS

Al Centro para el desarrollo de Investigación Científica (CEDIC) por brindar la infraestructura necesaria para la realización de este trabajo.

Al profesor Alberto Ramirez, *PhD* por instruirme en nuevas técnicas y ser lo suficientemente paciente y empático, a tiempo completo.

Al Dr. Julio Torres por su aporte intelectual y técnico.

A Elvio Gayozo, *MSc.* por su aporte intelectual y técnico

INDICE

ÍNDICE DE FIGURA	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vii
LISTADO DE SIGLAS	viii
RESUMEN	ix
Capítulo 1	1
1.1 Introducción general	1
CAPÍTULO 2	3
MARCO TEÓRICO	3
2.1. Enfermedades Transmitidas por Artrópodos	3
2..2 <i>Aedes aegypti</i> (Linnaeus, 1762).....	3
2..3 Características generales del <i>Aedes aegypti</i>	4
2..4 Ciclo biológico del <i>Aedes aegypti</i>	4
2..5 <i>Aedes aegypti</i> y el cambio climático	5
2..6 Relación con el ordenamiento territorial	8
2..7 Variaciones morfométricas y diferencias en las condiciones ambientales.....	9
CAPÍTULO 3	11
3.1 Planteamiento del problema	11
3.2 Hipótesis	¡Error! Marcador no definido.
3.3 Objetivos.....	12
3.3.1 General.....	13
3.3.2 Específicos.....	13
CAPÍTULO 4	14
Materiales y Metodología.....	14
4.1 Especímenes utilizados.....	14
4. 2 Área de estudio	15
4.3 Colecta de huevos de <i>Aedes aegypti</i>	16
4.4 Cría y manutención de huevos de <i>Aedes aegypti</i>	16
4.5 Identificación de <i>Aedes aegypti</i>	17
Morfometría lineal o clásica	17
4.6 Medidas de Morfometría lineal o clásica	17
4.7. Análisis Estadístico	17
Morfometría geométrica	18
4.8. Muestras	18
4.9 Tratamiento de las muestras	18
4.10 Adquisición de imágenes.....	18
4. 11 Selección y digitalización de landmarks	19
4.12 Análisis exploratorios	20
4.13 Análisis estadísticos.....	20
4.14 Obtención y procesamiento de datos ambientales.....	21
Capítulo 5	23
Resultados.....	23
Morfometría Lineal.....	23
5.1 Análisis preliminares y exploratorios.	23
5.2. Evaluación de las características morfológicas	24
5.3 Evaluación del Tamaño	24
5.4 Análisis de Componentes Principales (PCA)	26
5.5 Análisis Discriminante	30

Morfometría geométrica	32
5.6 Análisis preliminares y exploratorios	32
5.7 Análisis de Superposición de Procrustes	32
MACHOS	33
5.8 Tamaño	33
5.9 Forma.....	35
5.9.1 Análisis de Componentes Principales (PCA)	35
5.9.2 Análisis Canónicos (CVA)	35
HEMBRAS	39
5.10 Tamaño	39
5.11 Forma.....	40
5.11.1 Análisis de Componentes Principales (PCA)	40
5.12 Análisis Canónicos (CVA)	40
5.12 Correlación con Variables Ambientales	45
Capitulo 6	48
6.1 Discusión	48
7. Conclusiones.....	53
8. Referencias Bibliográficas.....	54
.....	
9. Anexos.....	62

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 4. 1: Descripción general de la metodología.....	14
Figura 4.2: Áreas de estudio en Asunción y Departamento Central.....	15
Figura 4.3: Áreas de estudio del Departamento de Alto Parana.....	16
Figura 5.1: Análisis MANOVA que muestra las diferencias del conjunto de datos de los machos de Asunción (A), Itaugua (I), Minga Guazu (MG), Ciudad del este (CDE). B. Análisis MANOVA que muestra las diferencias significativas del conjunto de datos de las hembras de Asunción (A), Itaugua (I), Minga Guazu (MG), Ciudad del este (CDE).....	23
Figura 5.2 Tamaño del centroide de las variables morfométricas de los machos	25
Figura 5.3 : Tamaño del centroide de las variables morfométricas de las hembras	25
Figura 5.4 : PCA que muestra el PC1 y PC2 con sus respectivos porcentajes de varianza. El histograma PC1 a la izquierda corresponde a las partes que más contribuyen a la variación en ese eje. El histograma PC2 a la derecha corresponde a las partes que más contribuyen a la variación en ese eje dentro del grupo de los machos. Azul: Asunción. Verde: Itaugua. Negro: Minga Guazu. Naranja: CDE	27
Figura 5.5 : PCA que muestra el PC3 y PC4 con sus respectivos porcentajes de varianza. El histograma PC3 a la izquierda corresponde a las partes que más contribuyen a la variación en ese eje. El histograma PC4 a la derecha corresponde a las partes que más contribuyen a la variación en ese eje dentro del grupo de los machos. Azul: Asunción. Verde: Itaugua. Negro: Minga Guazu. Naranja: CDE	28
Figura 5.6 : PCA que muestra el PC1 y PC2 con sus respectivos porcentajes de varianza. El histograma PC1 a la izquierda corresponde a las partes que más contribuyen a la variación en ese eje. El histograma PC2 a la derecha corresponde a las partes que más contribuyen a la variación en ese eje dentro del grupo de las hembras. Azul: Asunción. Verde: Itaugua. Negro: Minga Guazu. Naranja: CDE	29
Figura 5.7 : PCA que muestra el PC3 y PC4 con sus respectivos porcentajes de varianza. El histograma PC3 a la izquierda corresponde a las partes que más contribuyen a la variación en	

ese eje. El histograma PC4 a la derecha corresponde a las partes que más contribuyen a la variación en ese eje dentro del grupo de las hembras. Azul: Asunción. Verde: Itaugua. Negro: Minga Guazu. Naranja: CDE 30

Figura 5.8: Análisis discriminante de grupo de los machos proveniente de las variables morfológicas. Azul: Asunción. Verde: Itaugua. Negro: Minga Guazu. Naranja: CDE 31

Figura 5.9 : Análisis discriminante (AD) del grupo de las hembras proveniente de las variables morfológicas. Azul: Asunción. Verde: Itaugua. Negro: Minga Guazu. Naranja: CDE 32

Figura 5.10: Representación del Análisis de superposición de procrustes que genera las coordenadas de procrustes..... 33

Figura 5.11: Tamaño del centroide normalizado de las alas de los machos. A: Izquierdas B: Derechas..... 34

Figura 5.12: PCA de las alas izquierdas de los individuos machos de *Aedes aegypti* con sus respectivas representaciones de alas para dichosejes..... 36

Figura 5.13: PCA de las alas derechas de los individuos machos de *Aedes aegypti* con sus respectivas representaciones de alas para dichos ejes..... 37

Figura 5.14: Análisis Canónico de las 4 poblaciones de machos de *Aedes aegypti* y los canónicos respecto al ala izquierda. Fue significativo para Asunción y CDE aunque las solapaciones indican que las poblaciones no se separan del todo 38

Figura 5.15: Análisis Canónico de las 4 poblaciones de machos de *Aedes aegypti* y los canónicos respecto al ala derecha..... 38

Figura 5.16: Tamaño del centroide normalizado de las alas de las hembras. A: Izquierdas B: Derechas..... 39

Figura 5.17: PCA de las alas izquierdas de los individuos hembra de *Aedes aegypti* con sus respectivas representaciones de alas para dichos ejes 42

Figura 5.18: PCA de las alas derecha de los individuos hembra de *Aedes aegypti* con sus respectivas representaciones de alas para dichos ejes. Las elipses fueron suprimidas en esta figura debido a que es evidente la tendencia de posicionarse únicamente hacia el lado positivo del eje del PC1..... 43

Figura 5.19: Análisis Canónico de las 4 poblaciones de hembras de *Aedes aegypti* y los canónicos respecto al ala izquierda de las hembras. La mayor segregación se observa en la población de Itaugua..... 44

Figura 5.20: Análisis Canónico de las 4 poblaciones de hembra de *Aedes aegypti* y los canónicos respecto al ala izquierda de las hembras..... **44**

Figura 5.21: Dendrograma de las distancias de Mahalanobis entre las poblaciones de hembras, basados en el método de encadenamiento promedio(UPGMA)..... **45**

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 4.1: Lista de los 18 landmark utilizados y los nombres de las venas correspondientes a cada una de ellas.....	19
Tabla 5.1: Resumen del análisis de correlación de las variables ambientales vs las medidas morfométricas provenientes de la morfometría lineal o clásica.....	46
Tabla 5.2: Resumen del análisis de correlación de las variables ambientales vs la morfometría geométrica de las alas izquierdas de las hembras.....	47

LISTADO DE SIGLAS

UCA	Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción.
CEDIC	Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica
PCA	Análisis de componentes principales.
AP	Análisis de Procrustes
CVA	Análisis Canónico
UPGMA	Método de encadenamiento promedio
DAPC	Análisis discriminante de los componentes principales.
CA	Ancho de la cabeza.
CL	Longitud de la cabeza.
PL	Longitud de probóscide.
TA	Ancho del tórax.
TL	Longitud del tórax.
LL	Longitud de la lira.
AA	Ancho del abdomen.
AL	Longitud del abdomen.
PF	Longitud del fémur.
PTI	Longitud de la tibia.
PTA	Longitud de los tarsos
PC	Componente Principal

RESUMEN

Varias condiciones climáticas como nubosidad, temperatura ambiental, punto de rocío y precipitaciones, muestran cierta relación con la presentación de casos de dengue y estadios larvarios de *Aedes aegypti*. En Paraguay el dengue es una enfermedad considerada endémica desde el año 2009, posee ciclos epidémicos que se repiten cada dos o tres años con la presencia de diferentes serotipos en circulación. El número de muertes ha ido en aumento, así como el número de casos en la población, además, Paraguay es uno de los países de América latina que sufrirá el impacto del cambio climático y ésto favorecería la proliferación de vectores.

Este estudio utilizó morfometría geométrica y clásica para evaluar las diferencias en tamaño y forma de las diferentes estructuras de los mosquitos adultos de *Aedes aegypti* y verificar si las poblaciones tienden a estructurarse, además se estableció relaciones entre distintas variables ambientales.

Los resultados indican que el dimorfismo sexual puede explicarse por el tamaño de los individuos y que se observan marcadas diferencias en PTA, AL, PL en morfometría clásica y variaciones en los landmark utilizados en morfometría geométrica. Las correlaciones indican relación negativa con la temperatura y relación positiva con la humedad en todos los casos, a excepción de la morfometría geométrica, donde no se evidenció relación aparente.

Las variaciones y correlaciones están ligadas a áreas urbanizadas y áreas conservadas, y, además, la aparente no relación puede deberse a las diferencias entre las variables microclimáticas y aquellas obtenidas a nivel macro que se establecen en torno a los lugares de cría y que varían considerablemente.

CAPÍTULO 1

1.1 INTRODUCCIÓN GENERAL

El cambio climático consiste en la variación del estado del clima que puede ser identificable, en las variaciones del valor medio y/o en la variabilidad de sus propiedades, que persiste durante largos períodos de tiempo, generalmente decenios o períodos más largos. El cambio climático puede deberse a procesos internos naturales o a forzamientos externos tales como modulaciones de los ciclos solares, erupciones volcánicas o cambios antropógenos persistentes de la composición de la atmósfera o del uso del suelo (IPCC, 2018).

Según Ebi, 2017 el cambio climático consiste esencialmente en un calentamiento global, producido por el incremento de la concentración de CO₂ en la atmosfera. Estos cambios ineludiblemente alterarán los ciclos de vida de muchas especies, y de aquellas como del mosquito *Aedes aegypti*, considerado el principal vector de enfermedades tropicales tales como dengue, chikunguya, zika y fiebre amarilla (Villamizar, 2017).

Varias condiciones climáticas como nubosidad, temperatura ambiental, punto de rocío y precipitaciones, muestran cierta relación con la presentación de casos de dengue y estadios larvarios de *Aedes aegypti*. Al conocerse las interacciones complejas entre el clima y la incidencia del dengue se facilitaría la implementación de un sistema de vigilancia que puede brindar informaciones valderas para apoyar la toma de decisiones en cuanto a la predicción y al control del vector de dengue (Betancourt, 2017).

Las condiciones climáticas y la dinámica de transmisión de enfermedades están interrelacionadas, y a medida que se acumula un mayor conocimiento sobre los parámetros meteorológicos, el impacto del cambio climático puede y debe mitigarse. Es así que, durante los últimos 50 años, los patrones de enfermedades arbovirales emergentes han cambiado significativamente (Gould, 2009).

La temperatura es el factor más crítico, ya que de ella depende la densidad vectorial y la capacidad vectorial, o sea, aumenta o disminuye la supervivencia del vector, además condiciona la tasa de crecimiento de la población de *Ae. aegypti*, cambia la susceptibilidad de dicho vector a los patógenos, modifica su periodo de incubación y su patrón de transmisión estacional (López & Molina, 2005).

Debido al pronunciado efecto que los cambios ambientales pueden ejercer sobre la biología de *Aedes aegypti*, es muy probable que las epidemiologías de éstas arbovirosis se vean profundamente influenciadas por el cambio climático futuro (Lopez & Neira, 2016).

Algunos trabajos han demostrado que en áreas urbanas intermedias se observa una estructuración poblacional significativa en los mosquitos *Aedes aegypti*. Los procesos de urbanización en las áreas de estudio parecen jugar un papel importante en los procesos microevolutivos de estos insectos, lo que da lugar a una estructuración de la población hasta ahora desconocida (Wilk-da-Silva et al 2018). Además, el uso de la morfobiometría aporta al conocimiento del comportamiento sexual y adaptación ambiental de poblaciones de mosquitos transmisores de enfermedades (Garzón & Schweigmann, 2018).

En Paraguay el dengue es una enfermedad considerada endémica desde el año 2009, posee ciclos epidémicos que se repiten cada dos o tres años con la presencia de diferentes serotipos en circulación. El número de muertes ha ido en aumento, así como el número de casos en la población (Mello-Román et al., 2019). El cambio climático afectará de alguna forma a todos los países del mundo, pero Paraguay es uno de los países de América latina que sufrirá el impacto del cambio climático pues las predicciones marcan un aumento de la temperatura y de eventos extremos (Bidegain, 2012), que favorecerían la proliferación del vector y un aumento de los casos de dengue al 2030 De hecho, existe la tendencia de aumento en el número de casos en diferentes escenarios donde se observa la vulnerabilidad al aumento de la temperatura y la precipitación (CEPAL, 2014).

Si bien se tienen registros de los índices de infestación del vector del dengue en los diferentes departamentos y distritos del país, los cuales son usados por el Programa Nacional de Dengue para el control de sus poblaciones y la prevención de la transmisión de la enfermedad, pocos estudios han sido realizados sobre el impacto de la variabilidad climática sobre la población de *Aedes aegypti* en el país y su potencial impacto en las medidas de control establecidas nacionalmente. Es pues el propósito del presente estudio evaluar las variaciones morfobiométricas de *Aedes aegypti* y su relación con variables ambientales urbanas y rurales de dos áreas endémicas de dengue en Paraguay.

CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

2.1. Enfermedades Transmitidas por Artrópodos

Las enfermedades virales que son generalmente transmitidas por artrópodos que se alimentan de sangre, se encuentran entre los problemas de salud pública más importantes. Las principales son enfermedades emergentes y son el mayor problema que enfrenta el mundo a principios del tercer milenio. Hay más de 534 virus listados en el catálogo de arbovirus, aproximadamente 134 de los cuales se ha demostrado que causan enfermedades en humanos. Estos se transmiten principalmente por mosquitos y garrapatas (Gluber, 2006).

En 1988, Rigau & Pérez describían que varias enfermedades o estados febriles importantes como el dengue, el Zika y Chikungunya son producidas por uno de los serotipos del dengue de los cuatro que existen.

2.2 *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762)

Actualmente el mosquito *Aedes aegypti* es considerado uno de los mayores problemas para salud pública debido a su papel transmisor y a que es considerado el culícido más dependiente del ambiente urbano. Su hábitat está íntimamente relacionado con las condiciones domiciliarias y peridomiciliarias que ofrece el modo de vida de las poblaciones humanas por eso es considerado un mosquito doméstico o urbano y su proliferación se incrementa gracias al aumento de sitios propicios para la ovoposición y desarrollo de etapas inmaduras (WHO, 2019. Dengue).

El *Aedes aegypti* proviene originalmente del viejo mundo, probablemente de la región de Etiopía, ya que fue descrito originalmente en Egipto. Acompañó al hombre en su migración por el mundo y se estableció donde las alteraciones antrópicas propiciaron su proliferación, es considerado cosmopolita, habitando regiones tropicales y subtropicales. A consecuencia de la diseminación pasiva por el hombre, esta especie tiene a menudo distribución geográfica discontinua, por lo tanto, está presente en regiones donde el hombre la transportó, y encontró condiciones favorables para su reproducción. Se encuentran en zonas de alta concentración humana y raramente en ambientes semisilvestres, donde la población humana es más escasa. Fue introducido en Brasil durante el periodo colonial en la época de tráfico de esclavos (Consoli & De Oliveira, 1994).

Dentro del gran número de especies de mosquitos resistentes encontramos al género *Aedes*, cuyo papel es importante en la transmisión de enfermedades virales como el dengue, fiebre del dengue hemorrágico y fiebre amarilla, causan grandes impactos en la salud pública.

2.3 Características generales del *Aedes aegypti*.

Son insectos dípteros, con metamorfosis completa u holometábolos; es decir; las etapas de su desarrollo están claramente diferenciadas. Son ovíparos y con posturas individuales. Son domésticos, los recipientes artificiales son en gran medida los más importantes lugares de cría (León, 1997).

2.4 Ciclo biológico del *Aedes aegypti*.

Su ciclo biológico comprende las etapas de huevo, larva, pupa e imago:

Huevos: los recipientes oscuros que contienen agua estimulan a la hembra para la postura de huevos, puestos en las paredes del recipiente, nunca en el agua. Los huevos se ponen individualmente, tienen aproximadamente 1 mm de largo, son de superficie lisa, al principio de color blanco, se van oscureciendo pasadas 2 horas de la postura, hasta alcanzar un color negro característico (León, 1997).

Larva: Una vez roto el cascaron, emerge la larva, que es la primera de cuatro estadios larvales (L1, L2, L3, L4) cada uno de estos, de tamaño mayor que su precedente. Tiene movimientos serpenteantes y es la fase en la que pasa el mayor tiempo alimentándose. Su desarrollo larval dura aproximadamente 5 a 7 días si las condiciones ambientales son favorables. Su cuerpo se diferencia claramente en cabeza, tórax y abdomen, de color blanquecino al inicio y luego se va oscureciendo (León, 1997; Consoli & De Oliveira, 1994).

Pupa: es la etapa transitoria de la fase acuática a la fase aérea. En esta etapa, no se alimenta. Tienen forma de coma, son bastante móviles si se las perturba, están casi siempre en contacto con la superficie del agua, su cuerpo tiene al principio el mismo color de la etapa larval y se va oscureciendo a medida que se acerca el momento de la emergencia del adulto (León, R. 1997; Consoli & De Oliveira, 1994).

Imago: Es la fase aérea y reproductora, luego de emerger de la pupa, sale el mosquito adulto y se posa sobre las paredes del recipiente por unas horas. Son insectos pequeños de color castaño oscuro o negro con rayas blanco-plateadas en el dorso y patas. En el tórax presenta un diseño en forma de lira y las patas son anilladas. Miden aproximadamente 5mm. Se alimentan de savia vegetal, pero la hembra necesita proteínas presentes en la sangre de los vertebrados para que sea capaz de fertilizar sus huevos (León, 1997; Consoli & De Oliveira, 1994; Rossi & Almirón, 2003).

2..5 *Aedes aegypti* y el cambio climático

Por otro lado, el clima influye de manera decisiva sobre una gran parte de los artrópodos, es muy probable que el efecto del cambio climático sobre las enfermedades transmitidas por artrópodos se observe al variarse los límites de temperatura. La capacidad vectorial puede modificarse sustancialmente en torno a los 30°-32 °C debido a que acorta el periodo de incubación y aumenta la capacidad de transmisión (López & Molina, 2005).

La estacionalidad y la variación interanual en la incidencia de enfermedades son más pronunciadas para las enfermedades arbovirales, ya que los reservorios de vectores son muy susceptibles a los cambios estacionales. Las condiciones climáticas y la dinámica de transmisión de enfermedades están interrelacionadas y, a medida que se acumula un mayor conocimiento sobre los parámetros meteorológicos, el impacto del cambio climático puede y debe mitigarse. Durante los últimos 50 años, más o menos, los patrones de enfermedades arbovirales emergentes han cambiado significativamente (Gould, 2009).

Dash et al. 2013 da hincapié en que los artrópodos dependen del clima, que el clima es un factor específico para su epidemia, y además el efecto del clima en la alteración de los ciclos naturales está bien documentado, no hay duda de que el cambio climático desempeña un papel en la dinámica de transmisión de las enfermedades arbovirales

En varias partes del mundo, el efecto del cambio climático dañino en la salud ya ha tenido sus consecuencias, por ejemplo, las relacionadas con las olas de calor, enfermedades que son transmitidas por vectores y por supuesto el deterioro de las condiciones de seguridad alimentaria. Estos resultados pueden y deben ser una advertencia de los muchos más problemas de salud para la población, si el cambio en las condiciones climáticas persisten, si no se aceleran las acciones para la reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero, los sistemas de salud podrían verse sumamente abrumados al intentar abordar el aumento previsto en la incidencia de enfermedades (Villanueva, 2019).

Debido al pronunciado efecto que los cambios ambientales pueden ejercer sobre la biología de *Ae. aegypti*, es muy probable que las epidemiologías de éstas arbovirosis se vean profundamente influenciadas por el cambio climático futuro (Lopez & Neira, 2016).

La temperatura es el factor más crítico ya que de ella depende la densidad vectorial y la capacidad vectorial, o sea, aumenta o disminuye la supervivencia del vector, además condiciona la tasa de crecimiento de la población de *Ae. aegypti*, cambia la susceptibilidad de

dicho vector a los patógenos, modifica su periodo de incubación y su patrón de transmisión estacional (López & Molina, 2005).

Dash y sus colaboradores (2013) mencionan que, por lo tanto, con el aumento gradual de las temperaturas de la superficie, la urbanización, las prácticas de riego y el comercio, parece que los arbovirus continuarán emergiendo en nuevas regiones. Como los artrópodos dependen del clima específico para su epidemia y el efecto del clima en la alteración de los ciclos naturales está bien documentado, no hay duda de que el cambio climático desempeña un papel en la dinámica de transmisión de las enfermedades arbovirales.

Ochoa y sus colaboradores (2017) en su trabajo “Enfermedades transmitidas por vectores y Cambio climático” mencionan que varios grupos de investigación por todo el mundo, han generado modelos predictivos para evidenciar la redistribución e incidencia de las enfermedades transmitidas por vectores, así como las poblaciones en riesgo. Y tratan de demostrar la relación directa entre el cambio climático, la falta de servicios básicos en las áreas urbanas y las enfermedades transmitidas por vectores. En general, las predicciones sobre la redistribución de los vectores son desalentadores y desfavorables y representan un problema para salud pública que va más allá de las fronteras políticas.

Liu-Helmersson y colaboradores (2016) en su trabajo “Climate Change and Aedes Vectors: 21st Century Projections for Dengue Transmission in Europe” indicaron que el aumento de la temperatura puede expandirla propagación geográfica de las enfermedades transmitidas por vectores a las zonas templadas, aunque ésta solo sea transmitida por mosquitos de climas tropicales, y sugirieron que el brote epidémico ocurrido en Madeira en año 2012, pudo haber sido consecuencia del cambio climático. El trabajo se basó en estimaciones del potencial epidémico del dengue, utilizando su capacidad vectorial, basada en la temperatura histórica y proyectada desde 1901 al 2099. Sus resultados mostraron una baja capacidad vectorial (VC), pero también indicaron que éste, en verano, era suficiente como para iniciar un brote en el sur de Europa.

El cambio climático permite que *Aedes aegypti* infeste nuevas áreas. En consecuencia, permite que los arbovirus que transmite el mosquito, por ejemplo, el dengue, el chikungunya, el zika y la fiebre amarilla, emerjan en áreas previamente no infectadas. Mediante la utilización de un modelo matemático basado en procesos empíricos, se estudió la viabilidad de infestación de *Aedes aegypti*, evaluando el potencial de éste insecto para establecerse en Europa durante el siglo XXI mediante la simulación de cinco modelos de climáticos sobre la base de los datos establecidos del escenario global de cambio climático. Los resultados

indicaron que bajas emisiones de carbono producirían mínimos cambios en la situación actual durante todo el siglo XXI, en contraste en un futuro con alto contenido de carbono, una gran parte del sur de Europa corre el riesgo de ser invadida por *Aedes aegypti* (Liu-Herlmersson *et al.*, 2019).

Además, un estudio fue diseñado para descubrir una relación de la infección por dengue con factores climáticos como la lluvia, la temperatura, la humedad relativa durante una epidemia. Se tuvieron en cuenta datos mensuales de precipitación total, temperatura y humedad relativa para el año 2003, que se obtuvieron del Departamento Meteorológico de Delhi, Nueva Delhi y se analizaron retrospectivamente; se dieron cuenta de que el brote coincidió con periodos de lluvias y diferencias significativas entre las temperaturas de tres periodos. Destacaron a la lluvia, la temperatura y la humedad relativa como los factores climáticos principales e importantes, que podrían ser los responsables de un brote por sí solos o colectivamente (Chakravarti, 2005).

Carneiro y sus colaboradores (2017) observaron que los meses de enero, febrero, marzo, abril y mayo en un periodo de tres años, fueron los que registraron el mayor número de casos notificados. Indicaron también que existe una asociación estadística de humedad y datos de concentración contaminante, con los casos reportados de dengue. Aunque la temperatura no mostraba una asociación estadística con los casos registrados de dengue, pudieron verificar que igualmente los picos de temperatura coinciden con los brotes de dengue en siete municipios del Gran São Paulo.

Misslin y colaboradores (2016), aseguran que la temperatura juega un papel determinante en el potencial epidémico del dengue, afectando partes cruciales de los ciclos vitales de los mosquitos y los virus. La predilección urbana de las especies de mosquitos exacerbará aún más el impacto del cambio de temperatura global debido al efecto de isla de calor urbano.

La temperatura puede tener efectos positivos o negativos en las poblaciones de insectos, todo depende del cambio relativo de las magnitudes de media varianza térmica. Es decir, si se aumenta la variabilidad de la temperatura aumentará el desempeño de los individuos, si la media está por debajo de la temperatura óptima (T_o). Sin embargo, la misma magnitud de cambio en la variabilidad disminuirá el desempeño cuando la media está por encima de T_o (Stay & Baquet 2019).

La necesidad de comprender lo que impulsa o promueve las epidemias de estos patógenos es aguda, y las epidemias de virus transmitidas por artrópodos se vuelven cada vez más problemáticas. El intervalo de generación de epidemias de dengue es altamente sensible a la

temperatura, disminuyendo dos veces entre 25 y 35 ° C sugiriendo que las epidemias de virus del dengue pueden acelerarse a medida que aumenta la temperatura. Estos datos pueden ofrecer también estimaciones tentativas pero que deben tenerse muy en cuenta, cómo las epidemias de otros virus transmitidos por *Ae. Aegypti* como el chikungunya y el zika, podrían verse afectados por el cambio climático futuro (Siraj et al., 2017).

Otros estudios han demostrado que la abundancia de *Aedes aegypti* se asociará con fluctuaciones ambientales, revelando patrones como la aparición de brotes de mosquitos retrasados, es decir, aumentos extraordinarios repentinos en la abundancia de mosquitos después de altas temperaturas extremas transitorias (Chávez et al., 2014).

La expansión en la distribución geográfica de las enfermedades transmitidas por vectores es una consecuencia muy destacada del cambio climático, al igual que las consecuencias de la urbanización para enfermedades que ya son endémicas, que pueden ser aún más importantes para la salud pública (Misslin et al., 2016).

2..6 Relación con el ordenamiento territorial

La apropiación del espacio geográfico da como resultado grandes y profundas transformaciones o cambios en los ecosistemas, éstos se evidencian, especialmente, en el proceso acelerado de urbanización que vive nuestro planeta (Alirol et al., 2011).

El espacio geográfico es cada vez más artificial y la naturaleza es transformada por el ser humano a ritmos desiguales, según las relaciones entre las sociedades, sus medios técnicos disponibles y el espacio en que se desarrollan. Es este sentido, una mejor comprensión de procesos históricos y territoriales que implican a la urbanización permite identificar particularidades del contexto, el cual aporta elementos importantes para el control y prevención integral del dengue a escala urbana (Fuentes et al., 2015).

Entonces, por su carácter especialmente y preferentemente urbano, las condiciones espacio-ambientales de las ciudades, tanto en espacios públicos como privados, integran un conjunto de factores que afectan la presencia y abundancia del *Aedes aegypti*, vector del dengue.

Esto puede evidenciar que una mala disposición de los barrios y manzanas sin algún tipo de ordenamiento territorial y ambiental, pueden ocasionar el aumento de sitios de prosperidad para estos insectos y por ende un mayor riesgo de dispersión y transmisión de enfermedades transmitidas por *Ae. aegypti*.

La zonificación del riesgo de fiebre amarilla se evidencia como una aproximación metodológica para apoyar la planificación territorial en salud, corresponde a una herramienta multivariante en la que el acopio, el cruce y el análisis de la información de los antecedentes

de transmisión, variables ambientales y atributos socioeconómicos han sido ponderados integradamente como criterios, de acuerdo a niveles de amenaza y vulnerabilidad, permitiendo establecer una valoración del riesgo en escala ordinal (Niño, 2018).

Además, los desagües fluviales mal elaborados juegan un papel importante en la formación de criaderos de mosquitos. Paploski y colaboradores (2016), mencionan que los desagües pluviales a menudo acumulan agua y sirven como sitios de desarrollo de larvas y áreas de descanso para adultos para *Ae. aegypti* y *Ae. Albopictus*.

Da Silva y colaboradores (2018) también mencionan a la urbanización como un factor de microevolución de poblaciones de *Ae. Aegypti*:

“Los procesos de urbanización en las áreas de estudio parecen jugar un papel importante en los procesos microevolutivos provocados por modificaciones hechas por el hombre en el medio ambiente, lo que resulta en un patrón de estructuración de la población previamente desconocido de gran importancia epidemiológica”

2..7 Variaciones morfométricas y diferencias en las condiciones ambientales

Jirakanjanakit y sus colaboradores (2007) en su trabajo “Influencia de la densidad larvaria o variación de los alimentos en la geometría del ala de *Aedes (Stegomyia) aegypti*” demostraron que las condiciones del hábitat provocan cambios en la morfología del vector, tomando como variables la densidad larvaria y la calidad del alimento junto con la temperatura y que está relacionado íntimamente con su capacidad vectorial y su trasmisibilidad, el tamaño y el peso de los mosquitos puede decirnos algo acerca de su capacidad como vector.

Ayorinde y colaboradores (2016) describieron en su trabajo “Differentiation of some populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in three areas of Lagos State, Nigeria, using wing morphometry” que la diversidad poblacional de mosquitos es uno de los problemas más importantes medicamente hablando; es así que utilizaron la morfometría de las alas, para identificar la variación de especies entre algunas poblaciones de *Aedes aegypti* en tres áreas del estado de Lagos en Nigeria. Identificaron tres grupos de *Ae aegypti*, y las diferencias en las longitudes y los puntos de observación observados en las venas de arrastre sugieren una posible divergencia morfológica entre las poblaciones. Pero no explica a qué factores responde el fenotipo de esos organismos.

Algunos autores han demostrado que en lugares donde ocurren procesos de urbanización la población de mosquitos *Aedes aegypti* comienza a diferenciarse desde el punto de vista

estructural. Ocurre una estructuración poblacional significativa en los mosquitos *Aedes aegypti* lo cual está relacionado con los diferentes grados de urbanización de las áreas donde se recolectaron los especímenes y su distribución geográfica. Los procesos de urbanización en las áreas de estudio parecen jugar un papel importante en los procesos microevolutivos ocasionados por las modificaciones del medio ambiente provocadas por el hombre, lo que da lugar a una estructuración de la población hasta ahora desconocida. Conocer cómo se encuentran estructurando las poblaciones utilizando la morfobiometría puede mostrar patrones de gran importancia epidemiológica (Wilk-da-Silva *et al* 2018). Así como también sus procesos de adaptación al medio ambiente (Garzón & Schweigmann, 2018). Las condiciones ambientales y los comportamientos de estructuración poblacional han sido poco estudiadas y un abordaje donde sean incorporadas a otras variables bioecológicas plantean las chances de encontrar variaciones estructurales importantes entre sitios diferentes de captura y localización geográfica.

CAPÍTULO 3

3.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cambio climático es un fenómeno que se puede definir por las variaciones significativas y duraderas de los patrones locales o globales del ambiente. Este proceso está estrechamente ligado con el calentamiento del sistema climático (calentamiento global). El aumento de la temperatura y la humedad casi siempre va acompañado del aumento en la frecuencia de enfermedades transmitidas por vectores, tanto en altitud como en latitud (IPCC, 2014).

Sumado a esto, se debe tener en cuenta que los artrópodos, como el mosquito, dependen del clima, es específico para su epidemia, y además el efecto del clima en la alteración de los ciclos naturales está bien documentado (Dash et al., 2013).

Además, uno de los grandes desafíos científicos actuales es comprender la manera en la cual el cambio climático global afectará a la visión epidemiológica del futuro. En lo referente a aquellas enfermedades transmitidas por el mosquito *Aedes aegypti* (Dengue, Chikungunya, Zika) estos, se encuentran entre las de mayor relevancia para la salud pública.

Debido al pronunciado efecto que los cambios ambientales pueden ejercer sobre la biología de *Ae. aegypti*, es muy probable que las epidemiologías de éstas arbovirosis se vean profundamente influenciadas por el cambio climático futuro (Lopez & Neira, 2016).

Además, el Paraguay es un país con una historia de importantes epidemias de dengue, desde 1989. Sin embargo, la epidemia más grande y más severa fue en el año 2011 reportándose más de 50.000 casos (Boletín epidemiológico, 1999, 2002, 2011). Los informes periódicos revelan que en el mes de enero de 2018 se registraron 313 casos en el país, con dos muertes y un posible caso de Chikunguya. También en el primer semestre del 2019 ya se reportaron 8324 casos de dengue (585 confirmados y 7739 clasificados como probable) (Boletín epidemiológico 2019).

Esto constituye un problema para el gobierno nacional, entidades públicas y la población en general, ya que existe riesgo de aumento de la morbilidad; riesgo de pérdida de vidas humanas; riesgo de disminución de la productividad escolar y laboral, grandes impactos económicos debidos a la necesidad de aumentar la financiación de programas de salud, entre otras problemáticas.

Cada vez existen más ocasiones en que la aparición de nuevas enfermedades o epidemias de nuevas arbovirosis o algunas ya conocidas puedan instalarse en las poblaciones humanas, debido a las amenazas ambientales (p.ej. cambios climáticos, nuevos desarrollos, uso de la tierra, urbanización, etc.), así como de la aproximación del hombre al vector y los factores socioeconómicos que circundan esta relación. Para poder lograr una prevención y control más eficaz es necesario identificar las características de las poblaciones vectoriales y los factores determinantes que permiten la aparición de arbovirosis o el mantenimiento y propagación de las mismas en el tiempo y el espacio. Con el fin de evitar su dispersión se requiere de estrategias innovadoras que permitan establecer medidas preventivas basadas en el conocimiento de vectores y las condiciones del entorno donde los mismos se movilizan. Esta propuesta establecerá la relación entre los determinantes ambientales, sociales y las características morfobiométricas del *Ae. aegypti* en diferentes ambientes.

No existen estudios en Paraguay que explore el efecto ambiental sobre rasgos fenotípicos del vector. Por lo tanto, con este proyecto se pretende recabar información acerca de la biología del mosquito, como influyen las condiciones ambientales en la respuesta morfológica de este vector a dichos fenómenos.

3.2 HIPÓTESIS

“Las diferencias en las condiciones ambientales de los puntos de colecta, su distribución geográfica y localización influyen en la estructuración de las poblaciones de individuos adultos de *Aedes aegypti*”

3.3 OBJETIVOS

Del análisis de la revisión bibliográfica, se desprende y es bastante notoria la escasez en la evidencia generada a partir de la investigación en enfermedades arbovirales y los factores ambientales. Entre otras, las prioridades de investigación en este campo deben abarcar: comprender los factores ambientales que facilitan la aparición, el mantenimiento y la transmisión de estas enfermedades; el estudio de la evolución de los agentes infecciosos patógenos que resultan en cambios en la infectividad, virulencia, transmisibilidad y

adaptaciones, factores del huésped que influyen en la aparición de nuevas infecciones y su transmisión. Por lo tanto, el objetivo General se enuncia como se indica a continuación:

3.3.1 General

3.3.1.1 Evaluar las variaciones morfológicas de *Aedes aegypti* y su relación con variables ambientales urbanas y rurales de áreas endémicas de dengue en Paraguay.

3.3.2 Específicos

3.3.2.1 Identificar la presencia o ausencia de *Ae. aegypti* en lugares de captura centinelas en ambos departamentos de áreas rurales y urbanas de Asunción y los departamentos de Alto Paraná y Central.

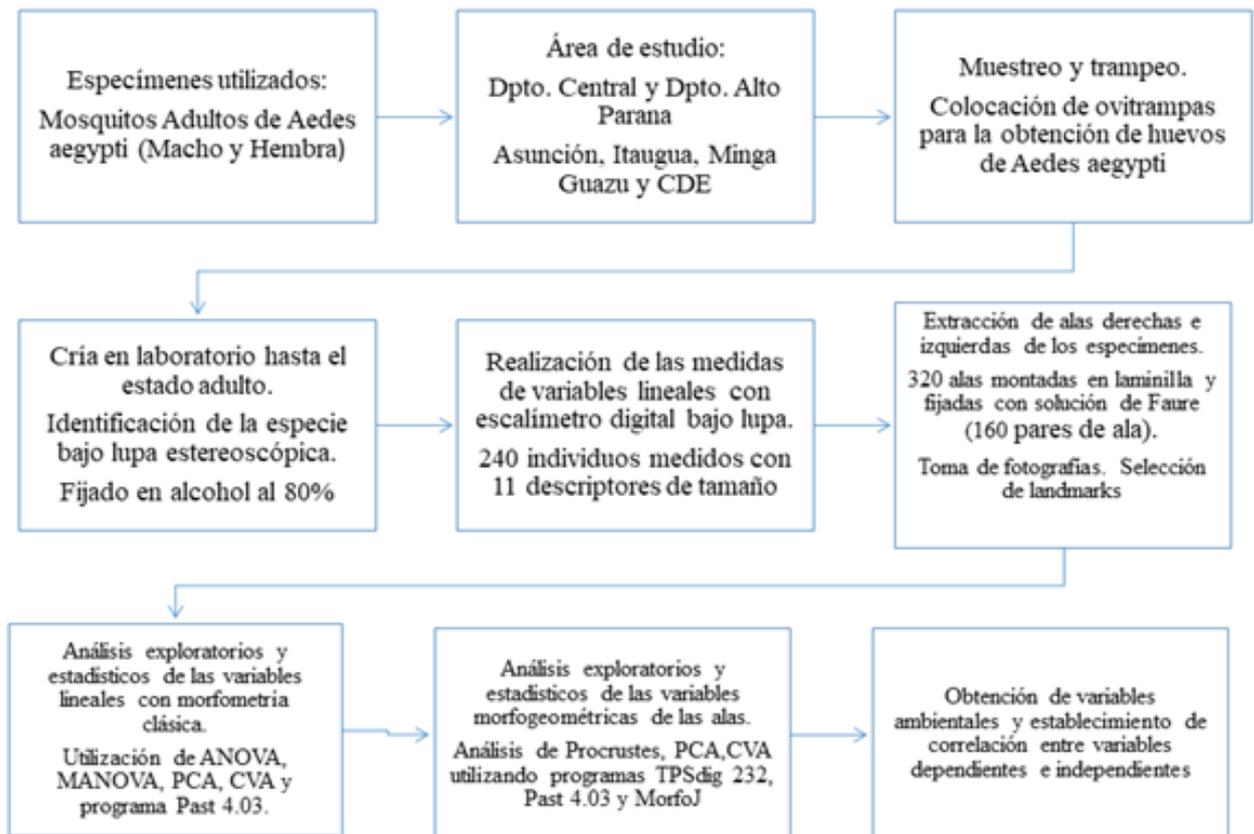
3.3.2.2 Caracterizar variaciones morfológicas de poblaciones de *Aedes aegypti* de áreas rurales y urbanas de Asunción y los departamentos de Alto Paraná y Central.

3.3.2.3 Someter a prueba los parámetros ambientales y su influencia sobre las variables morfológicas de poblaciones de *Aedes aegypti* de dos áreas diferentes en Asunción y los departamentos de Alto Paraná y Central.

CAPÍTULO 4

MATERIALES Y METODOLOGÍA

Para mayor comprensión se incluye un esquema general de la metodología del trabajo **Figura**



4.1: Descripción general de Metodología de trabajo

4.1 Especímenes utilizados

Los especímenes son mosquitos adultos de la especie *Aedes aegypti*, que provinieron de ovitrampas pertenecientes a 4 zonas geográficas (Asunción, Itaugua, Mínga Guazu, CDE) para este trabajo se utilizaron 240 individuos de la especie, divididos en 60 individuos por zona geográfica (30 machos y 30 hembras), para realizar los trabajos de morfometría lineal o clásica. Se utilizaron así 120 machos y 120 hembras.

Para realizar los trabajos de morfometría geométrica se utilizaron 160 individuos de la especie divididos en 40 individuos por zona geográfica.

De aquí en adelante y en los resultados cada zona geográfica será nombrada como “Población de”.

4. 2 Área de estudio

Los puntos destinados para la colecta entomológica se realizaron aleatoriamente en diferentes sitios de Asunción y de los departamentos, Central y Alto Paraná, durante el periodo comprendido entre octubre de 2019 a febrero de 2020. La zona de captura en Asunción fue categorizada como zona netamente urbana, con escasa vegetación en el barrio Tacumbu. En el departamento Central, el lugar seleccionado correspondió a una zona de urbanización intermedia (áreas urbanas y conservadas rodeaban el sitio de captura) en el barrio las Colinas del distrito de Itaugua, el área presentaba zonas de cultivo y zonas de pequeños remanentes de bosques, así también, viviendas rurales con varios animales de granja. En el departamento de Ato Paraná se seleccionaron dos lugares, uno en Minga Guazu, en el barrio Monday y Akaray considerado zona rural, presentando grandes áreas de cultivo y zonas boscosas, poco urbanizadas y en CDE en el barrio Conavi en dos puntos de colecta, ambos sitios considerados de urbanización intermedia, presentando pequeñas zonas de espacio verde como plazas. Cada punto fue considerado como de captura centinela, donde se colocaron las ovitrampas en 6 a 8 puntos diferentes con un buffer mínimo de 100 y 200 metros cada uno. Los datos de interés se registraron en una planilla de campo (**Figura 4.2 y 4.3**)

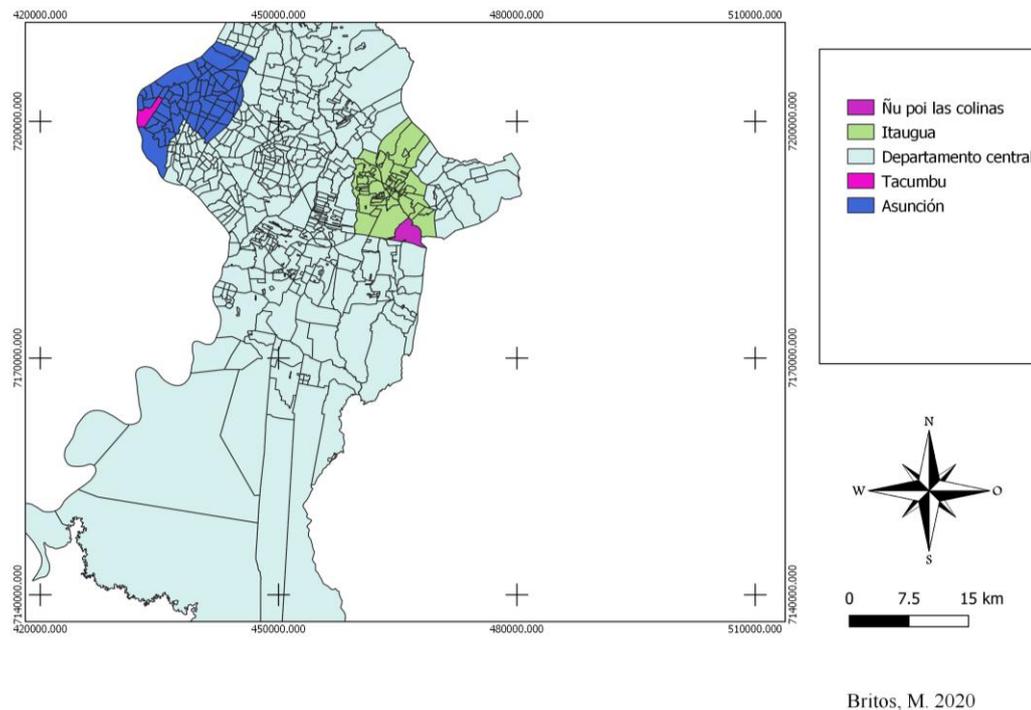


Figura 4. 2 Áreas de estudio en Asunción y Departamento Central

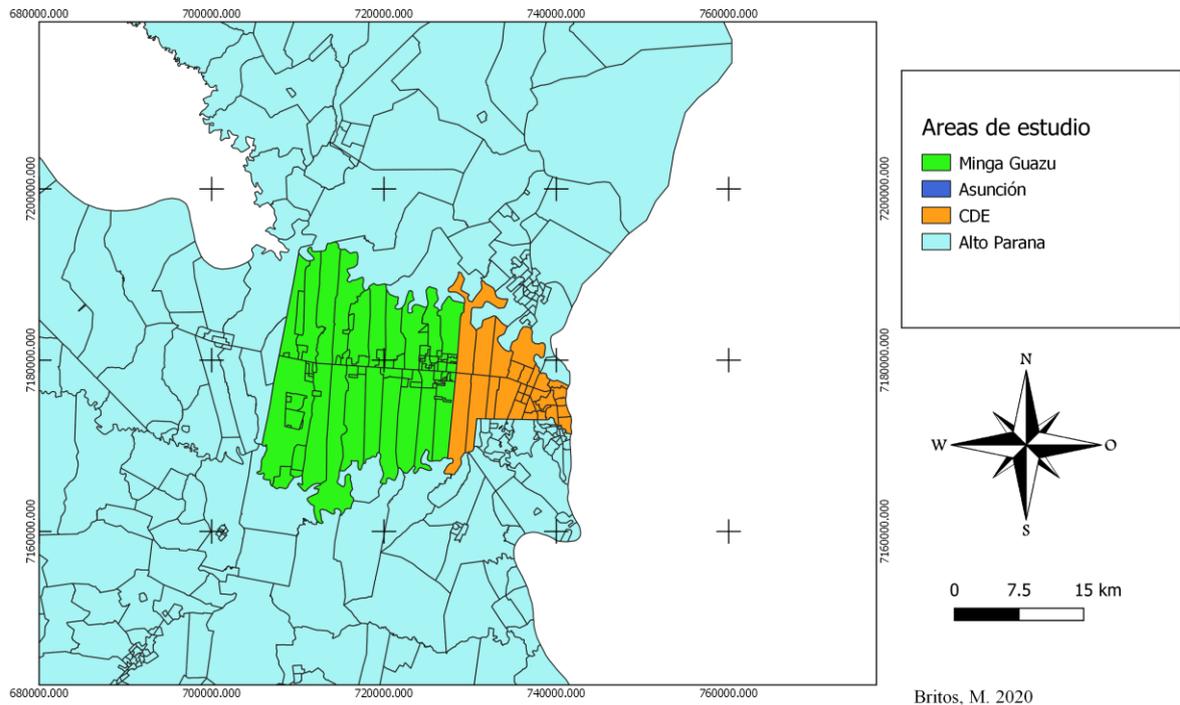


Figura 4.3: Áreas de estudio en Alto Paraná.

4.3 Colecta de huevos de *Aedes aegypti*

Los huevos se obtuvieron colocando trampas de ovoposición (ovitrampas) en los puntos fijados, las trampas consistieron en masetas de plástico pintadas en color negro, a las cuales se les adhieren paletas de cartón, una a cada lado. Las masetas tenían agua de grifo con el fin de crear sitios propicios para la puesta de huevos. Cada trampa permaneció un máximo de 7 días en cada punto. Posteriormente a los 7 días, fueron trasladados al insectario del Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica (CEDIC). Se realizó el conteo de huevos por paleta bajo lupa estereoscópica.

A partir de allí se procedió a la cría y mantenimiento de éstas hasta su estado adulto.

4.4 Cría y manutención de huevos de *Aedes aegypti*

La cría y mantenimiento de los huevos del mosquito *A. aegypti* se realizó según la metodología de Consoli & de Oliveira, 1994 con algunas modificaciones.

Este proceso se realizó en el insectario del Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica (CEDIC).

Se obtuvieron larvas de *Aedes aegypti* al sumergir las paletas de la ovitrampa en agua previamente burbujeada. Fueron puestos a eclosionar simultáneamente para lograr

homogeneidad fisiológica. La cría se realizó en recipientes de cría de aproximadamente 30 x15 cm con agua potable burbujeada. La alimentación de las larvas de mosquito fue a base de alimento para perro previamente pulverizado, hasta la emergencia del adulto. Cuando el adulto emergió fue trasladado a jaulas de mosquitos, que consisten en grandes recipientes de madera de forma cilíndrica que tienen dos aberturas principales para la manipulación de los insectos.

4.5 Identificación de *Aedes aegypti*

Una vez que emergió el mosquito adulto, fueron identificados bajo la lupa estereoscópica, teniendo en cuenta la clave de identificación de mosquitos adultos de importancia médica de Consoli & de Oliveira (1994).

Cada individuo identificado, se fijó con alcohol al 80% y se reservó hasta el momento de las mediciones y fue separado por sexo y población.

MORFOMETRÍA LINEAL O CLÁSICA

4.6 Medidas de Morfometría lineal o clásica

Las medidas externas fueron seleccionadas en base a la lectura previa de los antecedentes e incluyeron los siguientes descriptores: Ancho de la cabeza (CA), longitud de la cabeza (CL), longitud de probóscide (PL), ancho del tórax (TA), longitud del tórax (TL), longitud de la lira (LL), ancho del abdomen (AA), longitud del abdomen (AL), longitud del fémur (PF), longitud de la tibia (PTI), longitud de los tarsos (PTA), correspondiendo cada una a las variables dependientes. Las medidas fueron tomadas con un escalímetro digital, bajo lupa estereoscópica, la unidad de medida de cada uno de los descriptores está en milímetro (mm). Los datos obtenidos en las mediciones se registraron en planillas Excel (Microsoft, 2010).

4.7. Análisis Estadístico

Se utilizó estadística descriptiva del programa de Excel (Microsoft, 2010) para analizar la media y la varianza de los datos con el fin de obtener análisis exploratorios de los datos crudos. Los datos obtenidos a través de las medidas lineales, fueron analizados, primeramente, mediante análisis de varianza (ANOVA) con previa comprobación de supuestos, al no cumplir con los supuestos fueron analizados con el test de Kruskal-Wallis (5% de error) y MANOVA como prueba *post-hoc*, para ello se utilizó el software Past 4. 3.00 (Hammer, 2001). Se aplicó análisis multivariado a los datos, con el fin de obtener el Análisis

de Componentes Principales (PCA) el cual busca resumir el patrón de variación de las variables originales. Además, el PCA indicará el porcentaje de variación explicada por cada eje (Zelditch, 2004; Strauss, 2010).

Posteriormente se evaluó la diferencia entre los grupos con el Análisis de Variables Canónicas (CVA).

MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA

4.8. Muestras

Fueron incluidos en los análisis morfogeométricos, 160 individuos. Se utilizaron 40 individuos de cada población divididos en 20 machos y 20 hembras. En todos casos las muestras consistieron en mosquitos adultos, previamente fijados en alcohol al 80% provenientes de la población del análisis lineal. Se utilizaron las alas derechas e izquierdas de dichos individuos (320 alas).

4.9 Tratamiento de las muestras

Los individuos utilizados en los análisis morfogeométricos se colocaron en una placa de Petri de vidrio, sumergidos en alcohol. Para la extracción de las alas se utilizó dos jeringas con las cuales, se fue desprendiendo con cuidado cada lado del ala.

Posterior a la extracción del ala, fueron montadas en una lámina con ayuda de un pincel N° 0 utilizando solución de Faure con el fin de fijar las alas y evitar que se rompan o fisuren.

Cada lámina contuvo el ala izquierda y derecha de cada individuo. Cada lámina a su vez contuvo 10 pares de alas. En total fueron 320 alas fijadas (160 pares). Los datos se dividieron en alas izquierdas y alas derechas (para machos y hembras) y a partir de eso se llevó por separado cada uno de los siguientes pasos.

4.10 Adquisición de imágenes

Las fotografías fueron tomadas con un dispositivo celular Samsung A10 con resolución de 13 megapíxeles. Para estandarizar la toma de fotografías, se utilizó en todos los casos el mismo aumento en la lupa estereoscópica (35x). A su vez, las fotografías se tomaron utilizando como guía una hoja milimetrada, adosada a la lámina utilizando al primer individuo de cada población con el fin de obtener una escala en cada foto (1 mm).

4. 11 Selección y digitalización de landmarks

Los puntos anatómicos homólogos o landmark seleccionados para realizar este trabajo son de tipo I, correspondiente a puntos de homología biológica, es decir, anatómicas, como la nervadura de las alas de insectos (Bookstein,199; Dryden & Mardia, 1998; Zelditch et al. 2004). Después de la correspondiente búsqueda bibliográfica, referida a dípteros, específicamente mosquitos de la especie *Aedes aegypti* se seleccionaron 18 landmark para la vista dorsal del ala. La digitalización de las alas se realizó con el programa TPSDig2 (Rohlf, 2005).

Landmark	Vena	Abreviación
1	Radial	r
2	Sub costal	Sc
3	Radio	R
4	Rama sectorial del radio	R1
5	Rama sectorial del radio	R2
6	Rama sectorial del radio	R3
7	Rama medial	M1
8	Rama medial	M2
9	Cubital	Cu1
10	Cubital	Cu2
11	Anal	A
12	Alula	alu
13	Cubital posterior	cp
14	Radial medial	rm1
15	Radial medial	rm2
16	Radial medial	rm3
17	Radial medial	rm4
18	Radial medial	rm5

Tabla 4.1 : Lista de los 18 landmark utilizados y los nombres de las venas correspondientes a cada una de ellas.

4.12 Análisis exploratorios

Las configuraciones de landmarks fueron exportadas al programa MorphoJ (Klingenberg 2011), uno de los softwares en el que se realizaron los distintos análisis multivariados. Se analizaron los datos crudos en busca de outliers, que es una observación anormal o extrema en el conjunto de datos. Los datos se dividieron en alas izquierdas y alas derechas.

4.13 Análisis estadísticos

Los datos obtenidos de la digitalización de las alas, se analizaron, primeramente, mediante análisis de varianza (ANOVA) con previa comprobación de supuestos, al no cumplir con los supuestos se analizaron con el test de Kruskal-Wallis (5% de error), como prueba *post-hoc* para determinar diferencia entre medias, para ello se utilizará el software Past 4. 3.00 (Hammer, 2001).

Se aplicó análisis multivariado entre los datos para determinar la distancia y agrupación por similitud entre los individuos de las poblaciones evaluadas, para ello se procedió a realizar un dendrograma empleando el método UPGMA con el índice de similitud de Gower aplicado a datos cuantitativos continuos, empleando un bootstrap de 10.000 repeticiones, para ello se utilizó los programas Past v. 3.00 (Hammer, 2001) y FigTree v1.4.4 (Rambaut, 2012).

Las matrices de coordenadas fueron superpuestas a través de un Análisis de Procrustes (AGP) con lo cual se logró centrar, escalar y rotar todas las configuraciones de landmarks (Rohlf y Slice, 1990).

Con estos análisis se obtuvieron el tamaño del centroide, correspondiendo esto a la variable de tamaño; y también se obtuvo las coordenadas de Procrustes, correspondientes a la forma. Posterior a la obtención de éstas variables se pudo analizar la forma y tamaño por separado.

El tamaño del centroide se obtuvo graficando Box-plot de los centroides, con ello se logró visualizar la distribución y las diferencias entre las muestras. La significancia estadística de éstas diferencias fue evaluada mediante un análisis de varianza univariado (ANOVA) y las comparaciones se realizó con el Test Kruskal –Wallis en el paquete estadístico Past 4. 3.00 (Hammer, 2011).

La forma fue evaluada mediante el análisis de procrustes, sometido éstos a un Análisis de Componentes principales (PCA) el cual busca resumir el patrón de variación de las variables originales. Además, el PCA indicará el porcentaje de variación explicada por cada eje (Zelditch, 2004; Strauss, 2010).

Posteriormente se evaluó la diferencia entre los grupos con el Análisis de Variables Canónicas (CVA).

La significancia de las diferencias de forma entre las poblaciones fue evaluada con el análisis multivariado de varianza y con las coordenadas de procrustes. Además, el programa MorphoJ 1.06, adicionalmente al CVA, ofrece un test de permutación con 10.000 repeticiones con significancia de $p < 0.001$, además provee una tabla de distancias de Mahalanobis entre los grupos.

4.14 Obtención y procesamiento de datos ambientales

Para la obtención de las variables ambientales se partió de la localización georreferenciada de las viviendas donde se colocaron las ovitrampas para captura de huevos de *Aedes aegypti* en una imagen espacial clasificada del área de estudio. Los datos de georreferenciación fueron obtenidos usando la aplicación Map Marker 2.19.1_360. Esos datos fueron trasladados a google earth pro para obtener la georreferenciación en coordenadas de latitud y longitud. Se utilizó Qgis 3.8.2 para realizar los mapas correspondientes al área de estudio utilizando datos vectoriales para obtener el shape.

Entorno a cada trampa se determinaron distancias de 100, 200 metros o más si fuese necesario del punto geo-referenciado, para completar 6 u 8 puntos de captura centinela. Los valores de, humedad relativa y temperatura se obtuvieron de las bases de datos de la Dirección de Meteorología e Hidrología de las estaciones correspondientes a ambos departamentos y los valores de NDVI, NDWI fueron obtenidos a través de expertos en el tema.

Las estaciones meteorológicas que fueron usadas corresponden a estaciones convencionales con datos diarios de temperatura máxima y datos diarios de porcentaje de humedad relativa correspondientes a la estación de Asunción (código 86218) para Asunción y el dpto. Central y a la estación del Aeropuerto Guaraní (código 86234) para el dpto. de Alto Paraná.

En cuanto a los índices de vegetación y humedad se utilizó Sentinel-2 MSI (Instrumento multiespectral, nivel 2A) cuyo proveedor de conjunto de datos es la [Unión Europea / ESA / Copernicus](#).

Para extraer el NDVI se utilizó datos de reflectancia de superficie Sentinel-2 corregidos atmosféricamente, utilizando los canales o bandas rojo y NIR y para el NDWI se utilizó reflectancias espectrales dentro de los canales verde y NIR. Ambos fueron calculados en Earth Engine con el método normalized Difference.

En relación a las correlaciones de las variables morfométricas y morfogeométricas con las variables ambientales, se realizó primero un análisis de clúster o conglomerados, siendo ésta una técnica estadística multivariante que busca agrupar las variables tratando de lograr la máxima homogeneidad y diferencia entre los grupos, esto se realizó en el programa estadístico R studio versión 4.0.2 utilizando las variables morfobiométricas para determinar cuáles de estas variables son las que mejor describen la variación en las muestras. Una vez obtenidos los cluster, se realizó el DAPC (análisis discriminante de los componentes principales), este método busca discriminación de individuos en grupos bien definidos; y así determinar entre los individuos de las diferentes poblaciones cuál de las variables morfométricas son las que resaltan. Posteriormente se aplicó regresión a través del modelo lineal bivariado ofrecido por Past 4.3.00 para evaluar la relación de dichas variaciones morfobiométricas con las variables ambientales seleccionadas para este trabajo.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS

Se comprobó la presencia de individuos de *Aedes aegypti* en la capital del País y en los dos departamentos Central y Alto Paraná, que forman parte del trabajo de investigación, mediante la presencia de huevos de la especie, en las ovitrampas.

MORFOMETRÍA LINEAL

5.1 Análisis preliminares y exploratorios.

Las mediciones morfológicas provenientes de la técnica de morfología lineal, arrojaron resultados con las variables morfométricas de cada población separadas por sexo y entre poblaciones de distinto origen (**Anexo 1**).

En un análisis posterior, la varianza y la media de los datos de las poblaciones mostraron que no poseen una distribución normal, por lo tanto, se aplicó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis, la cual muestra que existen diferencias significativas en el test entre los machos y hembras de una misma población (intra-poblacional) con $p < 0,05$ (**Anexos 2**).

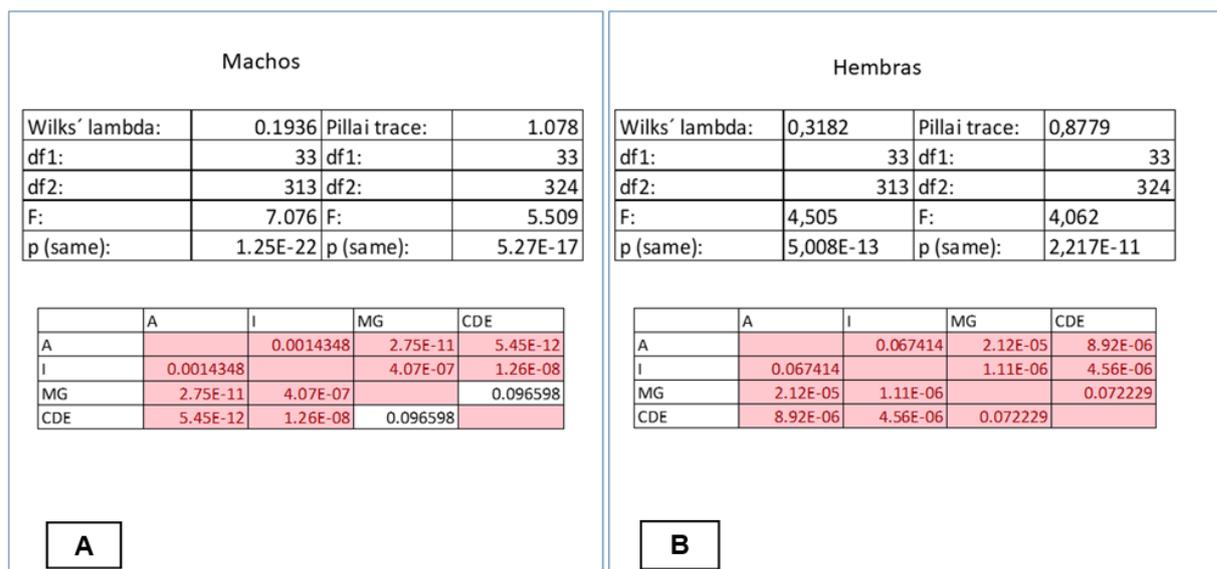


Figura 5.1 A. Análisis MANOVA que muestra las diferencias del conjunto de datos de los machos de Asunción (A), Itaugua (I), Minga Guazu (MG), Ciudad del este (CDE). B. Análisis MANOVA que muestra las diferencias significativas del conjunto de datos de las hembras de Asunción (A), Itaugua (I), Minga Guazu (MG), Ciudad del este (CDE).

De igual manera, el análisis extra- poblacional o análisis entre poblaciones de diferente origen mostró que existen diferencias estadísticamente significativas en el test entre estas poblaciones ($p < 0,05$). El análisis para WilK'Lambda y Pillai trace demostró además diferencias significativas entre los datos de las poblaciones; con ambos test con $p < 0,05$. El test WilK'Lambda para machos arrojó $p = 1,25e^{-22}$ y para hembras $p = 5,008e^{-13}$, y el test Pillai trace arrojó $p = 5,27e^{-17}$ en machos y $p = 2,217e^{-11}$ en hembras respectivamente (**Figura 5. 1**).

5.2. Evaluación de las características morfológicas

La evaluación arrojó que tanto hembras como machos son similares en aspecto, pero diferentes en tamaño, las hembras son superiores en tamaño a los machos de la misma población, a excepción de la probóscide que es menos larga y más curva en hembras. El cuerpo se divide en tres secciones principales, cabeza, tórax y abdomen, la cabeza está provista de grandes ojos de forma circular, machos y hembras poseen antenas y palpos, pero se diferencian en longitud y aspecto. Las hembras poseen palpos más cortos que los machos, y las antenas son menos plumosas. Poseen escamas blanco- plateadas en el abdomen y patas. Tienen una marca en forma de lira de color blanco en el dorso del tórax. Las hembras poseen el abdomen más puntiagudo, terminando en forma de V.

5.3 Evaluación del Tamaño

Tanto en las hembras como en los machos, dos variables permitieron observar las diferencias en el tamaño en ambos sexos. Estas variables fueron mayores, patas traseras (PTA) y la longitud del abdomen (AL), pero según el gráfico de barra de error, estos datos se asumen como valores atípicos para ambas variables que, al ser revisadas, no se encontró error aparente en la medición de los datos crudos. Respecto a las demás variables, ancho de la cabeza (CA), longitud de la cabeza (CL), longitud de probóscide (PL), ancho del tórax (TA), longitud del tórax (TL), longitud de la lira (LL), ancho del abdomen (AA), longitud del fémur (PF) y longitud de la tibia (PTI), es notorio, que no existen diferencias estadísticamente significativas (**Figura 5.2. y 5.3**)

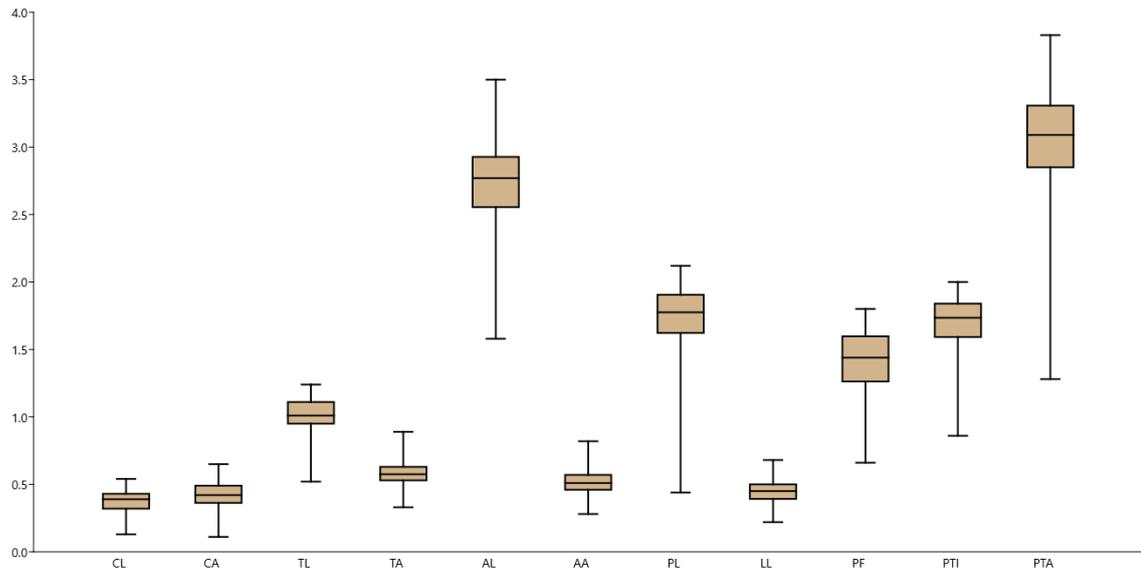


Figura 5.2: Tamaño del centroide de las variables morfométricas de los machos. Es decir, el rango de mm de cada variable medida.

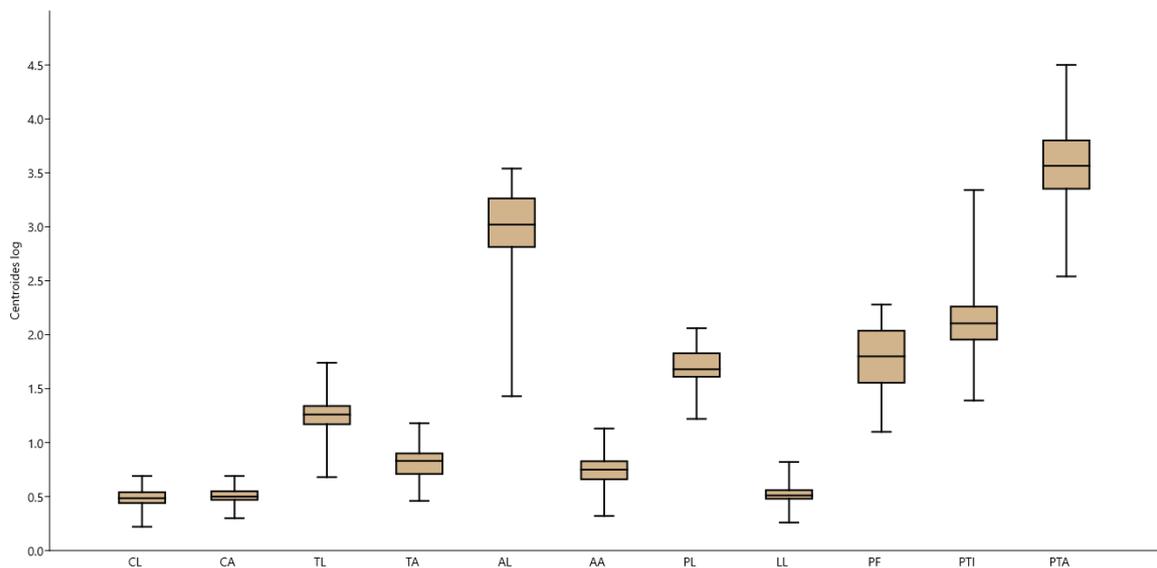


Figura 5. 3: Tamaño del centroide de las variables morfométricas de las hembras. Es decir, el rango de mm de cada variable medida.

5.4 Análisis de Componentes Principales (PCA)

Los primeros 4 componentes principales (PC) explicaron el 59,8%, 13,7%, 7,9%, y 4,75%, respectivamente, de la variación del tamaño en los ejemplares machos de las 4 poblaciones en estudio, mostrando las principales tendencias de cambio (**Figuras 5. 4 y 5. 5**).

PC1 (componente principal 1) reúne la mayor variación y muestra la distribución del tamaño en el espacio multivariado. Sobre el PC1 no se muestra separación alguna de los grupos comparados, sobre este eje el tarso de las patas traseras (PTA) fue el que describió mejor la variación de la muestra. Seguido de la longitud del abdomen (AL) más alargado hacia el extremo positivo del eje y la longitud de la probóscide (PL).

En el PC2 tampoco hubo separación entre los grupos, aunque una gran parte de la población de Asunción se distribuye más sobre el eje negativo, caracterizados por una AL y PTA de menor tamaño. Mientras que, en el otro extremo, la AL adquirió una configuración opuesta positiva.

Los puntos solapados nos indican alta similitud morfológica entre las poblaciones. Los puntos separados, pueden indicar que existen individuos atípicos dentro de esa población.

PC3 y PC4 tampoco muestran separación entre los grupos, se muestra una amplia superposición, aunque Asunción y Minga Guazu, tienden a agruparse hacia los extremos negativos. La longitud de la probóscide, (PL) muestra mayor variación en el grupo, seguidos por la longitud del fémur (PF) y la longitud de la tibia (PTI) caracterizándose la población de Asunción por ser el grupo que comparte la menor longitud del fémur y tarsos.

En el caso de las hembras, también los primeros 4 PC explicaron el 58,4%, 14,3%, 7,9%, y 4,7% de la variación de tamaño (**Figura 5.6 y 5.7**).

Las hembras presentan un patrón similar a los machos, donde el PC1 no muestra separación de los grupos, igualmente, PTA, describe mejor la variación, seguidos de AL, hacia el extremo positivo, longitud de la probóscide (PL) hacia el negativo, caracterizada por una menor longitud. Seguidos de la longitud de la tibia (PTI) y longitud del fémur (PF).

El PC3 y PC4 tampoco describe separación entre los grupos, las mismas variables que las observadas en el PC1 y PC2 son los que describen mejor la variación del tamaño.

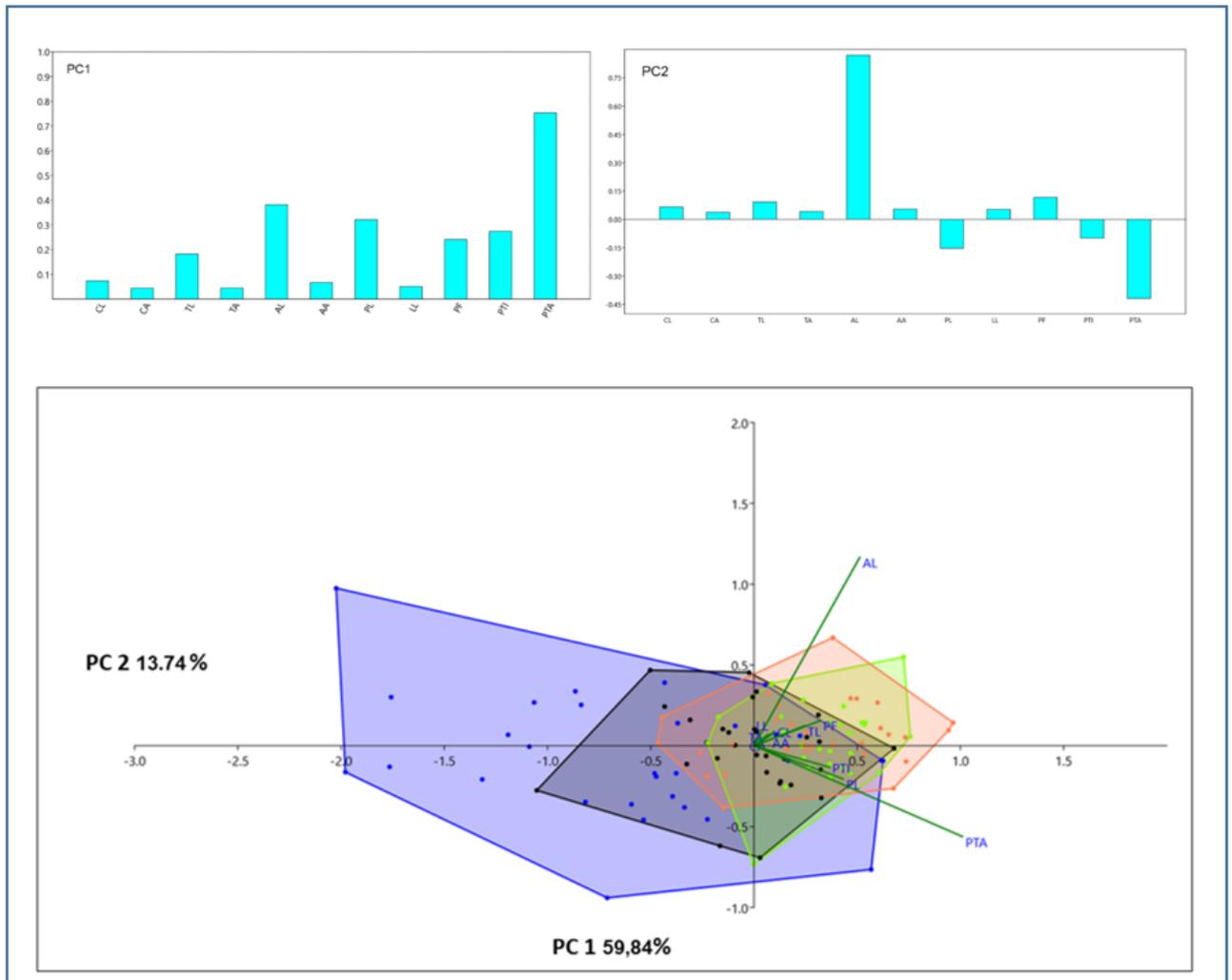


Figura 5.4 : PCA que muestra el PC1 y PC2 con sus respectivos porcentajes de varianza para los machos. El histograma PC1 a la izquierda corresponde a las partes que más contribuyen a la variación de los machos en ese eje. El histograma PC2 a la derecha corresponde a las partes que más contribuyen a la variación en ese eje dentro del grupo de los machos. Azul: Asunción. Verde: Itaugua. Negro: Minga Guazu. Naranja: CDE

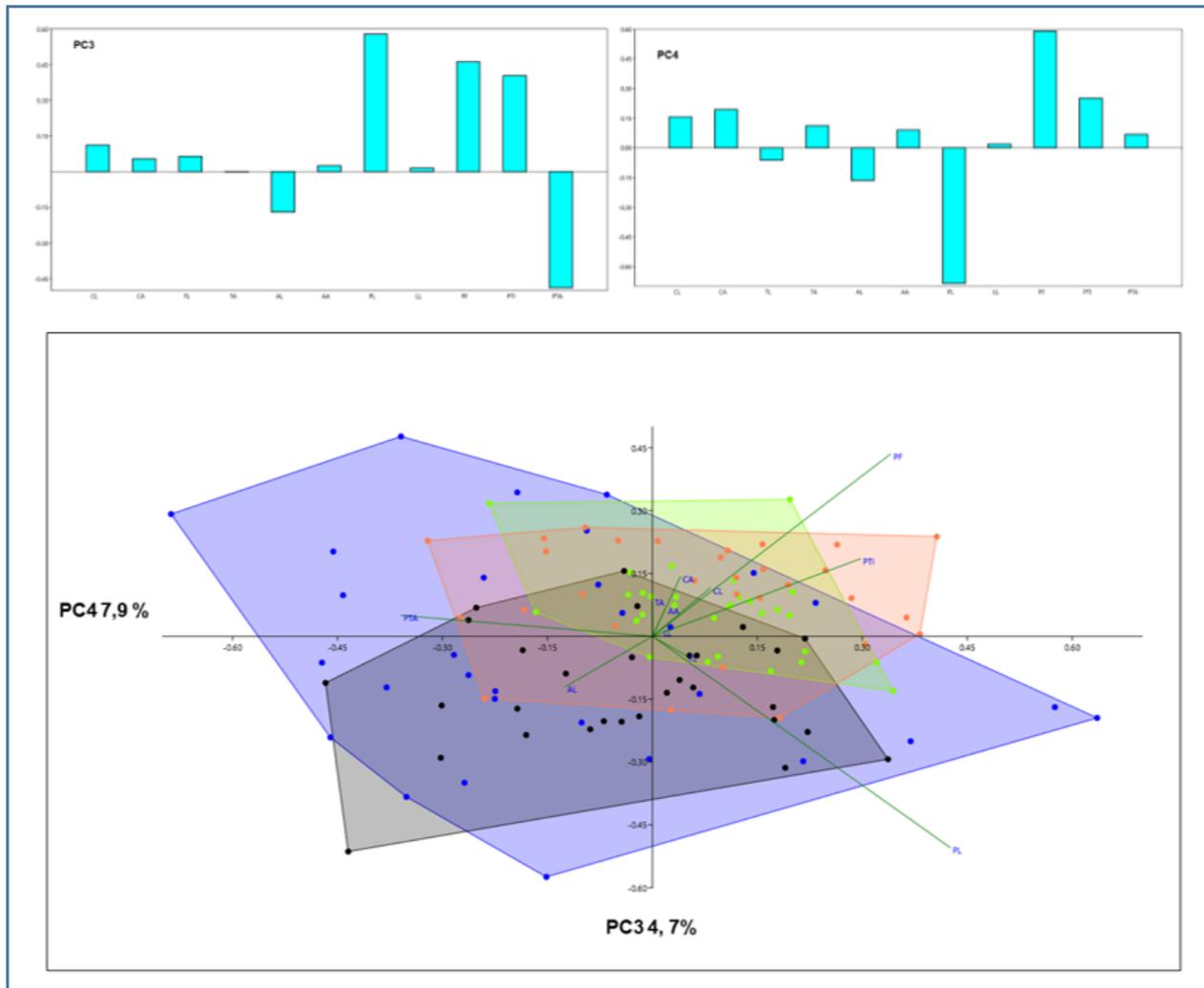


Figura 5.5 : PCA que muestra el PC3 y PC4 con sus respectivos porcentajes de varianza de los machos. El histograma PC3 a la izquierda corresponde a las partes que más contribuyen a la variación de los machos en ese eje. El histograma PC4 a la derecha corresponde a las partes que más contribuyen a la variación en ese eje dentro del grupo de los machos. Azul: Asunción. Verde: Itaugua. Negro: Minga Guazu. Naranja: CDE.

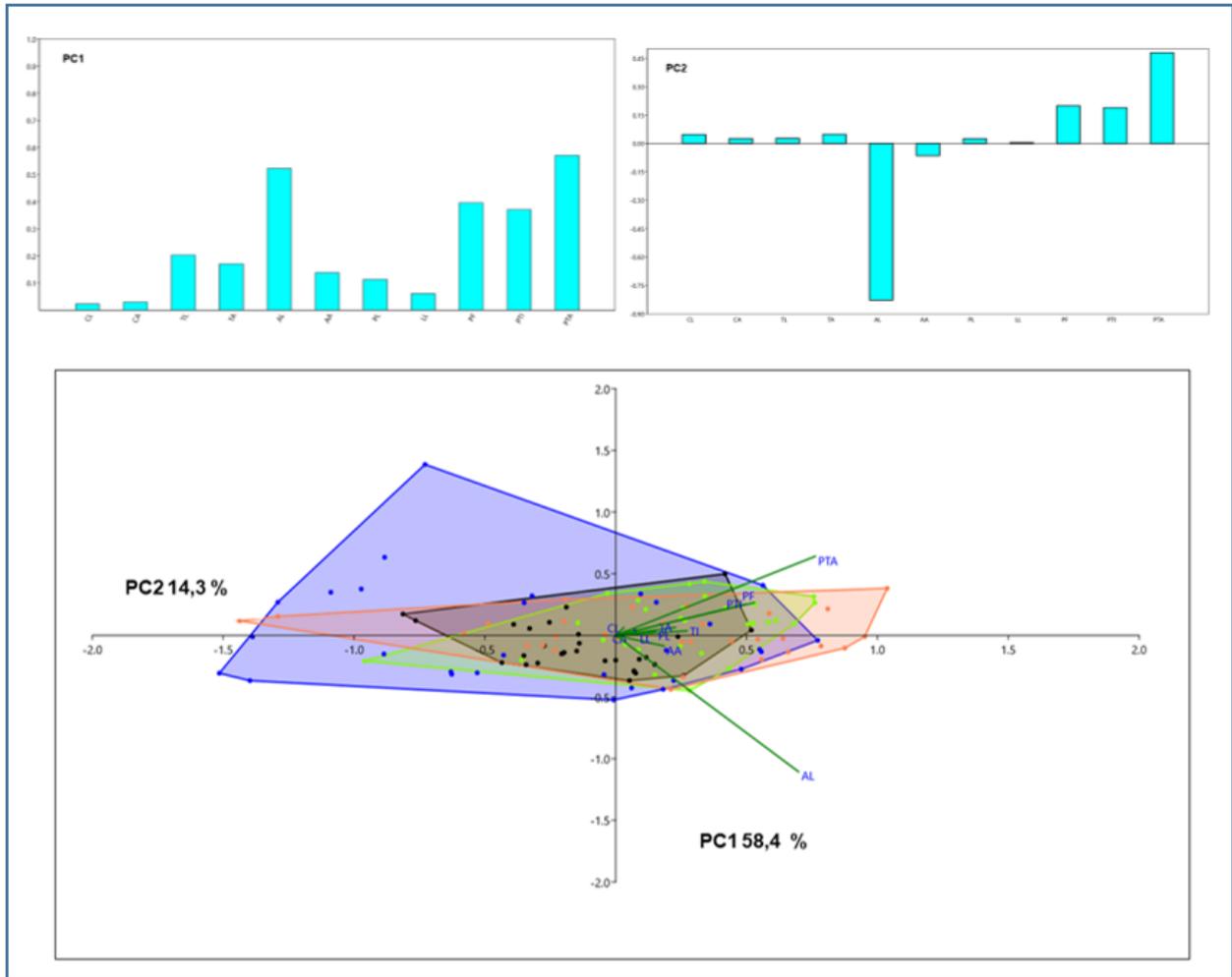


Figura 5.6 : PCA que muestra el PC1 y PC2 con sus respectivos porcentajes de varianza para las hembras. El histograma PC1 a la izquierda corresponde a las partes que más contribuyen a la variación de las hembras en ese eje. El histograma PC2 a la derecha corresponde a las partes que más contribuyen a la variación en ese eje dentro del grupo de las hembras. Azul: Asunción. Verde: Itaugua. Negro: Minga Guazu. Naranja: CDE.

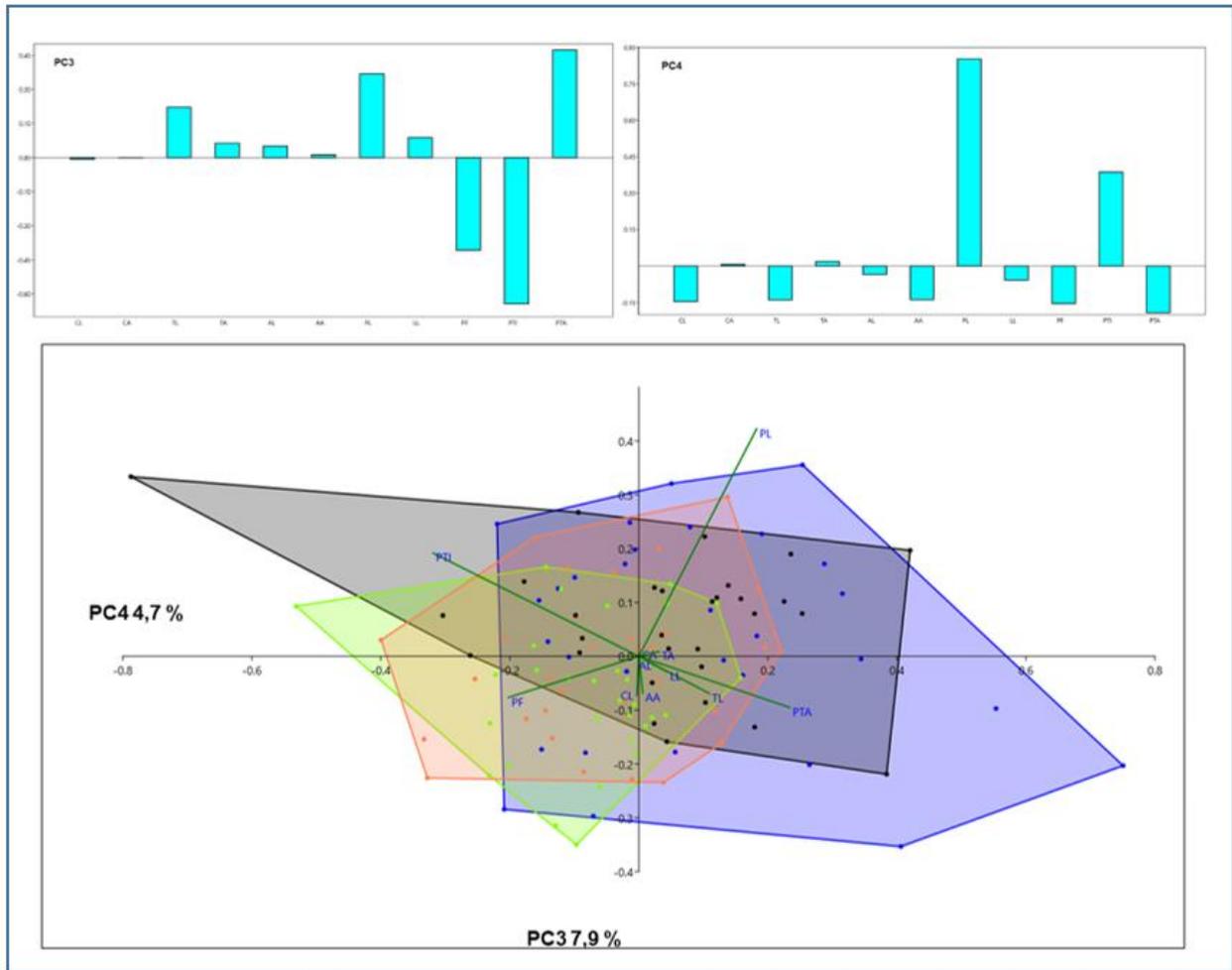


Figura 5.7 : PCA que muestra el PC3 y PC4 con sus respectivos porcentajes de varianza para las hembras. El histograma PC3 a la izquierda corresponde a las partes que más contribuyen a la variación de las hembras en ese eje. El histograma PC4 a la derecha corresponde a las partes que más contribuyen a la variación en ese eje dentro del grupo de las hembras. Azul: Asunción. Verde: Itaugua. Negro: Minga Guazu. Naranja: CDE.

5.5 Análisis Discriminante

En el caso de los machos, Itaugua es la población que más se segrega de las restantes poblaciones; no obstante, se solapa con algunos puntos de la población de CDE y Asunción. Asunción y Minga Guazu, comparten características similares de grupo (**Figura 5. 8**). En el caso de las hembras, no se observa una marcada separación o estructuración entre las poblaciones en estudio, los puntos solapados indican que comparten casi las mismas características de tamaño y las poblaciones son similares entre sí en tamaño, a pesar de las

diferencias en las zonas geográficas. No obstante, la población de Asunción es la que muestra este análisis una mayor variación de tamaño en relación a las restantes (**Figura 5. 9**).

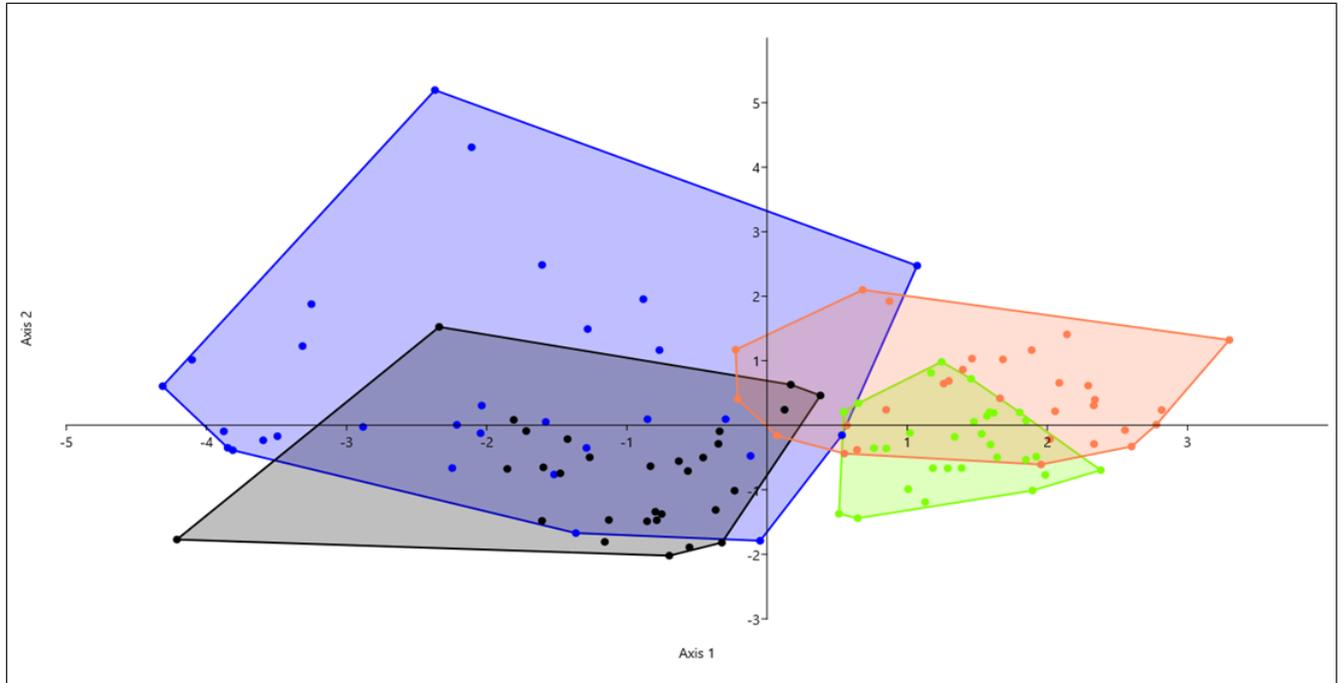


Figura 5.8: Análisis discriminante de grupo de los machos proveniente de las variables morfológicas. Azul: Asunción. Verde: Itaugua. Negro: Minga Guazu. Naranja: CDE.

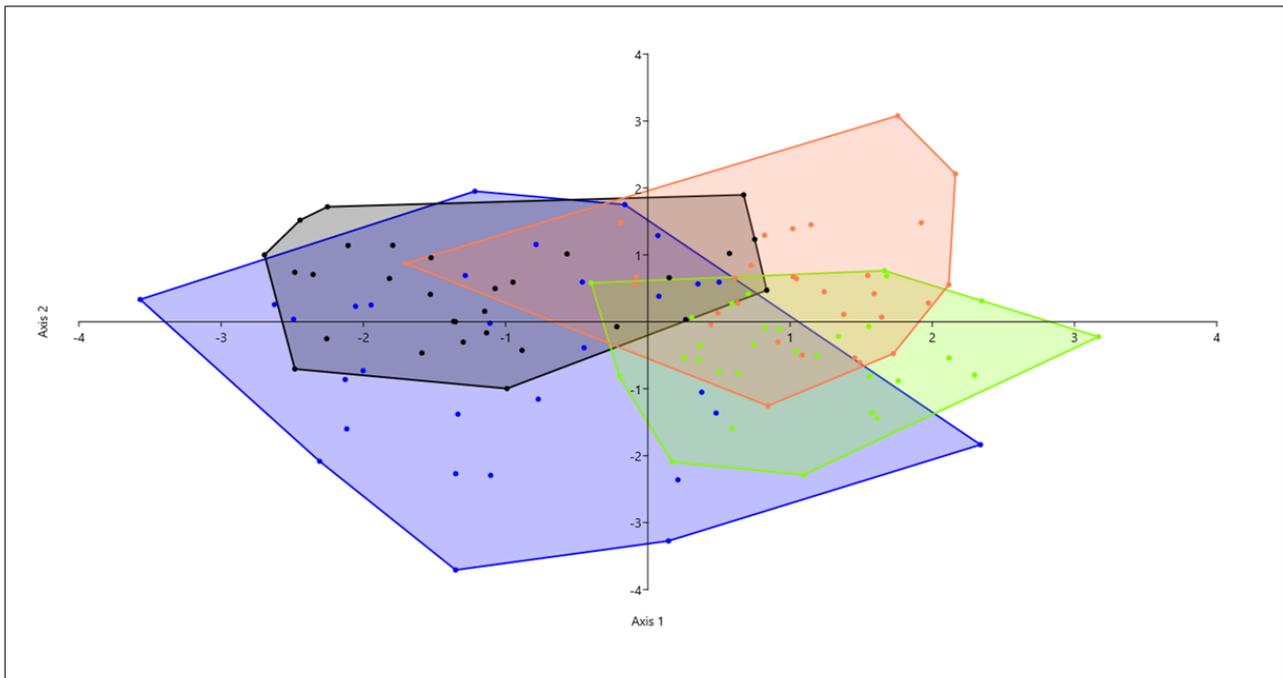


Figura 5. 9: Análisis discriminante (AD) del grupo de las hembras proveniente de las variables morfológicas. Azul: Asunción. Verde: Itagua. Negro: Minga Guazu. Naranja: CDE.

MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA

5.6 Análisis preliminares y exploratorios

La morfometría geométrica se centró en el análisis de machos y hembras de todas las poblaciones. No se observó en los datos crudos, presencia de “outliers” (datos fuera de rango por error en la digitalización) tanto para hembras como para machos y al ser revisados, no se observó error aparente en la digitalización de las alas de los ejemplares en estudio.

5.7 Análisis de Superposición de Procrustes

Los 18 landmarks utilizados para el estudio de las alas, arrojaron cada uno 2 coordenadas en el espacio. El análisis de superposición de procrustes generó una superposición de landmarks, que a su vez generó una matriz de covarianza, necesaria para los demás análisis en el grupo de hembras y machos. En la figura 9 se observa la imagen del ala arrojada por la superposición y distribución de las mediciones realizadas. **(Figura 5. 10).**

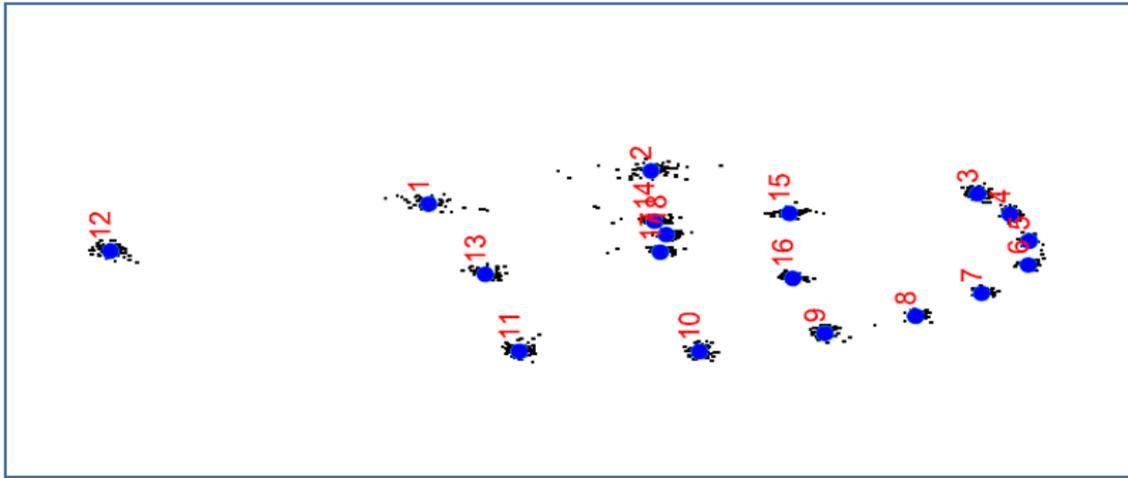


Figura 5. 10: Representación del Análisis de superposición de procrustes que genera las coordenadas del mismo.

MACHOS

5.8 Tamaño

No se encontró diferencia estadísticamente significativa en cuanto al tamaño del centroide entre las alas izquierdas y derechas de los machos de la población en estudio. Se aceptó la hipótesis nula del test Kruskal- Wallis, cuyo resultado arrojó valores de p no significativos para alas izquierdas ($p= 0,97$) y alas derechas ($p= 0,064$). Los gráficos de error, señalan que existen valores atípicos en la población de Itaugua y CDE en alas izquierdas y valores atípicos para Asunción, ya que después de que los datos crudos fueron sometidos a búsqueda de outliers y al ser revisados, no se encontró error aparente (**Figura 5. 11**).

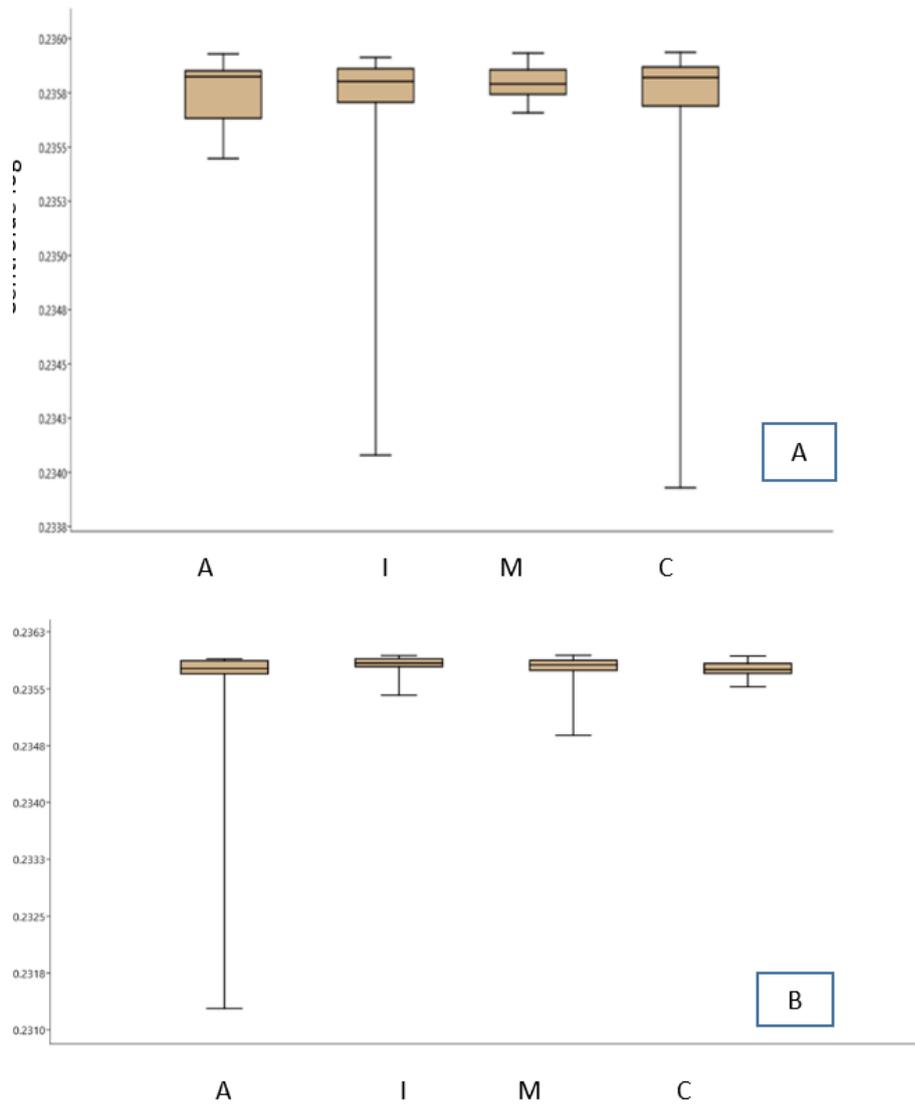


Figura 5.11: Tamaño del centroide normalizado de las alas de los machos. A: Izquierdas B: Derechas.

5.9 Forma

5.9.1 Análisis de Componentes Principales (PCA).

Los primeros 4 PC del ala izquierda de los machos explicaron la varianza de forma en 23, 1%, 17, 9%, 11,01% y 10, 2% respectivamente. No se observa separación en los grupos de estudio por pertenecer a la misma especie, pero si variación en la forma.

El PC1 muestra la variación en la vena radial (r), sub costal (Sc) radial medial 1, 4, 5 (rm1, rm4, rm5), correspondientes a los landmark 1, 2, 14, 17 y 18 respectivamente, fenómeno observado también en el análisis de procrustes (**Figura 5. 12**).

El PC3 y PC4 muestran patrones similares al PC1 y al PC2, pero, además, muestra cierta variación en la vena anal (A) y cubital posterior (cp) correspondientes a los landmark 11 y 13 respectivamente.

Los primeros 4 PC del ala derecha de los machos explicaron la varianza de forma en 23, 6 %, 20, 3%, 11,9% y 8,9 % respectivamente. No se observa variación en la forma. Sobre el eje 1 vemos que no hay separación entre las especies, el PC2 nos muestra alta similaridad alar entre las poblaciones. El PC1 muestra la variación en la vena radial (r), sub costal (SC) radial medial 2, 4, 5 (rm2, rm4, rm5), correspondientes a los landmark 1, 2, 15, 16 y 18 respectivamente (**Figura 5.13**).

El PC3 y PC4 muestran patrones similares al PC3 y PC4 de las alas izquierdas de los machos, con variación en los landmark 1, 2, 15, 16 y 18 pero además, muestra cierta variación en la vena anal (A) y cubital posterior (cp) correspondientes a los landmark 11 y 13 respectivamente.

5.9.2 Análisis Canónicos (CVA)

El test de permutación con 10.000 repeticiones basadas en distancias de Mahalanobis entre los grupos de las alas izquierdas de los machos, fue significativo ($p < 0.0001$) para Asunción, Minga Guazu y CDE, al compararse con Itaugua. Las elipses están asociadas al clasificador de población. El gráfico CVA nos muestra elipses asociadas a un valor de frecuencias iguales, para este caso, lo cual separa mejor a las poblaciones, pero siguen solapadas en gran parte de los puntos, demostrando que existe alta similitud en cuanto a la forma del ala; en este gráfico, los puntos son transformados a partir de los procrustes de la máxima variación de las poblaciones, pero no explica la forma en sí, sino la variación asociada al canónico, que muestra la segregación entre grupos. El canónico demostró que, dentro del conjunto de alas izquierdas, la población de Asunción y CDE se segregan de los demás (**Figuras 5.14**).

Para las alas derechas de los machos, el test de permutación con 10.000 repeticiones basadas en distancias de Mahalanobis, arrojaron valores $p < 0.0001$ para Itaugua y Minga Guazu, mientras que para Asunción y CDE los valores de p fueron $p=0,0004$ y $p=0,0002$ respectivamente. Minga Guazu tiende a separarse sobre la mitad negativa, mientras que Itaugua y CDE tienden a agruparse solo hacia el lado positivo. La población de Asunción se encuentra ampliamente solapada con Minga Guazu y CDE, tendiendo a indicar que Itauguá presenta mayor diferencia y cierta estructuración entre los grupos dentro del conjunto de las alas derechas (**Figuras 5.15**).

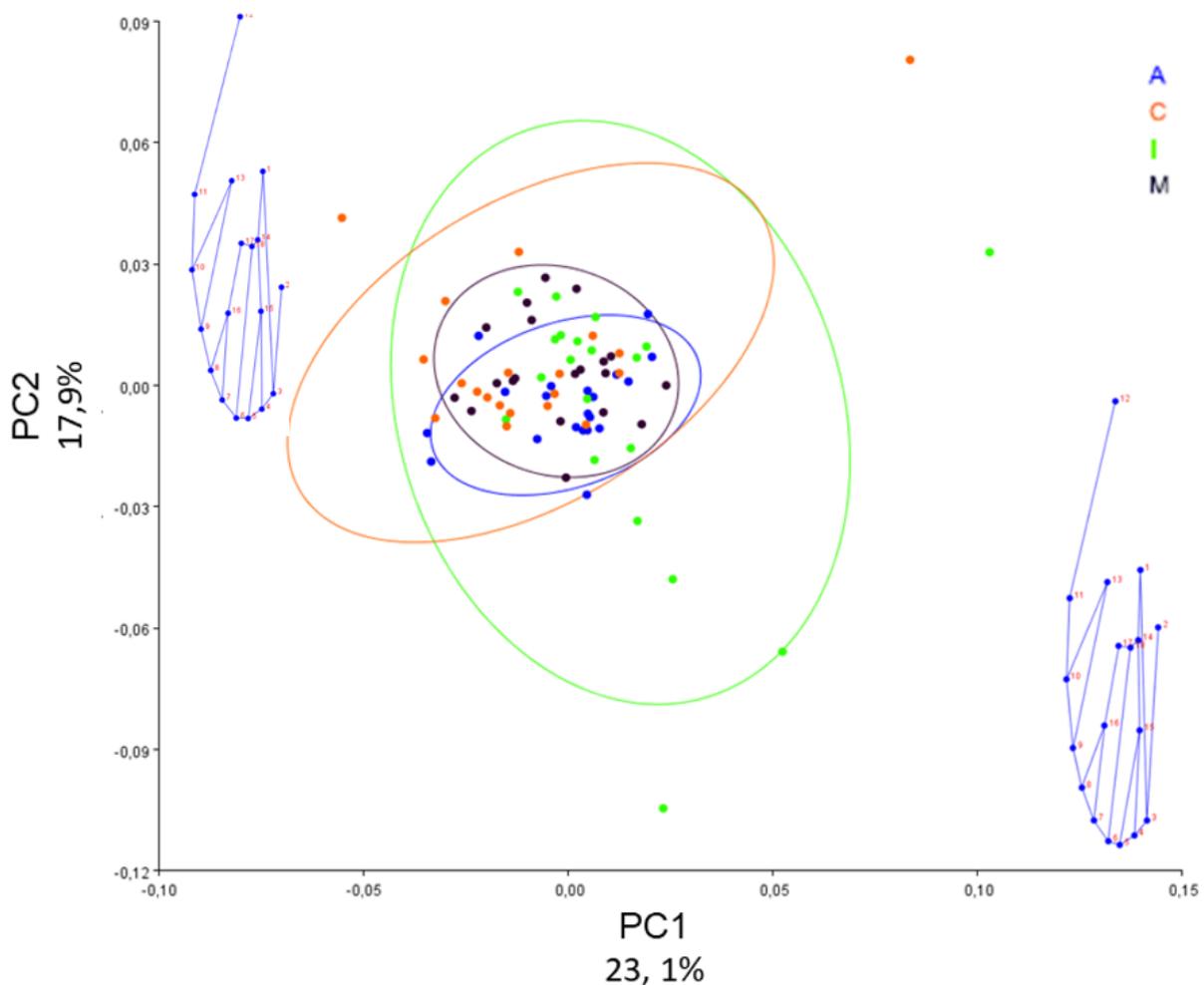


Figura 5.12: PCA de las alas izquierdas de los individuos machos de *Aedes aegypti* con sus respectivas representaciones de alas para dichos ejes.

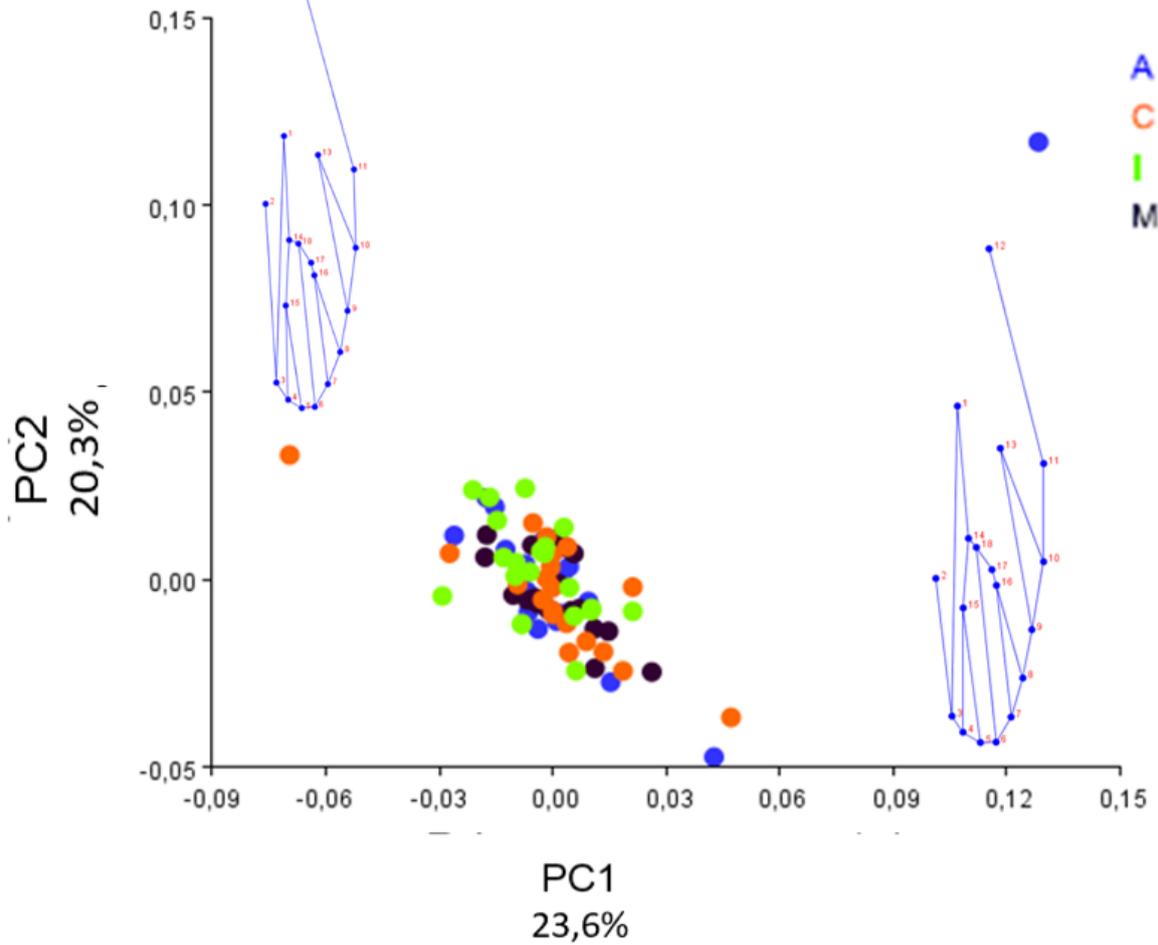


Figura 5.13 : PCA de las alas derechas de los individuos machos de *Aedes aegypti* con sus respectivas representaciones de alas para dichos ejes.

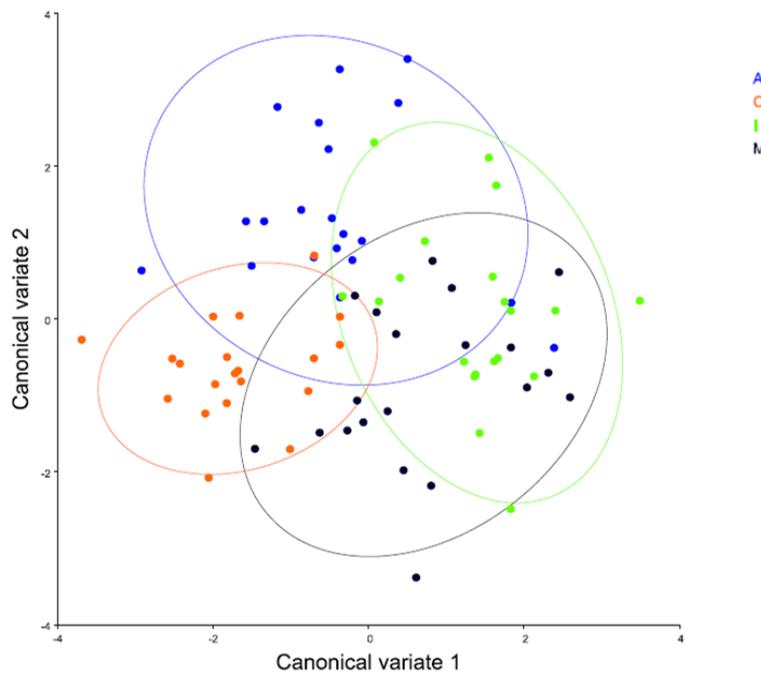


Figura 5.14: Análisis Canónico de las 4 poblaciones de machos de *Aedes aegypti* y los canónicos respecto al ala izquierda. Fue significativo para Asunción y CDE, aunque las solapaciones indican que las poblaciones no se separan del todo.

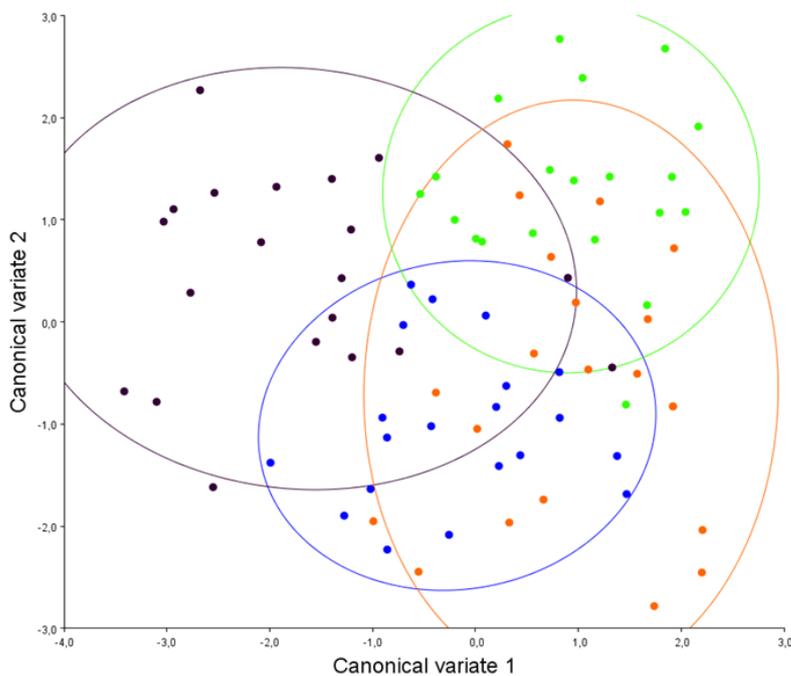


Figura 5.15: Análisis Canónico de las 4 poblaciones de machos de *Aedes aegypti* y los canónicos respecto al ala derecha.

HEMBRAS

5.10 Tamaño

No existe diferencia estadísticamente significativa en cuanto al tamaño del centroide entre las alas izquierdas y derechas de las hembras de la población en estudio. Se aceptó la hipótesis nula del test Kruskal- Wallis, cuyo resultado arrojó valores de p no significativos para alas izquierdas ($p= 0,81$) y alas derechas ($p= 0,08$). Pero los gráficos de error, señalan que existen valores atípicos en la población de Itaugua y Asunción en las alas izquierdas, así como también en Asunción y Minga Guazu para alas derechas, ya que después de que los datos crudos fueron sometidos a búsqueda de outliers y al ser revisados, no se encontró error aparente (**Figura 5.16**).

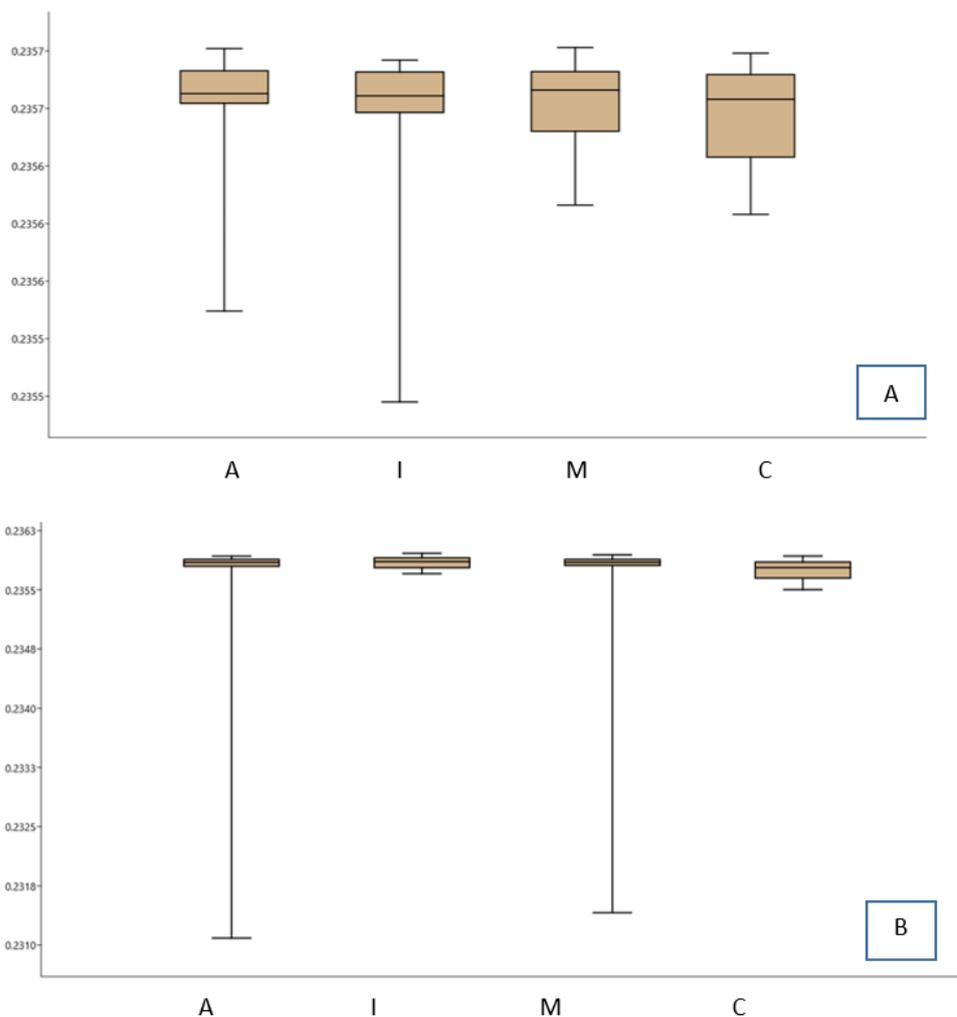


Figura 5.16 : Tamaño del centroide normalizado de las alas de las hembras. A: Izquierdas B: Derechas

5.11 Forma

5.11.1 Análisis de Componentes Principales (PCA)

Los primeros 4 PC de las alas izquierda de las hembras explicaron la varianza de forma en 25,1 %, 13, 6%, 11,4% y 8, 2% respectivamente.

El PC1 muestra la variación en la vena sub costal (SC) radio (R), anal (A) y alula (alu) correspondientes a los landmark 2, 3, 11 y 12 respectivamente. Este fenómeno fue observado también en el análisis de procrustes. (**Figura 5.17**).

El PC3 y PC4 muestran patrones similares al PC1 y PC2, pero además, muestra cierta variación en la vena radial (R) y radial medial 1, 2, 3 (rm1, rm2, rm3) correspondientes a los landmark 3, 15, 16, 17 respectivamente.

Los primeros 4 PC de las alas derechas de las hembras explicaron la varianza de forma en 39%, 12, 6%, 11,1% y 7,2 % respectivamente. No se observa una elevada separación en los grupos de estudio, pero si se observa variación en la forma.

El PC1 muestra la variación en la vena sub costal (SC) radial medial 3 y 4 (rm3, rm4) (**Figura 5.18**).

El PC3 y PC4 muestran patrones similares al PC3 y PC4 de las alas derechas, pero además, muestra gran variación en el alula (alu), vena anal (A) radial medial 1, 3, 4 (rm1, rm3, rm4) correspondiente a los landmark 11, 12, 14, 16 y 17, fenómeno que ciertamente se puede observar también en el análisis de procrustes.

5.12 Análisis Canónicos (CVA)

El test de permutación con 10.000 repeticiones basadas en distancias de Mahalanobis entre los grupos de las alas izquierdas de las hembras, fue estadísticamente significativo ($p < 0.0001$) para todas las poblaciones. Las elipses están asociadas al clasificador de población, el gráfico CVA nos muestra elipses asociadas a un valor de frecuencias iguales, Minga Guazu y CDE siguen solapadas en gran parte de los puntos, demostrando que existe alta similitud en cuanto a la forma del ala. Asunción se separa hacia el extremo negativo del eje X e Itaugua es el que más se diferencia de los grupos anteriores, demostrando que, aunque no haya diferencia significativa en el tamaño, pueden ser diferentes en la forma. En estas alas se observa estructuración en 3 grupos definidos de poblaciones. Asunción tiende a agruparse hacia el extremo negativo del CV1 mientras que CDE y Minga Guazu tienden a ubicarse hacia el

extremo positivo. Itaugua y Minga, comparten con los demás grupos cierto solapamiento. Itaugua es la población que se diferencia marcadamente del resto de las otras poblaciones. Para las alas derechas de las hembras, el test de permutación con 10.000 repeticiones basadas en distancias de Mahalanobis, arrojaron valores estadísticamente significativos para todas las localidades. Con $p < 0.0001$ para Asunción y valores $p = 0.0039 > 0.001$ para Itaugua $p = 0.049 > 0.001$ para Minga Guazu y $p = 0.008 > 0.001$ para CDE. En la figura 19 se observa marcada estructuración de las alas de Asunción y CDE, Itaugua mantiene la diferencia en relación al resto de las poblaciones. Estas diferencias se observan claramente en el dendograma de distancias de Mahalanobis, mientras que Minga Guazu, se solapa con la población de CDE. **(Figura 5.19- 5.20- 5.21).**

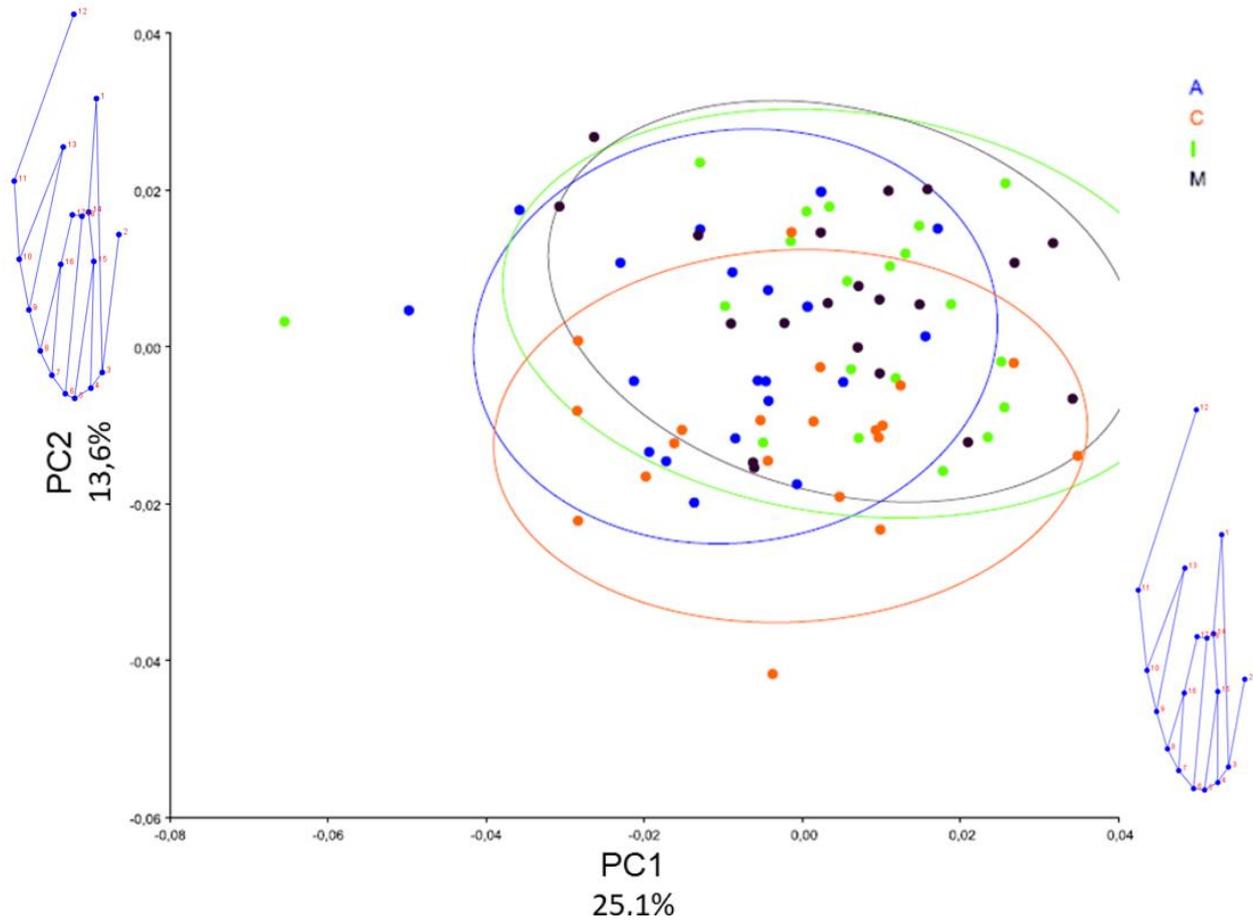


Figura 5.17: PCA de las alas izquierdas de los individuos hembra de *Aedes aegypti* con sus respectivas representaciones de alas para dichos ejes.

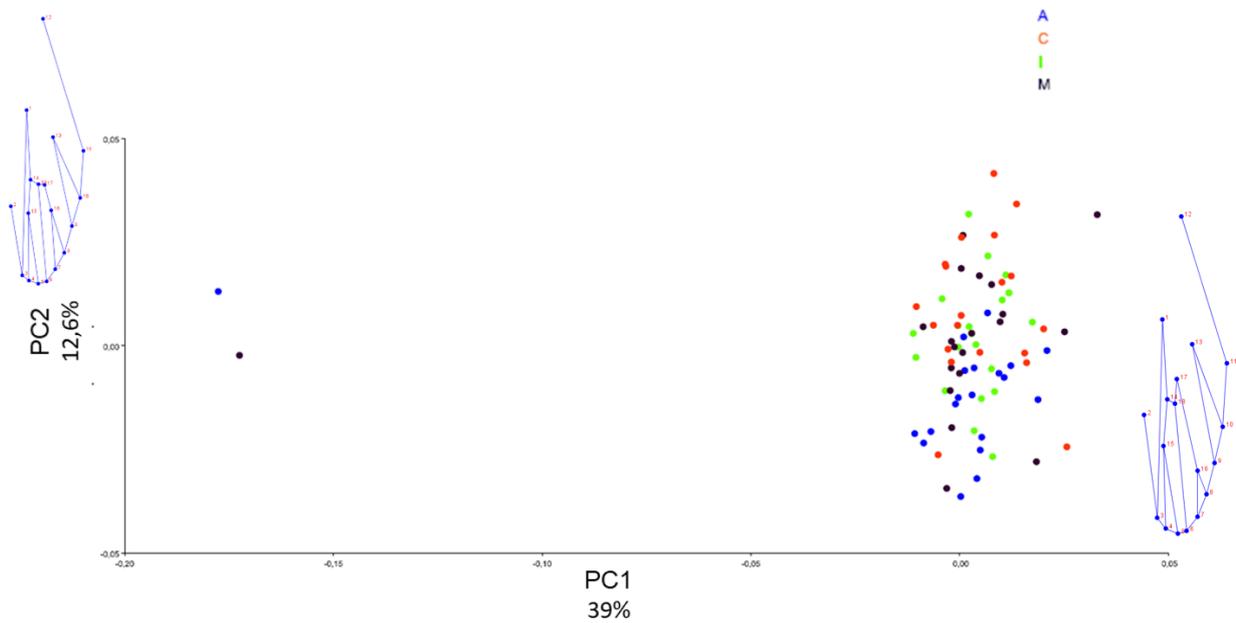


Figura 5.18: PCA de las alas derecha de los individuos hembra de *Aedes aegypti* con sus respectivas representaciones de alas para dichos ejes. Las elipses fueron suprimidas en esta figura debido a que es evidente la tendencia de posicionarse únicamente hacia el lado positivo del eje del PC1

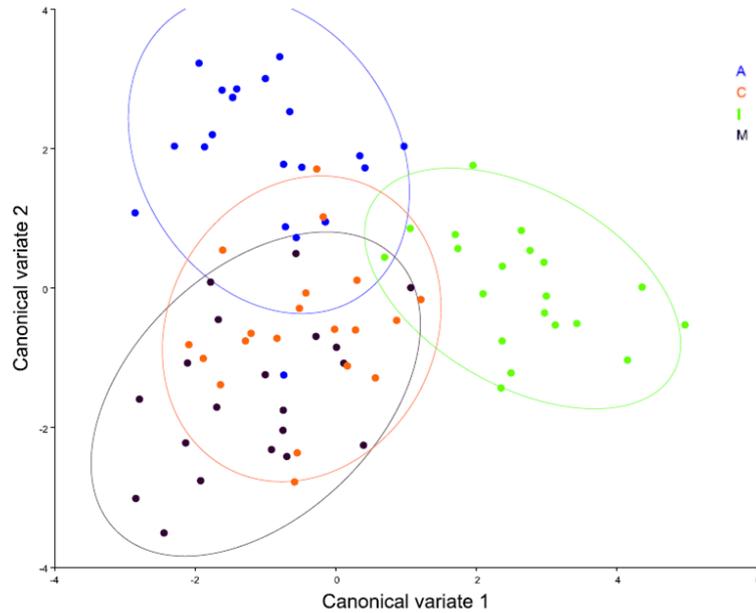


Figura 5.19: Análisis Canónico de las 4 poblaciones de hembras de *Aedes aegypti* y los canónicos respecto al ala izquierda de las hembras. La mayor segregación se observa en la población de Itaugua.

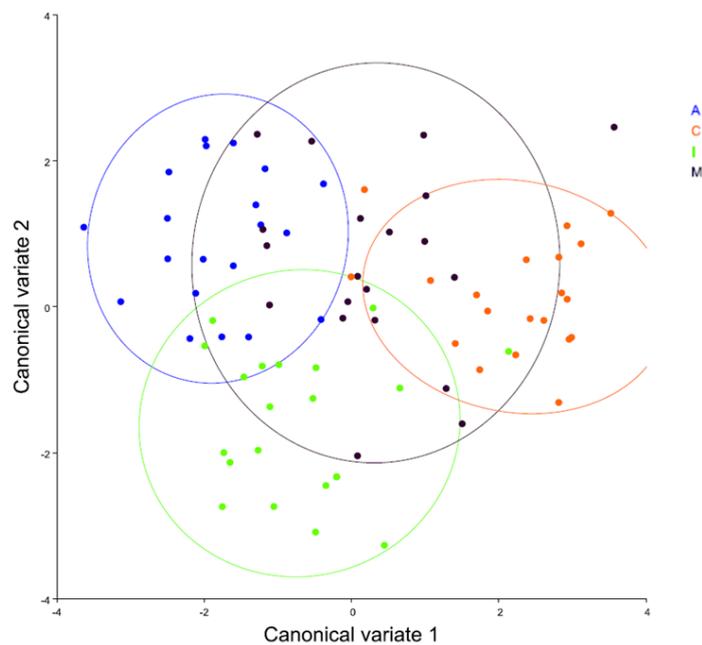


Figura 5.20: Análisis Canónico de las 4 poblaciones de hembra de *Aedes aegypti* y los canónicos respecto al ala derecha de las hembras.

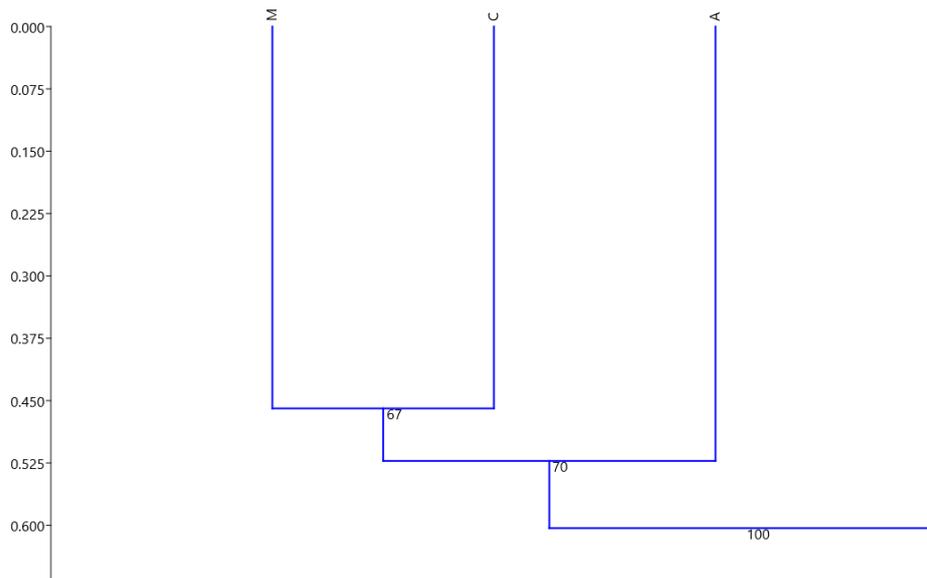


Figura 5.21: Dendrograma de las distancias de Mahalanobis entre las poblaciones de hembras, basados en el método de encadenamiento promedio (UPGMA).

5.12 CORRELACIÓN CON VARIABLES AMBIENTALES

El DAPC evaluado con programa estadístico R identificó los parámetros que muestran mayor variabilidad en las poblaciones en estudio. Según éste análisis las variables más representativas o las que más contribuyen para la varianza en tamaño, para morfometría lineal o clásica son para machos, AA, CA y TA y para hembras PL, CL y AL. Para la interpretación, las r representan las correlaciones y las p la significancia estadística en todos los casos. Los análisis de correlación indican que dentro del conjunto de los machos, existe correlación entre algunas de las variables de morfometría lineal mencionadas anteriormente. en cuanto a la temperatura, con AA ($r = -0,18$ $p = 0,04$), CA ($r = -0,4$ y $p = 6,6 \cdot 10^{-6}$) y TA ($r = -0,3$ y $p = 0,00014$). Estas dos últimas con correlaciones de peso moderado. En cuanto a la variable humedad, se observa una relación positiva y estadísticamente significativa para TA ($r = 0,3$ y $p = 0,02$). En el caso de la variable NDVI a 100 metros de los puntos de captura, es la estructura TA la que presenta una correlación débilmente positiva y estadísticamente significativa ($r = 0,18$ $p = 0,04$). De igual manera para la variable NDVI a 200 metros de los puntos de captura no se observan correlaciones estadísticamente significativas, así como para el NDWI a 100 y 200 metros..

Los análisis de correlación a las que fueron sometidas las variables más representativas provenientes del análisis DAPC en relación a las variables ambientales dentro del conjunto de las hembras indican que hay relación negativa con la temperatura; tendiendo a una correlación moderada para CL ($r = -0,34$ y $p=0,01$). En cuanto a la humedad, todas las estructuras presentan correlación positiva estadísticamente significativa para CL y PL ($r= 0,31$ $p= 0,003$), para NDVI CL ($r = 0,19$ $p=0,02$) y AL ($r= 0,20$ $p= 0,02$) a 100 metros y a 200 metros se observa el mismo patrón; para NDWI a 100 existe una correlación negativa para PL, marginalmente significativa estadísticamente. ($r = -0,14$ $p=0,06$). En todos los casos se asume una correlación débil. (Tabla 5.1).

Correlación de variables ambientales vs Medidas lineales de Machos						
variables vs	r de AA	p deAA	r de CA	p de CA	r de TA	p de TA
Temperatura	-0,18	0,043631	-0,4	6,66E-07	-0,35	0,00014235
Humedad	0,13	0,14232	0,42	1,51E-06	0,19	0,028932
NDVI 100	0,06	0,47842	0,18	0,042886	0,18	0,045104
NDVI 200	0,075	0,41353	0,14	0,12254	0,12	0,18909
NDWI 100	0,04	0,59312	-0,06	0,48643	-0,13	0,1446
NDWI 200	-0,05	0,53922	0,11	0,23049	-0,08	0,38335
Correlación de variables ambientales vs Medidas lineales de Hembras						
variables vs	r de CL	p de CL	r de PL	p de PL	r de AL	p de AL
Temperatura	-0,34	0,00011933	0,118	0,19577	-0,1	0,26968
Humedad	0,31	0,00039699	0,318	0,00039699	0,2	0,90052
NDVI 100	0,19	0,029509	-0,13	0,13786	0,2	0,027138
NDVI 200	0,14	0,10912	-0,1	0,22561	-0,11	0,01959
NDWI 100	-0,14	0,12695	-0,04	0,61545	-0,11	0,20051
NDWI 200	-0,14	0,22482	0,13	0,15695	-0,18	0,037735

Tabla 5.1: Resumen del análisis de correlación de las variables ambientales en relación a las medidas morfométricas provenientes de la morfometría lineal o clásica de machos y hembras.

Correlación de variables ambientales vs Alas Izquierdas Hembras								
variables vs	Asunción	P de Asunción	Itauguá	P de Itauguá	Minga Guazú	P de Minga Guazú	CDE	p de CDE
Temperatura	0,17302	0,46571	0,22124	0,34855	0,042126	0,86003	-0,13236	0,57802
Humedad	-0,247	0,29378	0,31764	0,17234	-0,0079782	0,97337	0,12337	0,60433
NDVI 100	0,0016973	0,99433	0,33142	0,15346	-0,004704	0,9843	0,29883	0,2006
NDVI 200	0,039442	0,86887	0,23997	0,30816	0,23849	0,31125	0,24933	0,2891
NDWI 100	0,080249	0,73663	-0,37236	0,10593	0,016237	0,94583	-0,45032	0,046324
NDWI 200	0,06215	0,79463	-0,30691	0,1881	-0,20164	0,39393	-0,22825	0,33309

Tabla 5.2: Resumen del análisis de correlación de las variables ambientales vs la morfometría geométrica de las alas izquierdas de las hembras.

En la interpretación de las relaciones de nuestras variables dependientes e independientes, las r representan las correlaciones y las p (uncorr) la significancia estadística. Si $P < 0.05$ = significativa, hay relación entre las variables, si $p \geq 0.05$ no se puede decir que sea significativa, no existe relación. Si $r = 0$ sin correlación, si $r \pm 0.20$, hablamos de correlación débil. Si $r \pm 0.50$ hablamos de una correlación moderada, si $r \pm 0.80$ observamos una correlación buena si $r \pm 1$ por lo tanto correlación perfecta.

Con respecto a la morfometría geométrica y al tamaño del centroide de las alas izquierdas y derechas, en machos y hembras, se optó por utilizar solamente las alas izquierdas de las hembras ya que el CVA nos muestra una segregación en dicho grupo. Además, en el dendograma calculado por distancias de Mahalanobis con 50.000 repeticiones, y coeficiente de correlación de 0,90 se observa que las poblaciones se distribuyen de forma diferente, y que es evidente que hay diferencias significativas entre ellas y por tanto estructuración (**Figura 5.21**).

Para la población de Asunción, Itaugua y Minga Guazú no se observaron correlaciones estadísticamente significativas entre el centroide de las alas izquierdas de las hembras y las variables climáticas. Sin embargo, para la población de CDE, se observó una moderada correlación entre la variable NDWI, $r = -0,4$ y $p = 0,004$ a 100 metros (**Tabla 5.2**)

Los gráficos de correlación están disponibles en el anexo (**Anexo 3-18**).

Se propone que los resultados obtenidos en este estudio seán sometidos a consideración de la academia mediante la difusión en congresos, seminarios y publicaciones científicas de impacto.

CAPITULO 6

6.1 DISCUSIÓN

Los resultados más relevantes en este estudio indican que existen diferencias estadísticamente significativas en el tamaño de *Aedes aegypti* tanto inter como intra poblacionalmente, lo que explica el dimorfismo sexual de la especie. Además, el análisis de las características morfológicas que indicaron la diferencia en cuanto al tamaño y aspecto de algunas estructuras como la probóscide y las antenas concuerda con lo expuesto por Badii (2006) y Borrór, *et al* (1989) indicando que en los mosquitos, los sexos pueden distinguirse y determinarse por la forma de las antenas, recalando que la antena de los machos es mucho más plumosa en comparación con las hembras que tienen solo algunos pelos cortos, así también los palpos maxilares mucho más cortos en hembras en comparación al de los machos.

Además, coinciden con Consoli & De Oliveira (1994) en que poseen manchas blanco plateadas sobre fondo oscuro y un dibujo característico en forma de lira en el dorso del tórax. Las patas están bandeadas y el último artejo de las patas posteriores es blanco. El abdomen de la hembra tiende a ser puntiagudo. Nuestros resultados mostraron que el dimorfismo sexual se apoyó básicamente en dos estructuras en ambos sexos (PTA y AL).

Los resultados del tamaño del centroide de las estructuras morfológicas de machos y hembras, no indican diferencias significativas, cuando fueron analizadas intra y extra grupo a pesar de los valores atípicos observados. Ésto puede explicarse por qué todos los individuos son de la misma especie. Cabe señalar que la distancia geográfica entre Minga Guazu y CDE no es muy importante.

En cuanto al PCA proveniente de las mediciones lineales de ambos sexos, no se demostró que exista separación entre las poblaciones, no obstante, no se descarta del todo, ya que se encontraron valores atípicos en cuanto al tamaño del centroide, los valores atípicos en cuanto al tamaño del centroide ya fueron descriptos ya que según Micieli *et al* se puede afirmar que diferentes poblaciones de un mosquito vector pueden diferir entre sí (Micieli *et. al.* 2016).

Además, el PCA busca resumir el patrón de variación de las variables originales e indica el porcentaje de variación explicada por cada eje (Zelditch, 2004; Strauss, 2010). Esto coincide con los resultados de este estudio, ya que redujo las 11 variables dependientes a 3 (PTA) (AL) (PL) que según los resultados de morfometría lineal del presente estudio, son éstas tres

estructuras las que mejor explican la diferencia de tamaño dentro de las poblaciones estudiadas. Cabe señalar que, en el análisis lineal de la morfología, ya los ejemplares de Asunción se mostraban de menor tamaño, lo cual limitaría su capacidad de transmisión desde el punto de vista epidemiológico. Estudios realizados por Sumanochitrapon, *et al.* 1998, han atribuido la capacidad vectorial del *Aedes aegypti* a un efecto de su tamaño, al tener una mayor capacidad de ingesta sanguínea, también aumentaría su capacidad de transmisión viral; por otro lado, otros autores consideran que a mayor tamaño existe mayor longevidad y mayor capacidad de transmisión vectorial (Briegel, *et al.*, 2001).

En cuanto al CVA, el cual describe diferencia entre los grupos, se observó que Asunción persiste con valores más pequeños y mucho más variables, mientras que Itaugua y CDE, consiguen segregarse. Los procesos de urbanización pueden estar relacionados con diferencias entre poblaciones de la misma especie. Se advirtió sin embargo que en los machos y en las hembras existen valores atípicos para población que deberían ser tomados en cuenta y monitoreados.

Con respecto a la morfometría geométrica, es sumamente importante, llevar a cabo el análisis generalizado de procrustes (AP). Es de los métodos más extendidos hasta la actualidad dentro de los enfoques para obtener variables de tamaño y de forma a partir de las coordenadas cartesianas de puntos anatómicos, capaces de eliminar los efectos de rotación y translación y evitar así errores en los análisis posteriores (Rohlf & Slice, 1990). Con este método se logró identificar, donde se ubican los valores atípicos de las alas en cada sexo y para grupo geográfico. Datos que contribuyeron a observar la estructuración de los grupos mediante el análisis canónico.

No se observaron diferencias significativas entre el tamaño del centroide de las alas, tanto izquierdas como derechas, de machos y hembras, es decir, entre individuos del mismo sexo, pero en general, las hembras poseen alas de mayor tamaño. Por su parte, Andrew y Bar (2013) encontraron diferencias significativas en el tamaño de las alas y esa diferencia se debe a que la varianza más importante en estos insectos, es el sexo (Martínez, 2018). El tamaño del ala es un rasgo plástico y puede estar influenciado por factores endógenos o ambientales (Dujardin, 2008).

El PCA demostró que no existe segregación entre los individuos del mismo sexo, esto es bastante esperable ya que pertenecen a la misma especie; no obstante, se observa variación o desplazamientos particulares entre los landmark homólogos utilizados, fenómeno que se observó también en el análisis de procrustes. En machos dichos landmark corresponden a 1, 2,

15, 16 y 18 y especialmente en la población de Itaugua con respecto a las demás poblaciones. En las hembras, dichas variaciones consisten en los landmark 2, 3, 11, 12, 3, 15, 16, 17 en alas izquierdas y en alas derechas 11, 12, 14, 16 y 17.

Este hallazgo coincide con el estudio de Garzón y colaboradores, donde los agrupamientos de landmark con diferencias estadísticamente significativas en las alas de *Aedes aegypti* fueron observadas en varios landmark homólogos de machos y hembras, reportando que los mayores desplazamientos se produjeron en los landmark 2, 4, 9, 10, 12 y 13. También observaron una mayor deformación del ala en la zona central de la grilla de deformación (Garzón et al. 2016). También coincide con los resultados de Barragán, 2018 donde menciona que los puntos de mayores desplazamientos son 2 y 15, correspondiendo a la región cubital (Cu) y anal (A). Los resultados de nuestro estudio se muestran similares a los anteriormente mencionados, ya que observamos asimetría entre derechas e izquierdas entre los grupos, no obstante, estos análisis no forman parte del alcance de este estudio.

Los CVA, mostraron estructuración en las alas izquierdas de las hembras, coincidiendo con los resultados de otras investigaciones, donde su análisis discriminante, en nuestro caso CVA, determinó que existen diferencias significativas entre hembras de poblaciones de diferentes zonas geográficas (Barragán, 2018).

Por otro lado, la forma o “Shape” es uno de los aspectos más visibles del fenotipo de un individuo y ésta llega a proporcionar una relación directa entre genotipo y ambiente como lo mencionan varios autores (Oliveira y Suesdek. 2011; Barragan, 2018; Pacheco, 2017)

A nivel biomecánico, el nivel de ampliación de la formación de las venas, puede determinar las variaciones aerodinámicas de las alas, que a su vez está relacionada con la capacidad del vector del vuelo y dispersión (Oxford Flight group, 2017).

En nuestro estudio, Asunción es considerada un área netamente urbana, las capturas se realizaron en zonas de suelo desnudo, por lo que su tamaño y variabilidad puede ser atribuido a esta condición (Wilka-da Silva *et al*, 2018). La condición geográfica de CDE e Itaugua puede ser considerada de urbanización intermedia, donde el acceso a zonas conservadas es todavía posible. En estas zonas la presión de selección puede influir en la forma de las alas de los ejemplares y permite mostrar las diferencias observadas entre estas dos localidades (Wilka-da Silva *et al*, 2018). La proximidad de las ciudades CDE y Minga no permite diferencias significativamente a las mismas.

Por lo citado en los párrafos anteriores es que se establecen las correlaciones con las distintas variaciones ambientales tomadas como variables en este trabajo, prestando mayor atención en

esta sección a las hembras y sus respectivas alas izquierdas. Ya que es la hembra la que tiene capacidad de transmitir ciertas enfermedades como el dengue, zika y Chikungunya a través de su picadura dada su condición de hematófagas (Consoli R, De Olivera R.1964).

Los análisis de correlación a las que fueron sometidas las variables más representativas provenientes del análisis DAPC con relación a las variables ambientales dentro del conjunto de las hembras indicaron que existen correlaciones de varias estructuras lineales con las variables ambientales indicándonos que las variaciones de estructuras como CL, PL y AL pueden ser explicadas por variaciones en temperatura, humedad, así como por los valores de NDVI y NWDI del área geográfica donde se desenvuelve la población. Por lo tanto, las diferencias de tamaño de CL observadas en este estudio y su relación negativa con la temperatura podrían indicar una relación entre ésta variable climática y su impacto con la dispersión y el tamaño de estas poblaciones (Gómez, et al; 2014) cabe señalar que esta condición de la temperatura con las estructuras lineales fue observada también en los ejemplares machos.

Nuestros resultados, coinciden con Jirakanjanakit y sus colaboradores (2007) quienes demostraron que las condiciones del hábitat provocan cambios en la morfología del vector, especialmente relacionadas con la cantidad de materia orgánica y la temperatura ambiental (Gómez, et al; 2014). Asimismo, difiriendo con otros autores que identificaron tres grupos de *Ae aegypti*, y las diferencias en las longitudes y los puntos observados en las venas de arrastre y que esto sugiere una posible divergencia morfológica entre las poblaciones (Ayorinde, et al. 2016). Si bien no encontramos diferencias estadísticamente significativas en las longitudes y venas de arrastre, estas modificaciones del ala, también sugieren, una posible divergencia morfológica.

Las variables morfogeométricas, es decir, la variación de forma y tamaño de las alas, no mostraron relación alguna con las variables ambientales y climáticas utilizadas en este trabajo, no obstante la población de CDE, fue la única que mostró relación con los valores del NDWI respecto a tamaños del centroides del ala izquierda de hembras, las cuales mostraron significancia estadística. Ésta condición observada en CDE y el indicador de humedad satelital nos muestra una divergencia con los resultados obtenidos con la variable humedad capturada en el lugar de colecta. Esto puede deberse a las diferencias entre las variables microclimáticas y aquellas obtenidas a nivel macro que se establecen en torno a los lugares de cría y que varían considerablemente.

Una limitación de este estudio radica en la necesidad de aumentar el número de ejemplares medidos para realizar comparaciones con las variables climáticas y atmosféricas e índices de vegetación, y la necesidad de un monitoreo estacional que permita establecer diferencias específicas según la época de muestreo. Tal como se mencionó anteriormente los procesos de urbanización parecen jugar un papel importante en los procesos microevolutivos ocasionados por las modificaciones del ambiente provocadas por el hombre, lo que da lugar a una estructuración de la población hasta ahora desconocida. Conocer cómo ocurre el proceso de estructuración de las poblaciones utilizando la morfobiometría puede mostrar patrones de gran importancia epidemiológica para enfermedades de importancia en la salud pública (Wilk-da-Silva *et al* 2018).

Otras variables de interés que podrían contribuir a este tipo de estudios serían la presión de selección ejercida por los insecticidas comúnmente utilizados, así también los productos usados en zonas de producción agrícola, por lo que es recomendable añadir este tipo de variables para futuras investigaciones.

Este estudio nos ha permitido confirmar la hipótesis de trabajo al mostrar que las diferencias en las condiciones ambientales de los puntos de colecta, su distribución geográfica y localización influyen a la estructuración de las poblaciones de Asunción, Itaugua y minga Guazu. Nuevos estudios en estas mismas poblaciones serían de utilidad para explicar patrones y/o variaciones en la transmisión de arbovirosis y en la dispersión de estos vectores y además es de gran utilidad para futuros esfuerzos de investigación en el área. Los resultados obtenidos en este estudio serán sometidos a consideración de la academia mediante la difusión en congresos, seminarios y publicaciones científicas de impacto, así como la presentación de los mismos a tomadores de decisiones en los programas de control vectorial del país.

7. CONCLUSIONES

El presente estudio mostró que las variaciones morfológicas de *Aedes aegypti* presentan relación con variables ambientales urbanas y rurales de áreas endémicas de dengue en Paraguay. La humedad y la temperatura parecen jugar un papel importante en la conformación del tamaño de estos individuos al establecerse que variaciones en su estructuración se relacionan positivamente con aumentos de la humedad relativa y negativamente con la temperatura medida geográficamente.

Resulta indispensable para futuros estudios aumentar el número de muestras, afinar la captura de las variables ambientales y climáticas a un nivel de microclima con el propósito de establecer relaciones más rigurosas. La clara distancia morfogeométrica de las poblaciones de Asunción, Itaugua y CDE/Minga Guazu, y el efecto de las variables ambientales sobre las mismas podrían señalar diferenciaciones de gran importancia epidemiológicas para el país.

Este estudio generó información que puede ser relevante para explicar patrones y/o variaciones en la transmisión y en la dispersión de estos vectores.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Austin M. 2007. Species distribution models and ecological theory: a critical assessment and some possible new approaches. *Ecol Model.* 2007;200(1):1-19.
- Alirol, E., Getaz, L., Stoll, B., Chappuis, F., & Loutan, L. 2011. *Urbanisation and infectious diseases in a globalised world. The Lancet Infectious Diseases, 11(2), 131–141.* doi:10.1016/s1473-3099(10)70223-1
- Ayorinde, A.; Oboh, B.; and Otubanjo O. 2016. Differentiation of some populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in three areas of Lagos State, Nigeria, using wing morphometry. *International Journal of Tropical Insect Science* Vol. 36, No. 4, pp. 171– 176, 2016.doi:10.1017/S1742758416000151.
- Badii,M; Garza D; Landeros, J. y Quiroz, H. 2006. Diversidad y relevancia de los mosquitos. CULCyT- Año 3, No 13.
- 1, 4. UANL, San Nicolas, NL; 2, UACJ, Cd. Juárez, Chih.; 3, UAAN, Saltillo, Coah.
- Barragan, L. 2018. Morfología geométrica en las alas de *Aedes aegypti* en dos poblaciones de dengue endémicas en Colombia. Retrieved from <https://ciencia.lasalle.edu.co/biologia/35>
Pag 50
- Berberian, G & Rosanova, M. 2012. Impacto del cambio climático en las enfermedades infecciosas. *Arch Argent Pediatr* 2012;110(1):39-45 / 39
- Betancourt, J; Llambias, J; Pestano, E y León R. 2017. Cira.Interacción de variables climáticas con el dengue y el mosquito *Aedes aegypti* en el municipio Camagüey. *Rev Cubana Med Trop* [online]. 2017, vol.69, n.1, pp.1-10. ISSN 0375-0760.
- Bookstein, F. L. 1991. Morphometric tools for landmark data: Geometry and biology. Cambridge, Cambridge University Press.
- Bidegain M, Coronel G, Ríos N y de los Santos B. 2012. Escenarios Climáticos Futuros para Paraguay *Meteorológica* Vol. 37 N°2: 47-55
- Briegel, H., Timmermann, S.E., 2001. *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): physiological aspects of development and reproduction. *Journal of Medical Entomology* 38, 566–571.

- B. Krtinić, L. Francuski, J. Ludoški, V. Milankov. Integrative approach revealed contrasting pattern of spatial structuring within urban and rural biotypes of *Culex pipiens* J. Appl. Entomol., 140 (10) (2016), pp. 757-774
- CEPAL, La economía del cambio climático en el Paraguay (LC/W.617), Santiago de Chile, 2014.
- Campbell-Lendrum D., Manga, L., Bagayoko, M., and Sommerfeld J. 2015. Climate change and vector-borne diseases: what are the implications for public health research and policy? Phil. Trans. R. Soc. B 370: 20130552. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2013.0552>
- Cabezas Sánchez C. Enfermedades infecciosas desatendidas: un permanente reto para la salud pública y la equidad en el Perú. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2014;31(2):326-35.
- Carneiro, M.; Alves, B De Sousa, F.; Nuno, J.; Sá, N.; Paixão, S.; Figueiredo, J.; Ferreira, A.; Almeida, C.; Machi, A.; Savóia, E.; Nascimento, V and Fonseca, F. 2017. Environmental factors can influence dengue reported cases. Study conducted at Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Santo André, and SP, BRAZIL. <http://dx.doi.org/10.1590/18069282.63.11.57>
- Chaves, L.; Scott, T.; Morrison, A and Takadaca, T. 2014. Hot temperatures can force delayed mosquito outbreaks via sequential changes in *Aedes aegypti* demographic parameters in autocorrelated environments. (2014). Acta Trópica 129 (2014) 15– 24. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.02.025>
- Chakravarti, A & Kumaria, R. 2005. Eco-epidemiological analysis of dengue infection during an outbreak of dengue fever, India. Virology Journal 2005, 2:32
- Consoli R, De Olivera R. 1994. Principais mosquitos de importancia sanitaria no Brasil. Rio de Janeiro; FIOCRUZ.
- Dash, A.; Rajesh, B.; Temmy, S.; & Mourya, D. 2003. Emerging and re-emerging arboviral diseases in Southeast Asia. J Vector Borne Dis 50, June 2003
- Da Silva, R.; Cavalcanti, M., Toledo, M and Wilke, A. 2018. Wing morphometric variability in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from different urban built environments. Parasites & Vectors 11:561 <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3154-4>
- Dryden, I. L. & Mardia, K. V. 1998. Statistical shape analysis. Chichester, John Wiley and Sons,

- Ebi, KL.; Ogden N.; Semenza J.; Woodward A. 2017. Detecting and attributing health burdens to climate change. *Environ Health Perspect.*;125:085004.4
- Fuentes, M.; Higuera, D.; García. T.; Alcalá, L.; Gracia, D.; Munévar, D.; Brochero, H.; Gonzales, C y Quintero, J. 2015. Análisis territorial de la distribución de *Aedes aegypti* en dos ciudades de Colombia: aproximación desde la coremática y el enfoque ecosistémico. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 31(3):1-14, mar, 2015. <http://dx.doi.org/10.1590/0102-311x00057214>
- Galindo, M.& Contreras, C. 2018. Geomedicina y la tecnología espacial aplicada al caso de los vectores en salud humana. COLECCIÓN SALUD HUMANA Vigilancia sindrómica y alerta epidemiológica
- Gluber, D. J. 2006. Human Arbovirus Infections Worldwide. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 951(1), 13–24. doi:10.1111/j.1749-6632.2001.tb02681
- Gould, E.; & Higgs, S. 2009. Impacto del cambio climático y otros factores en las enfermedades emergentes por arbovirus. *Transacciones de la Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 103 (2), 109–121. doi: 10.1016 / j.trstmh.2008.07.025
- Garzón, MJ & Schweigmann N. 2018. Wing morphometrics of *Aedes (Ochlerotatus) albifasciatus* (Macquart, 1838) (Diptera: Culicidae) from different climatic regions of Argentina. [Parasit Vectors](#). 2018 May 16;11(1):303. doi: 10.1186/s13071-018-2888-3.
- Gobierno Nacional, 2018 disponible en: <https://www.ip.gov.py/ip/seam-declara-contingencia-ambiental-para-mitigar-impacto-del-dengue/> consultado el 22 de junio de 2019
- Gobierno Nacional. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. 2016. disponible en: <https://www.mspbs.gov.py/portal/9489/ovitrampas-efectivo-metodo-de-vigilancia-en-la-lucha-contra-el-aedes-aegypti.html>
- Hastie T, Tibshirani R. Exploring the nature of covariate effects in the proportional hazards model. *Biometrics*. 1990;46(4):1005–16.
- Hammer, O; Harper, A. and Ryan, D. 2001. Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Paleontologia Electronica*, vol. 4, issue 1, art. 4: 9pp., 178kb.

- Hales, S., de Wet, N., Maindonald, J., and Woodward, A. 2002. Potential effect of population and climate changes on global distribution of dengue fever: an empirical model. *The Lancet*, 360(9336), 830–834. doi:10.1016/s0140-6736(02)09964-6
- Helmersson, J.; Rocklöv, J.; Seweb, M.; Brännström, A. 2019. Climate change may enable *Aedes aegypti* infestation in major European cities by 2100. *Environmental Research* 172 (2019) 693–699.
- Helmersson, J.; Quama, M.; Wilder, A.; Stenlund, H.; Ebi, K.; Massad E and Rocklöv, J. 2016. Climate Change and *Aedes* Vectors: 21st Century Projections for Dengue Transmission in Europe. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.03.046>
- IPCC, 2014. Cambio climático 2014: Impactos, adaptación y vulnerabilidad. Resúmenes, preguntas frecuentes y cuadros multicapítulos. Contribución del Grupo de trabajo II al Quinto Informe de Evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático.
- IPCC.2018.Segundo Informe Bienal de Actualización sobre el cambio climático ante la CMNUCC. (IBA2). Proyecto IBA2. Asunción, Paraguay.
- Jirakanjanakit, N.; Leemingsawat, S.; Thongrungrat, S.; Apiwathnasorn C.; Singhanijom, S.; Bellec, C.; y Dujardi, J. 2007. Influence of larval density or food variation on the geometry of the wing of *Aedes (Stegomyia) aegypti*. *Tropical Medicine and International Health*. volume 12 no 11 pp 1354–1360 november 2007. doi:10.1111/j.1365-3156.2007.01919.
- Klingenberg C.P. 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11: 353–357.
- Latorre & Neira. 2016. Influencia del Cambio climático en la biología de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) mosquito transmisor de arbovirosis humanas. *Revista Ecuatoriana De Medicina y Ciencias Biológicas*. Volumen 37. No. 2, Noviembre 2016
- León. R. 1997. Guía práctica para la identificación de *Aedes aegypti*. Centro Nacional de Laboratorios de Salud pública. Serie de Guías Entomológicas N° 2 Lima-Perú.
- López, R & Molina, R. 2005. Cambio Climático en España y enfermedades infecciosas y Parasitarias transmitidas por Artropodos y Roedores. *Rev Esp Salud Pública* 2005; 79: 177-190

- Misslin, R.; Telle, O.; Daud' e, E.; Vaguet, A and Paul, R. 2016. Urban climate versus global climate change—what makes the difference for dengue?. Issue: Human Health in the Face of Climate Change. Ann. N.Y. Acad. Sci. ISSN 0077-8923.
- Micieli M.; Muttis M.; Balsalobre A.; Chin P.; Ciota A.; y Laura D. Kramer. (2016). Capacidad vectorial de *Aedes aegypti* para chikungunya y virus Dengue en poblaciones de Argentina. Eco-epidemiología de Enfermedades Transmitidas por Mosquitos. X Jornadas Regionales sobre Mosquitos.
- Morales Vargas RE, Ya-Umphun P, Phumala-Morales N, Komalamisra N, Dujardin JP. Climate associated size and shape changes in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations from Thailand. Infect Genet Evol. 2010 May;10(4):580-5. doi: 10.1016/j.meegid.2010.01.004. Epub 2010 Feb 1. PMID: 20123039.
- Mello-Román, JD, Mello Román, JC, Gómez Guerrero, S. and García-Torres, M. 2019. Predictive Models for the Medical Diagnosis of Dengue: A Case Study in Paraguay. Computational and Mathematical Methods in Medicine Volume 2019, Article ID 7307803, 7 pages. <https://doi.org/10.1155/2019/7307803>
- Ngugi, H.; Mutuku F.; Ndenga, B.; Musunzaji, S.; Mbakaya, J.; Aswani, P.; Irungu, L.; Mukoko, L.; Vulule, J.; Kitron, U and LaBeaud, A. 2017. Characterization and productivity profiles of *Aedes aegypti* (L.) breeding habitats across rural and urban landscapes in western and coastal Kenya. Parasites & Vectors (2017) 10:331 DOI:10.1186/s13071-017-2271-9
- Niño, L. 2018. La zonificación del riesgo en salud: fiebre amarilla desde una perspectiva geográfica en La macarena, departamento del Meta, Colombia. Salud Colectiva. Universidad Nacional de Lanús. ISSN 1669-2381. EISSN 1851-8265. doi: 10.18294/sc.2018.1087
- Ochoa, S.; Chacón, K.; Rivera, B, y Sánchez, L. 2017. Enfermedades transmitidas por vectores y cambio climático. Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, 25(72), 118-128.
- OMS. 2010. Dengue. Guía para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control. Edición 2009. La Paz- Bolivia
- Oxford Flight group (Productor). 2017. he Secrets of Mosquito Flight Uncovered. Disponible en:

https://www.youtube.com/watch?time_continue=31&v=WPLcV5Y83WE&feature=emb_lo
[go](#)

- Paploski, I.; Rodrigues, M.; Mugabe, V.; Kikuti, M.; Tavares, A.; Reis, M.; Kitron, U and Sousa, G. 2016. Storm drains as larval development and adult resting sites for *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Salvador, Brazil. *Parasites & Vectors* (2016) 9:419 DOI 10.1186/s13071-016-1705-0
- Pacheco, M. A., González, R., & Brochero, H. L. 2017. *Anopheles darlingi* Root 1926 (Diptera: Culicidae): variaciones morfométricas en alas y patas de poblaciones de Colombia. *Biomédica*, 37, 124-134.
- Consoli, R & De Oliveira, L. 1994. Mosquitos de importancia sanitaria en Brasil. Fundacion Oswaldo Cruz. Edit Fiocruz. Rio de Janeiro. ISBN 85-856767-03-5
- Rambaut, A. 2012. FigTree v1. 4. [Programa informático]
- Rey J, Lounibos P. Ecología de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* en América y la transmisión de enfermedades. *Biomédica*. 2015;35(2):1-27.
- Rohlf F.J. 2005. tpsDig2. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Rohlf F.J., y D. Slice. 1990 Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology* 39: 40–59.
- Rossi, G. Almirón W. 2003. Clave ilustrada para la identificación de larvas de mosquitos de interés sanitario encontrados en criaderos artificiales en la Argentina. Serie de enfermedades transmisibles. Publicación monográfica N° 5. Argentina.
- Sumanochitrapon, W., Strickman, D., Sithiprasasna, R., Kittayapong, P., Innis, B., 1998. Effect of size and geographic origin of *Aedes aegypti* on oral infection with dengue-2 virus. *American Journal of Tropical Medicine Hygiene* 58, 283–286
- Sandoval, M 2019. Arbovirosis febriles agudas: Eco-epidemiología y diagnóstico. *Med Gen Fam* 2019 v9n1, Review. Universidad Nacional de Colombia.
- Strauss R.E. 2010. Discriminating groups of organisms. Pp. 73-91. En: *Morphometrics for Nonmorphometricians* (E. Ashraf, ed.). Lecture Notes in Earth Sciences 124 Springer-Verlag.

- Siraj AS, Oidtman RJ, Huber JH, Kraemer MUG, Brady OJ, Johansson MA, et al. 2017. Temperature modulates dengue virus epidemic growth rates through its effects on reproduction numbers and generation intervals. *PLoS Negl Trop Dis* 11(7): e0005797. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005797>
- Tamayo Escobar Osmany Enrique, García Olivera Tania María, Escobar Yéndez Nilia Victoria, González Rubio Daniel, Castro Peraza Osvaldo. 2019. La reemergencia del dengue: un gran desafío para el sistema sanitario latinoamericano y caribeño en pleno siglo XXI. MEDISAN. Consultado el 12 de junio de 2019. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102930192019000200308&lng=es.
- Vezzani, D., Velázquez, S. M., and Schweigmann, N. 2004. Seasonal pattern of abundance of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Buenos Aires city, Argentina. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 99(4), 351–356. doi:10.1590/s0074-02762004000400002
- Villamizar, A y Carvajal, L. 2012. Influencia de los cambios climático en la definición del sexo en el *Aedes aegypti* y su impacto en las epidemias de dengue. RFS Julio - Diciembre de 2012. *Revista Facultad De Salud*, 4(2), 11-24. <https://doi.org/10.25054/rfs.v4i2.94>
- WHO. 2014. Dengue, countries or areas at risk, 2013. Geneva: WHO; 2014 [citado 12/01/2020]. Disponible en: <http://www.who.int/ith/en/>
- WHO. 2019. Dengue. Consultado el 12 de junio de 2019. Disponible en <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
- Wilk-da-Silva R, de Souza Leal Diniz MMC, Marrelli MT, Wilke ABB. Wing morphometric variability in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from different urban built environments. *Parasit Vectors*. 2018 Oct 26;11(1):561. doi: 10.1186/s13071-018-3154-4. PMID: 30367678; PMCID: PMC6203966.
- Westbrook, C. J., Reiskind, M. H., Pesko, K. N., Greene, K. E., & Lounibos, L. P. (2010). Larval environmental temperature and the susceptibility of *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae) to Chikungunya virus. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)*, 10(3), 241–247. <https://doi.org/10.1089/vbz.2009.0035>

Zelditch, M. L.; Swiderski, D. L.; Sheets, H. D. & Fink, W.L. 2004 Geometric morphometrics for biologists: A primer. Elsevier Academic.

9. ANEXOS

91	I	0.49	0.42	1.11	0.92	3.31	0.62	1.65	0.48	1.59	2.11	3.58
92	I	0.4	0.42	1	0.77	2.41	0.61	1.6	0.46	1.4	2.08	3.11
93	I	0.41	0.48	1.14	0.69	2.95	0.69	1.61	0.36	1.44	2.08	3.21
94	I	0.48	0.42	1.11	0.79	2.46	0.66	1.8	0.5	1.61	1.77	3.1
95	I	0.46	0.48	1.21	0.7	3.03	0.78	1.9	0.46	1.46	2.01	3.55
96	I	0.4	0.51	1.11	0.77	3.18	0.69	1.62	0.48	1.71	2.15	3.5
97	I	0.48	0.48	1.14	0.83	2.95	0.66	1.63	0.43	1.7	1.84	3.65
98	I	0.4	0.47	1.2	0.71	3.03	0.69	1.61	0.48	1.61	1.91	3.49
99	I	0.42	0.46	1.2	0.93	2.78	0.69	1.8	0.47	1.53	1.91	3.59
100	I	0.48	0.42	1.2	0.74	3.17	0.66	1.77	0.48	1.55	2.08	3.55
101	I	0.52	0.5	1.32	0.95	3.28	0.64	1.82	0.5	1.6	2.14	3.59
102	I	0.5	0.48	1.24	0.74	3.03	0.65	1.64	0.5	1.51	2.01	3.48
103	I	0.48	0.58	1.22	0.85	3.3	0.78	1.8	0.5	1.57	2.03	3.57
104	I	0.5	0.46	1.31	0.94	2.74	0.77	1.56	0.5	1.78	3.34	3.68
105	I	0.5	0.58	1.24	0.85	3.3	0.78	1.59	0.43	1.79	2.24	3.28
106	I	0.43	0.44	1.14	0.85	2.7	0.68	1.77	0.51	1.61	2	3.36
107	I	0.48	0.5	1.18	0.77	3.3	0.81	1.8	0.51	1.44	2.08	3.65
108	I	0.43	0.53	1.18	0.71	3.02	0.69	1.58	0.52	1.51	1.95	3.31
109	I	0.44	0.5	1.12	0.9	3.24	0.63	2.01	0.51	2.2	2.31	3.8
110	I	0.5	0.43	1.28	0.71	3.01	0.8	2.01	0.47	1.44	1.83	3.56
111	I	0.57	0.44	1.18	0.85	2.93	0.6	1.85	0.48	1.45	2.08	3.4
112	I	0.48	0.59	1.3	0.78	3.13	0.71	1.8	0.52	1.93	2.13	3.7
113	I	0.5	0.44	1.24	0.85	3.38	0.69	1.7	0.5	2.01	2.31	3.37
114	I	0.5	0.46	1.31	0.7	3.06	0.7	1.6	0.5	1.46	1.64	3.54
115	I	0.45	0.44	1.32	0.75	3.22	0.65	1.59	0.53	1.79	2.04	3.58
116	I	0.48	0.48	1.12	0.72	3.02	0.65	1.5	0.51	1.6	2.01	3.61
117	I	0.48	0.48	1.22	0.83	2.94	0.69	1.69	0.5	1.54	1.9	3.31
118	I	0.51	0.51	1.2	0.8	2.76	0.62	1.69	0.52	1.77	2.01	3.31
119	I	0.48	0.48	1.36	0.7	3.2	0.7	1.9	0.5	1.85	2.01	3.55
120	I	0.56	0.51	1.24	0.9	2.7	0.71	1.82	0.52	1.6	2.05	3.61
121	MG	0.47	0.51	1.16	0.53	2.75	0.49	1.75	0.5	1.55	1.87	3.13
122	MG	0.41	0.51	1.11	0.53	2.74	0.45	1.72	0.48	1.54	1.86	3.36
123	MG	0.4	0.51	1.01	0.55	2.73	0.51	1.75	0.48	1.54	1.7	3.26
124	MG	0.39	0.45	1.24	0.5	3.02	0.61	1.8	0.53	1.52	1.89	3.36
125	MG	0.41	0.44	1	0.6	2.52	0.5	1.82	0.48	1.51	1.85	3.18
126	MG	0.39	0.42	1.01	0.65	3.1	0.55	1.85	0.42	1.6	1.89	3.2
127	MG	0.39	0.42	1.02	0.61	2.7	0.61	1.68	0.5	1.46	1.74	3
128	MG	0.4	0.4	0.85	0.62	2.61	0.5	1.72	0.43	1.55	1.7	2.76
129	MG	0.42	0.43	0.88	0.55	1.99	0.5	1.75	0.43	1.67	1.84	3.26
130	MG	0.47	0.49	1.01	0.55	2.75	0.46	1.75	0.5	1.56	1.6	2.73
131	MG	0.43	0.37	1.15	0.53	3.08	0.45	1.75	0.48	1.46	1.74	2.87
132	MG	0.4	0.43	0.88	0.58	2.83	0.51	1.89	0.51	1.58	1.97	3.56
133	MG	0.47	0.39	1.04	0.58	2.95	0.49	1.8	0.5	1.65	1.76	3.36
134	MG	0.47	0.41	1.08	0.58	3.02	0.5	2.05	0.5	1.65	1.85	3.25
135	MG	0.39	0.42	0.83	0.51	2.87	0.56	2	0.49	1.45	2	3.22
136	MG	0.5	0.42	1.12	0.57	2.8	0.56	2.12	0.51	1.64	1.89	3.23
137	MG	0.47	0.34	1.03	0.65	2.88	0.54	2.05	0.49	1.58	1.75	2.87
138	MG	0.39	0.4	1.11	0.65	2.8	0.49	1.92	0.48	1.58	1.73	2.98
139	MG	0.39	0.34	1.15	0.57	2.72	0.49	1.75	0.48	1.55	1.84	3.03
140	MG	0.35	0.41	1.01	0.63	3.05	0.54	1.86	0.46	1.67	1.84	3.36
141	MG	0.46	0.45	1.16	0.52	3.04	0.5	1.92	0.6	1.67	1.84	3.58
142	MG	0.46	0.42	1.12	0.56	3.5	0.54	1.75	0.49	1.67	1.73	3.43
143	MG	0.46	0.47	1.01	0.65	3.05	0.46	1.88	0.48	1.55	1.68	3.04
144	MG	0.41	0.42	1.01	0.65	2.97	0.5	1.75	0.51	1.67	1.84	3.28
145	MG	0.47	0.45	1.01	0.56	2.78	0.5	1.92	0.48	1.67	1.73	3.21
146	MG	0.45	0.47	1.12	0.62	2.97	0.49	1.45	0.46	1.58	1.79	3.36
147	MG	0.32	0.51	1.09	0.57	2.76	0.49	1.93	0.49	1.45	1.85	3.43
148	MG	0.46	0.42	0.98	0.54	2.66	0.49	1.93	0.48	1.68	1.72	3.35
149	MG	0.39	0.49	1.06	0.51	2.73	0.49	1.92	0.46	1.67	1.79	3.36
150	MG	0.45	0.42	1.01	0.65	2.66	0.51	1.92	0.42	1.63	1.78	3.2
151	MG	0.44	0.48	1.4	0.94	3.02	0.99	1.9	0.48	2.04	2.33	3.95
152	MG	0.52	0.6	1.33	0.95	3.18	0.96	1.41	0.51	2.04	2.26	3.95
153	MG	0.44	0.4	1.32	0.9	3.18	0.88	1.46	0.6	2.17	2.23	3.91
154	MG	0.43	0.52	1.32	0.86	3.02	0.82	1.66	0.5	2.04	2.13	3.35
155	MG	0.52	0.58	1.34	0.95	3	0.93	1.7	0.57	2.04	2.26	3.87
156	MG	0.52	0.69	1.35	0.87	2.83	0.5	1.9	0.52	2.07	2.26	3.95
157	MG	0.52	0.5	1.32	0.85	2.8	0.75	1.51	0.62	2.04	2.23	3.95
158	MG	0.52	0.67	1.33	0.85	3	0.75	1.9	0.6	1.92	2.13	3.77
159	MG	0.54	0.51	1.32	0.89	2.83	0.75	1.88	0.56	2.04	2.26	3.53
160	MG	0.45	0.55	0.93	0.6	2.6	0.75	1.51	0.51	1.6	2.06	2.6
161	MG	0.5	0.45	1.45	0.98	3.2	0.67	1.83	0.52	2.07	2.39	3.87
162	MG	0.51	0.47	1.26	0.86	3.02	0.54	1.62	0.51	1.75	2.08	3.53
163	MG	0.56	0.47	1.2	0.7	2.95	0.67	1.54	0.48	1.88	1.93	3.11
164	MG	0.4	0.53	1.5	0.87	3.18	0.8	1.8	0.62	2.07	2.33	4.22
165	MG	0.51	0.47	1.47	0.92	3.1	0.75	1.59	0.51	1.72	2.26	3.46
166	MG	0.57	0.5	1.46	0.95	3.14	0.7	1.51	0.49	2.2	2.53	4.11
167	MG	0.45	0.47	1.32	0.9	3.03	0.75	1.64	0.49	1.98	2.15	3.78
168	MG	0.69	0.65	1.51	1	3.39	0.88	1.52	0.64	2.07	2.26	3.47
169	MG	0.56	0.55	1.26	0.92	2.8	0.78	1.64	0.59	1.78	2.09	3.44
170	MG	0.43	0.52	1.35	1.02	3.19	0.75	1.82	0.59	2.08	2.47	3.87
171	MG	0.54	0.5	1.35	0.99	2.93	0.8	1.61	0.53	1.98	2.16	3.8
172	MG	0.53	0.58	1.32	0.94	3.18	0.89	1.61	0.54	2.03	2.22	3.93
173	MG	0.6	0.52	1.51	0.75	2.89	0.76	1.72	0.6	2.07	2.24	3.86
174	MG	0.48	0.51	1.3	0.78	3.3	0.9	1.64	0.55	1.82	2.21	3.4
175	MG	0.43	0.49	1.39	0.69	3.5	0.93	1.64	0.45	1.8	2.08	3.55
176	MG	0.4	0.61	1.32	0.76	2.67	0.85	1.65	0.57	1.88	2.06	3.72
177	MG	0.54	0.52	1.41	0.96	3.14	0.89	1.69	0.47	1.88	2.32	3.51
178	MG	0.49	0.5	1.32	0.88	3.28	0.77	1.67	0.63	2.02	2.06	3.67
179	MG	0.47	0.52	1.45	0.84	2.78	0.7	1.65	0.62	1.81	2.27	3.7
180	MG	0.57	0.51	1.27	0.88	3.3	0.78	1.62	0.64	2.02	2.42	4.06

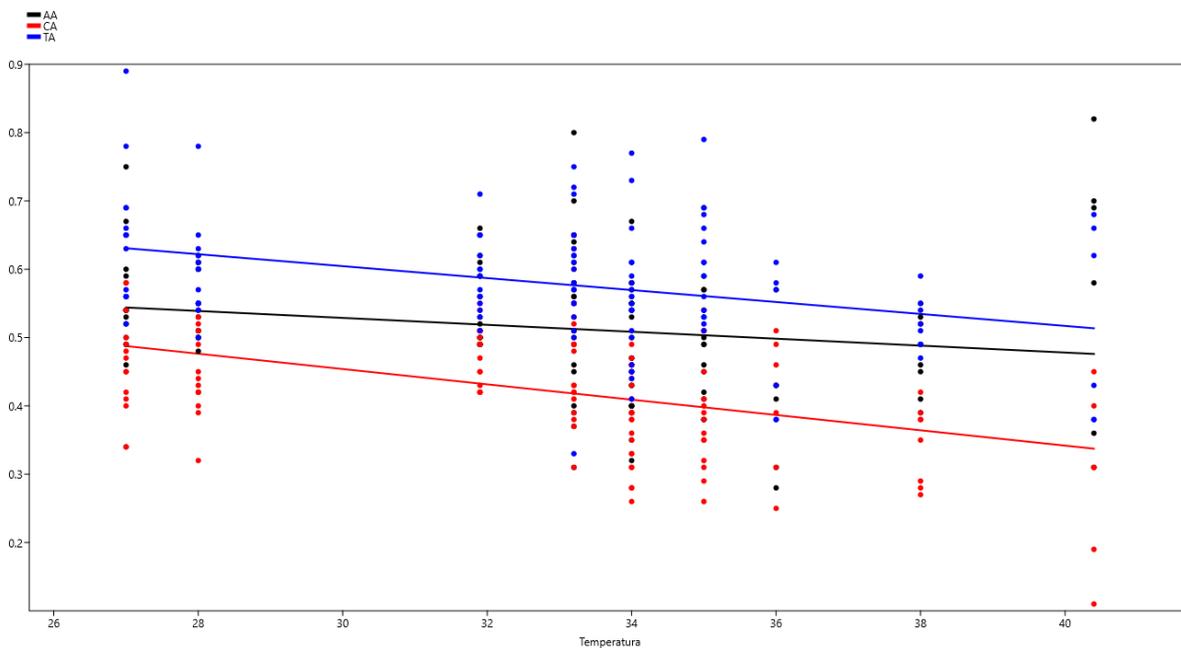
61	I	0.29	0.36	0.67	0.46	2.08	0.55	1.28	0.43	1.12	1.58	2.36
62	I	0.31	0.28	0.89	0.55	2.12	0.39	1.89	0.42	1.44	1.86	3.27
63	I	0.25	0.26	1.09	0.51	2.61	0.35	1.75	0.5	0.89	1.16	3
64	I	0.32	0.38	1.14	0.44	2.58	0.4	1.87	0.42	1.28	1.75	2.8
65	I	0.35	0.39	0.93	0.57	2.8	0.55	1.85	0.44	1.15	1.46	3.3
66	I	0.34	0.38	0.95	0.54	2.78	0.4	1.81	0.52	1.34	1.48	2.87
67	I	0.29	0.39	1.11	0.5	2.77	0.55	1.85	0.35	1.29	1.67	3.4
68	I	0.33	0.41	1.09	0.56	2.92	0.4	1.88	0.39	1.3	1.74	3.2
69	I	0.34	0.38	0.99	0.54	2.59	0.41	1.88	0.4	1.44	1.81	3.22
70	I	0.34	0.28	1.01	0.55	2.65	0.45	1.65	0.38	1.27	1.74	3.21
71	I	0.29	0.42	1.11	0.51	2.8	0.49	1.97	0.48	1.34	1.81	2.85
72	I	0.28	0.39	1.01	0.47	3.06	0.46	1.99	0.42	1.35	1.73	2.77
73	I	0.33	0.29	1.18	0.49	2.51	0.52	1.89	0.42	1.54	1.85	3.09
74	I	0.29	0.38	1	0.59	2.72	0.53	1.85	0.4	1.24	1.67	3.05
75	I	0.38	0.35	1.2	0.52	2.73	0.39	1.91	0.37	1.3	1.62	2.39
76	I	0.39	0.27	0.89	0.49	3.08	0.55	2.01	0.42	1.36	1.81	3.62
77	I	0.35	0.45	0.79	0.77	2.71	0.57	1.72	0.44	1.39	1.8	3.1
78	I	0.29	0.46	1.04	0.54	2.59	0.47	1.81	0.45	1.36	1.75	3.21
79	I	0.38	0.33	1.03	0.56	3.17	0.54	1.6	0.48	1.26	1.41	2.95
80	I	0.4	0.43	0.9	0.54	2.73	0.53	1.72	0.48	1.35	1.74	2.62
81	I	0.29	0.46	1.09	0.66	2.1	0.58	1.83	0.44	1.11	1.81	3.09
82	I	0.24	0.33	1.11	0.41	2.9	0.5	1.87	0.5	1.39	1.9	3.21
83	I	0.38	0.35	0.99	0.61	2.74	0.58	1.8	0.51	1.34	1.62	2.85
84	I	0.33	0.39	0.95	0.73	2.9	0.47	1.55	0.41	1.16	1.4	3.2
85	I	0.54	0.35	1.11	0.54	2.92	0.46	1.5	0.41	1.22	1.64	2.39
86	I	0.39	0.45	1.11	0.61	2.55	0.59	1.72	0.5	1.44	1.56	3.53
87	I	0.33	0.26	1.18	0.66	3.02	0.57	1.59	0.5	1.43	1.67	3.29
88	I	0.38	0.39	1.09	0.64	3.01	0.54	1.79	0.45	1.27	1.52	2.91
89	I	0.39	0.38	0.89	0.59	2.69	0.49	1.96	0.39	1.45	1.57	2.87
90	I	0.26	0.4	0.99	0.79	2.69	0.5	1.63	0.31	1.17	1.65	2.87
numero	población	CL	CA	TL	TA	AL	AA	PL	LL	PF	PTI	PTA
1	A	0.19	0.45	0.63	0.68	2.55	0.58	1.02	0.36	1.3	1.42	2.22
2	A	0.35	0.31	0.66	0.62	2.25	0.82	1.16	0.35	0.93	1.68	2.93
3	A	0.13	0.31	0.53	0.38	1.93	0.36	1.61	0.36	1.12	1.19	1.57
4	A	0.22	0.19	0.52	0.38	1.78	0.31	1.61	0.36	1.13	1.42	1.28
5	A	0.42	0.11	0.81	0.43	2.67	0.69	2.01	0.31	1.5	1.88	2.39
6	A	0.23	0.4	0.9	0.66	3.04	0.7	2.01	0.39	1.05	1.79	3.66
7	A	0.43	0.46	0.84	0.43	2.48	0.43	1.5	0.63	1.08	1.5	2.94
8	A	0.25	0.25	0.69	0.38	2.33	0.28	1.13	0.62	1.2	1.32	2.34
9	A	0.43	0.49	1.14	0.61	2.59	0.31	1.22	0.38	1.12	1.59	2.29
10	A	0.39	0.51	1.22	0.58	2.85	0.41	1.39	0.46	1.23	1.6	3.27
11	A	0.32	0.31	1.02	0.57	2.47	0.43	1.5	0.38	0.93	1.25	2.93
12	A	0.34	0.39	0.99	0.38	2.9	0.57	2	0.68	1.33	1.62	3.15
13	A	0.32	0.44	1.08	0.45	2.91	0.43	1.62	0.35	1.25	1.62	2.47
14	A	0.26	0.49	0.62	0.59	2.77	0.46	0.44	0.35	1.26	0.86	1.31
15	A	0.25	0.47	0.96	0.45	3.03	0.67	2	0.33	1.08	1.89	3.61
16	A	0.25	0.31	0.79	0.45	2.41	0.4	1.5	0.36	1.02	1.5	3.03
17	A	0.19	0.28	0.96	0.58	2.1	0.43	1.65	0.4	1.19	1.12	2.6
18	A	0.27	0.31	0.57	0.61	2.32	0.32	1.42	0.4	1.29	1.56	1.99
19	A	0.25	0.41	0.52	0.69	2.82	0.57	1.88	0.31	1.42	1.44	3.33
20	A	0.28	0.32	0.96	0.61	2.83	0.69	1.7	0.4	1.32	1.35	3.01
21	A	0.26	0.31	0.98	0.56	2.73	0.42	1.17	0.57	1.05	1.1	2.45
22	A	0.24	0.35	0.9	0.52	2.46	0.38	2	0.36	1.06	1.04	2.81
23	A	0.41	0.36	1.13	0.68	2.26	0.41	2	0.32	1.44	2	3.74
24	A	0.34	0.29	0.96	0.51	2.25	0.38	1.6	0.39	1.35	1.6	2.95
25	A	0.23	0.31	0.84	0.33	2.18	0.31	1.04	0.32	1.28	1.2	3.19
26	A	0.33	0.52	0.8	0.6	1.58	0.37	1.37	0.38	1.24	1.68	2.92
27	A	0.25	0.38	0.66	0.63	2.13	0.4	1.2	0.37	0.66	1.52	2.2
28	A	0.3	0.65	0.69	0.65	2.27	0.65	0.93	0.22	1.05	1.17	1.62
29	A	0.46	0.58	1	0.55	2.14	0.55	1.76	0.44	1.53	1.54	2.99
30	A	0.49	0.43	1.16	0.65	3.03	0.64	2.06	0.49	1.43	1.5	2.78
31	A	0.52	0.58	1.62	1.18	2.91	0.81	1.85	0.67	1.93	2.34	4.05
32	A	0.43	0.61	1.05	0.71	2.55	0.42	1.84	0.51	1.18	1.39	2.54
33	A	0.32	0.5	1.2	0.8	2.81	0.89	1.97	0.54	2.06	2.16	3.7
34	A	0.3	0.52	1.45	0.94	3.4	0.65	2.01	0.41	1.54	2.43	3.97
35	A	0.42	0.44	1.03	0.48	2.06	0.32	1.53	0.59	1.52	1.94	3.46
36	A	0.47	0.49	1.74	1.06	3.14	1.13	1.86	0.67	1.55	1.61	3.85
37	A	0.28	0.53	1.17	0.85	3.23	0.79	1.77	0.51	1.62	1.98	3.45
38	A	0.54	0.45	1.45	1	3.42	0.59	1.47	0.8	1.49	1.73	3.64
39	A	0.58	0.3	0.99	0.57	2.45	0.66	1.23	0.38	1.1	1.47	2.58
40	A	0.4	0.58	1.47	1.07	3.1	0.79	1.84	0.52	1.78	2.03	3.94
41	A	0.65	0.57	1.2	0.9	3.4	0.95	2	0.56	1.55	1.85	3.36
42	A	0.47	0.35	0.86	0.46	2.67	0.76	1.44	0.53	1.49	1.7	3.06
43	A	0.59	0.6	1.38	0.92	1.43	0.87	1.81	0.5	1.53	1.71	4
44	A	0.5	0.45	1.09	0.66	2.12	0.55	1.41	0.45	1.58	1.75	3.03
45	A	0.47	0.46	1.34	0.78	3.41	0.76	1.79	0.66	1.82	1.99	3.55
46	A	0.5	0.57	1.49	0.87	3.41	0.83	1.82	0.8	2.21	2.17	3.49
47	A	0.65	0.45	1.17	0.69	2.93	0.57	1.86	0.78	1.37	1.81	3.38
48	A	0.39	0.38	0.95	0.65	2.25	0.56	1.62	0.29	1.31	1.67	2.66
49	A	0.46	0.48	0.86	0.47	2.24	0.47	1.22	0.26	1.52	1.86	3.31
50	A	0.46	0.44	1	0.8	2.59	0.68	1.94	0.49	1.72	1.98	3.5
51	A	0.45	0.48	1.16	0.76	2.52	0.67	2.03	0.82	1.78	2.07	3.42
52	A	0.42	0.52	1.37	0.75	3.38	0.77	2.01	0.52	2.05	2.33	3.75
53	A	0.36	0.56	1.34	0.69	2.95	0.66	1.66	0.63	1.47	1.74	3.14
54	A	0.67	0.55	1.22	0.66	2.09	0.51	1.45	0.33	1.32	1.58	2.95
55	A	0.51	0.49	1.19	0.98	3.42	1.01	1.85	0.43	1.98	2.54	3.98
56	A	0.46	0.59	0.89	0.84	2.77	0.82	1.8	0.48	1.8	2.48	3.75
57	A	0.46	0.53	1.19	0.67	3.04	0.58	1.61	0.51	1.74	2.32	3.65
58	A	0.32	0.5	1.1	0.85	3.4	1.06	1.8	0.4	1.93	2.12	3.35
59	A	0.22	0.48	1.34	0.7	2.88	0.52	1.72	0.48	1.45	1.92	2.97
60	A	0.4	0.49	1.05	0.51	2.94	0.98	1.53	0.5	1.28	1.62	3.31

181	CDE	0.39	0.49	1.15	0.57	3.02	0.55	1.75	0.51	1.7	1.97	3.58
182	CDE	0.42	0.53	1.05	0.6	2.85	0.54	1.75	0.53	1.61	1.78	3.05
183	CDE	0.39	0.42	1.03	0.63	2.78	0.53	1.62	0.48	1.35	1.73	3.23
184	CDE	0.44	0.32	1.01	0.55	2.77	0.48	1.66	0.39	1.65	1.72	3.83
185	CDE	0.49	0.55	0.99	0.6	3.24	0.6	1.7	0.48	1.4	1.8	3.49
186	CDE	0.48	0.39	1.06	0.54	3.46	0.51	1.49	0.55	1.61	1.81	3.11
187	CDE	0.43	0.52	1.15	0.78	3.2	0.62	2.02	0.49	1.71	1.79	3.72
188	CDE	0.46	0.6	1.06	0.62	2.86	0.58	1.87	0.51	1.78	1.85	3.35
189	CDE	0.35	0.63	1.1	0.5	2.8	0.39	2.05	0.41	1.39	1.82	3.11
190	CDE	0.38	0.55	1.19	0.71	2.97	0.57	1.95	0.45	1.71	2	3.38
191	CDE	0.4	0.55	1.13	0.62	2.83	0.51	1.94	0.49	1.3	1.75	3.16
192	CDE	0.49	0.53	1.15	0.72	2.72	0.7	2.05	0.5	1.59	1.9	3.03
193	CDE	0.41	0.49	1.11	0.75	3.13	0.61	1.75	0.46	1.64	1.63	3.31
194	CDE	0.5	0.48	1.13	0.61	3.13	0.8	1.59	0.51	1.58	1.8	3.35
195	CDE	0.47	0.48	1.04	0.56	2.45	0.52	1.77	0.44	1.21	1.75	2.85
196	CDE	0.38	0.54	1.1	0.69	3.12	0.54	1.86	0.53	1.24	1.84	3.52
197	CDE	0.4	0.49	1.05	0.78	3.14	0.67	1.89	0.43	1.8	2	3.7
198	CDE	0.35	0.58	1.01	0.69	2.43	0.6	1.89	0.5	1.45	1.89	2.79
199	CDE	0.5	0.58	1.18	0.89	2.79	0.53	2.04	0.51	1.62	1.7	3.02
200	CDE	0.45	0.5	1.01	0.66	2.93	0.59	1.68	0.39	1.65	1.72	2.97
201	CDE	0.46	0.45	1.11	0.56	2.85	0.75	1.92	0.45	1.8	1.91	3.58
202	CDE	0.43	0.54	1.01	0.59	2.23	0.62	1.81	0.35	1.57	1.69	2.96
203	CDE	0.45	0.5	1	0.65	2.87	0.52	1.67	0.53	1.6	1.93	3.5
204	CDE	0.36	0.51	1.18	0.71	2.8	0.56	1.89	0.52	1.66	1.8	3.23
205	CDE	0.41	0.51	1.01	0.56	2.98	0.5	1.8	0.48	1.64	1.85	2.8
206	CDE	0.42	0.49	1.03	0.59	2.87	0.53	1.7	0.42	1.6	1.7	3.02
207	CDE	0.48	0.45	0.95	0.53	2.63	0.5	1.53	0.47	1.5	1.81	2.48
208	CDE	0.39	0.43	1	0.6	2.48	0.61	1.6	0.4	1.46	1.51	2.61
209	CDE	0.43	0.55	1.02	0.6	2.57	0.59	1.78	0.38	1.73	1.83	2.75
210	CDE	0.39	0.5	0.85	0.55	2.53	0.66	1.67	0.42	1.54	1.65	2.78
211	CDE	0.42	0.41	0.68	0.68	2.21	0.53	1.63	0.42	1.47	1.52	2.93
212	CDE	0.55	0.48	1.07	0.49	2.12	0.47	1.33	0.4	1.48	1.71	2.61
213	CDE	0.56	0.43	1.4	0.72	2.64	0.58	1.89	0.39	1.65	1.8	3.3
214	CDE	0.64	0.5	1.33	0.95	3.42	0.9	1.84	0.45	2.15	2.21	3.68
215	CDE	0.6	0.48	1.5	1.04	3.5	0.9	1.62	0.6	2.15	2.35	4.15
216	CDE	0.64	0.45	1.33	0.89	3.36	0.94	1.45	0.52	2	2.25	3.37
217	CDE	0.6	0.44	1.31	1.04	3.21	0.9	2.06	0.65	2.24	2.4	4.05
218	CDE	0.54	0.49	1.25	0.89	3.29	0.63	1.6	0.5	2.05	2.28	3.78
219	CDE	0.51	0.48	1.32	1.07	3.1	1	1.65	0.51	2.13	2.5	3.83
220	CDE	0.44	0.55	1.23	0.85	3.12	0.6	1.81	0.54	2.03	2.14	3.83
221	CDE	0.47	0.51	1.49	0.9	3.54	0.9	1.9	0.45	2.06	2.26	4.11
222	CDE	0.43	0.6	1.23	0.81	3.2	0.52	1.63	0.56	2.04	2.16	3.66
223	CDE	0.6	0.5	1.43	0.76	3.27	0.72	1.96	0.58	2.28	2.36	4.5
224	CDE	0.54	0.43	1.23	0.95	3.43	0.95	1.66	0.6	2.2	2.31	3.8
225	CDE	0.52	0.49	1.4	0.95	3.3	0.71	1.8	0.53	2.08	2.24	3.82
226	CDE	0.65	0.52	1.26	0.76	3.4	0.75	1.77	0.45	2.08	2.15	4.06
227	CDE	0.48	0.5	1.37	0.81	3.48	0.88	1.8	0.52	2.17	2.27	4.01
228	CDE	0.58	0.55	1.26	0.69	2.96	0.79	1.56	0.55	2	2.15	3.92
229	CDE	0.46	0.58	1.08	0.63	2.89	0.85	1.8	0.46	1.69	2.1	3.3
230	CDE	0.55	0.65	1.29	0.9	3.18	0.89	1.67	0.65	1.89	2.02	3.77
231	CDE	0.46	0.69	0.96	0.8	2.66	0.85	1.46	0.61	1.7	1.78	3.22
232	CDE	0.4	0.58	1.12	0.64	2.89	0.57	2.05	0.42	1.78	1.82	3.32
233	CDE	0.56	0.54	1.13	0.69	2.84	0.76	1.89	0.62	1.85	2.13	3.25
234	CDE	0.45	0.6	1.19	0.84	2.95	0.79	1.55	0.53	1.94	2.04	3.48
235	CDE	0.52	0.48	1.1	0.6	2.82	0.7	1.64	0.42	1.83	1.97	3.57
236	CDE	0.51	0.53	1.2	0.8	2.63	0.75	1.64	0.42	1.9	2.1	3.51
237	CDE	0.39	0.67	1.32	0.78	3.41	0.86	1.61	0.5	1.97	2.35	3.22
238	CDE	0.62	0.54	1.35	0.68	2.83	0.7	1.86	0.43	1.84	2.27	3.65
239	CDE	0.54	0.49	1.2	0.8	2.93	0.8	1.66	0.51	1.78	2.12	3.21
240	CDE	0.51	0.57	1.33	0.77	3.01	0.71	1.74	0.55	1.84	2.2	3.73

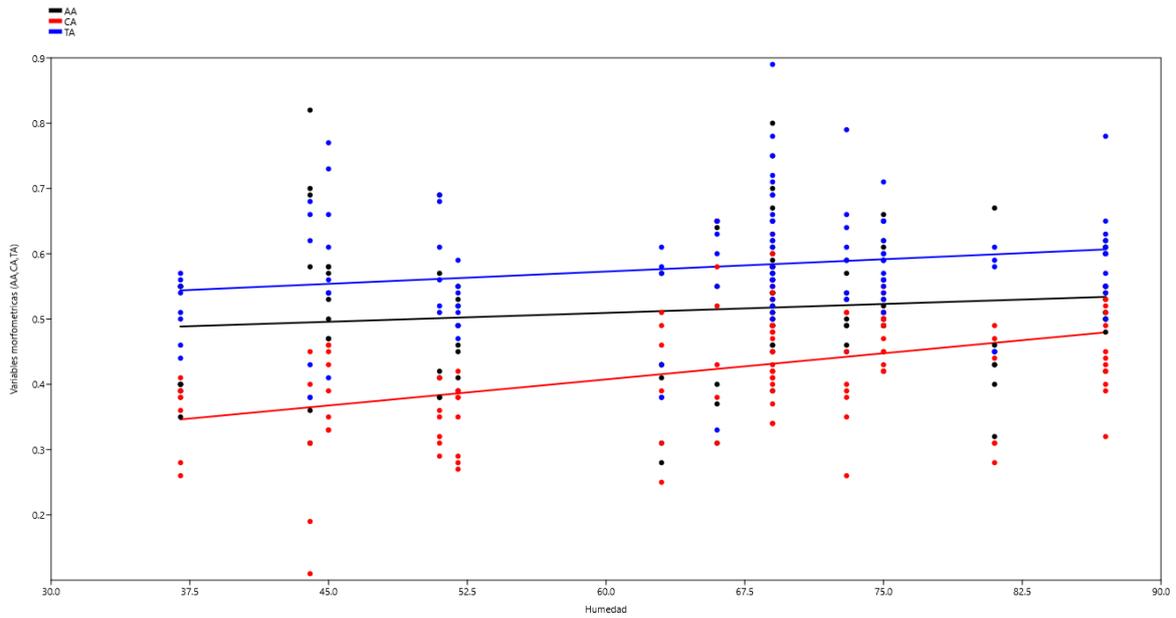
Anexo 1: Planilla de medición de las variables lineales de las 4 poblaciones en estudio. Azul: Machos. Naranja: Hembras.

Machos			
Kruskal-Wallis test for equal medians			
H (chi2):	1206		
Hc (tie correct)	1206		
p (same):	5,806E-253		
There is a significant difference between sample medians			
Hembras			
Kruskal-Wallis test for equal medians			
H (chi2):	1238		
Hc (tie correct)	1238		
p (same):	7,964E-260		
There is a significant difference between sample medians			

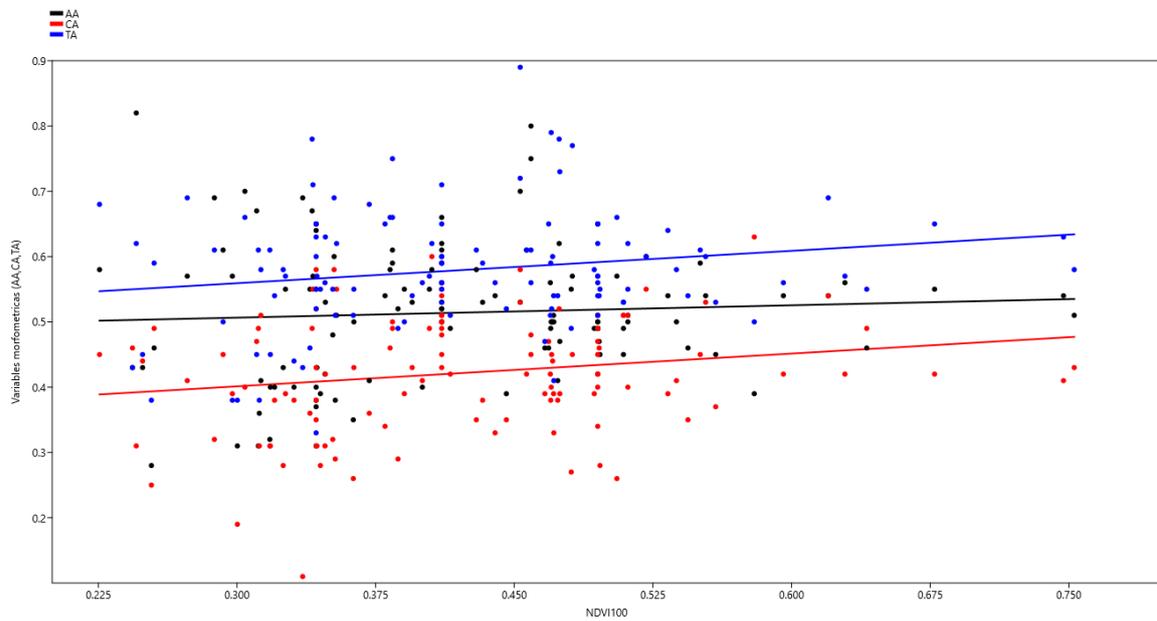
Anexo 2: Test Kruskal- Wallis mostrando que existen diferencias significativas en el test entre los machos y hembras de una misma población con $p < 0,05$.



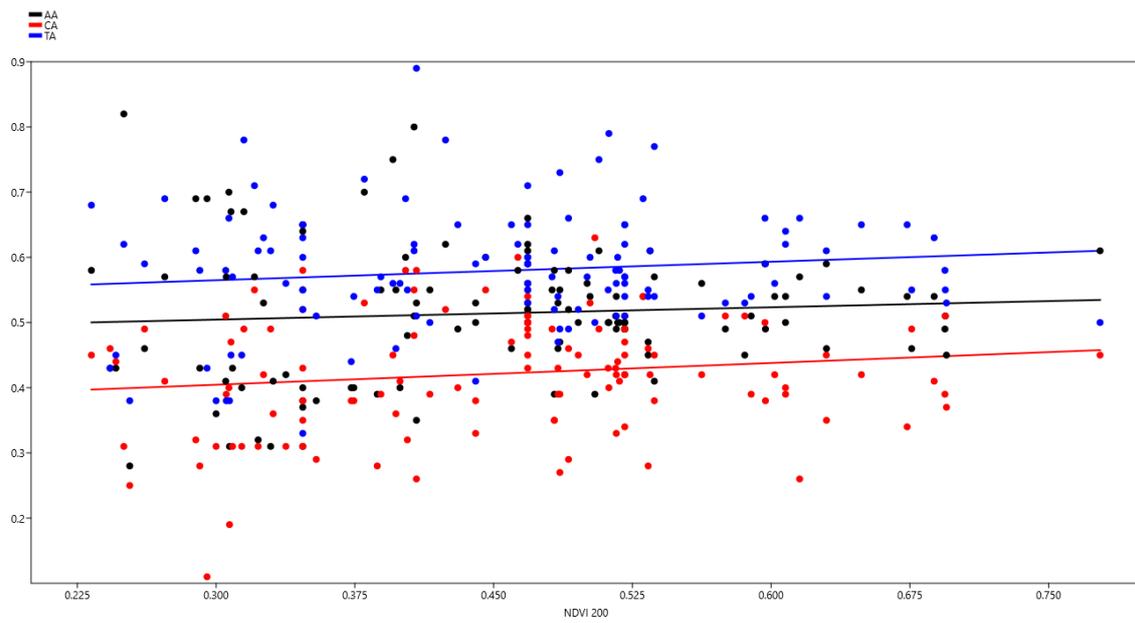
Anexo 3: Gráfico de correlación entre las variables obtenidas en el DAPC de los machos vs la temperatura.



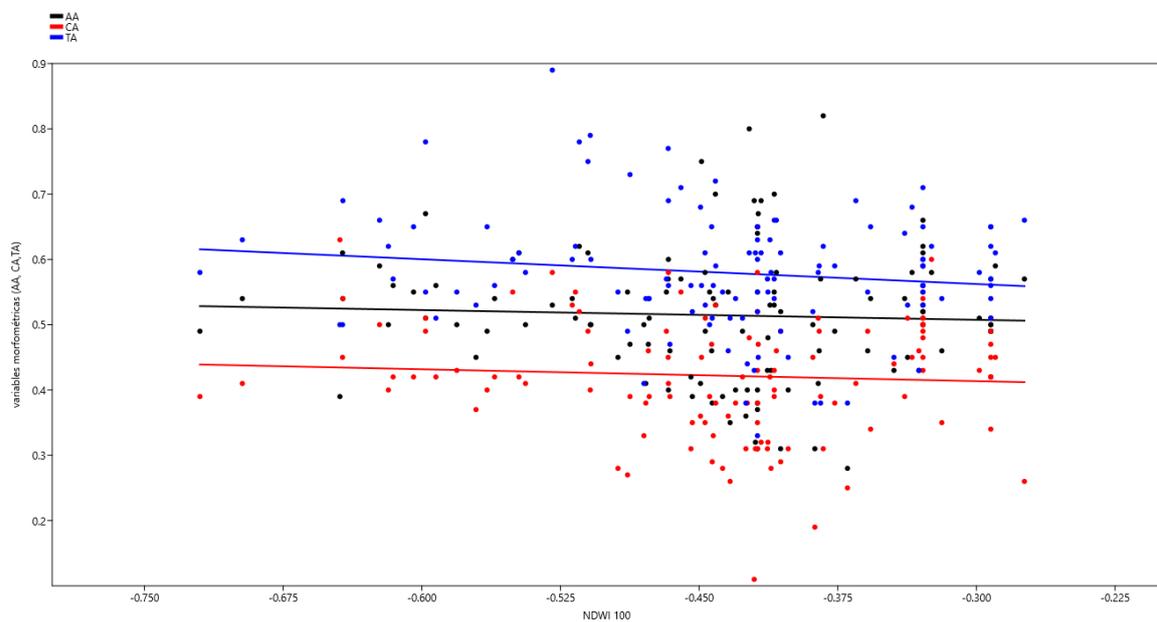
Anexo 4: Gráfico de correlación entre las variables obtenidas en el DAPC de los machos vs la humedad.



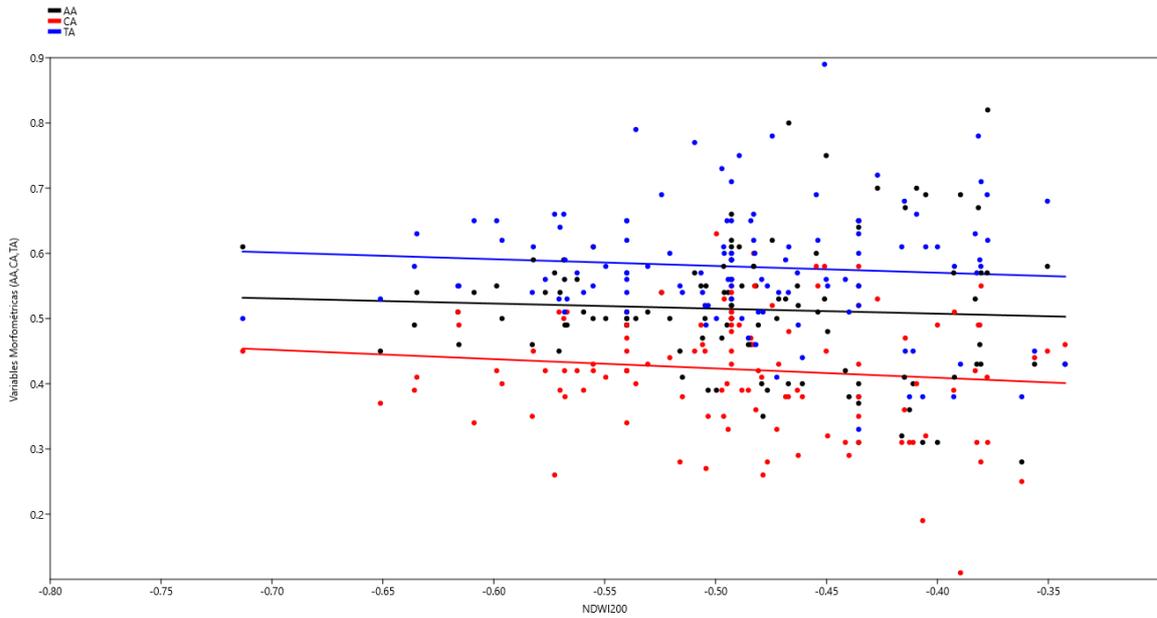
Anexo 5: Gráfico de correlación entre las variables obtenidas en el DAPC de los machos vs el NDVI a 100 metros.



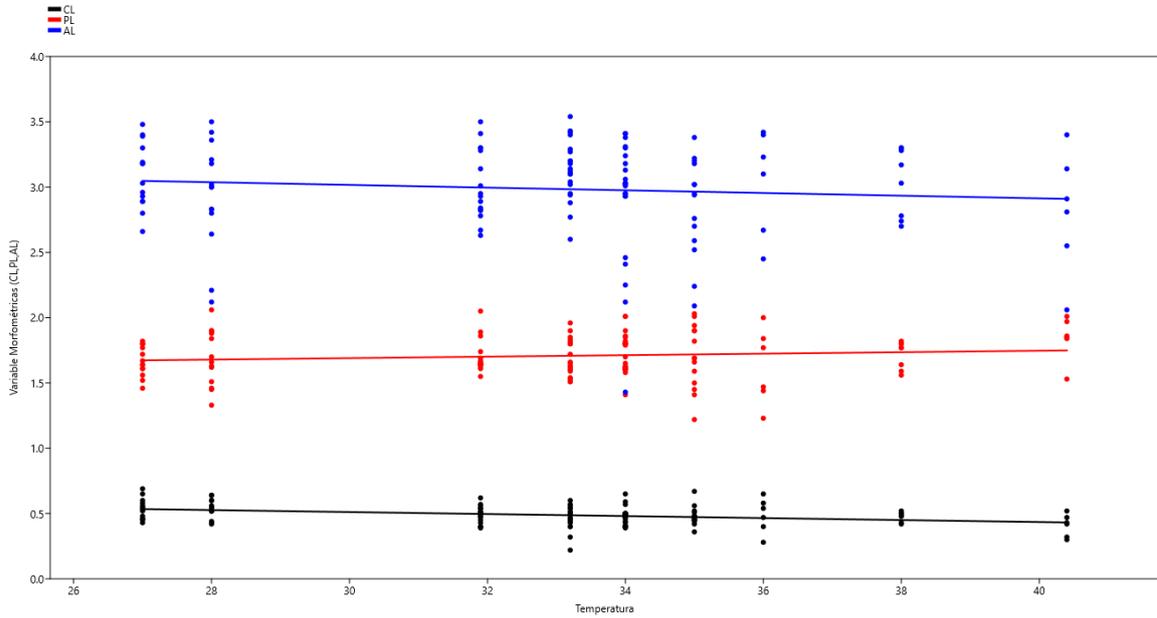
Anexo 6: Gráfico de correlación entre las variables obtenidas en el DAPC de los machos vs el NDVI a 200 metros.



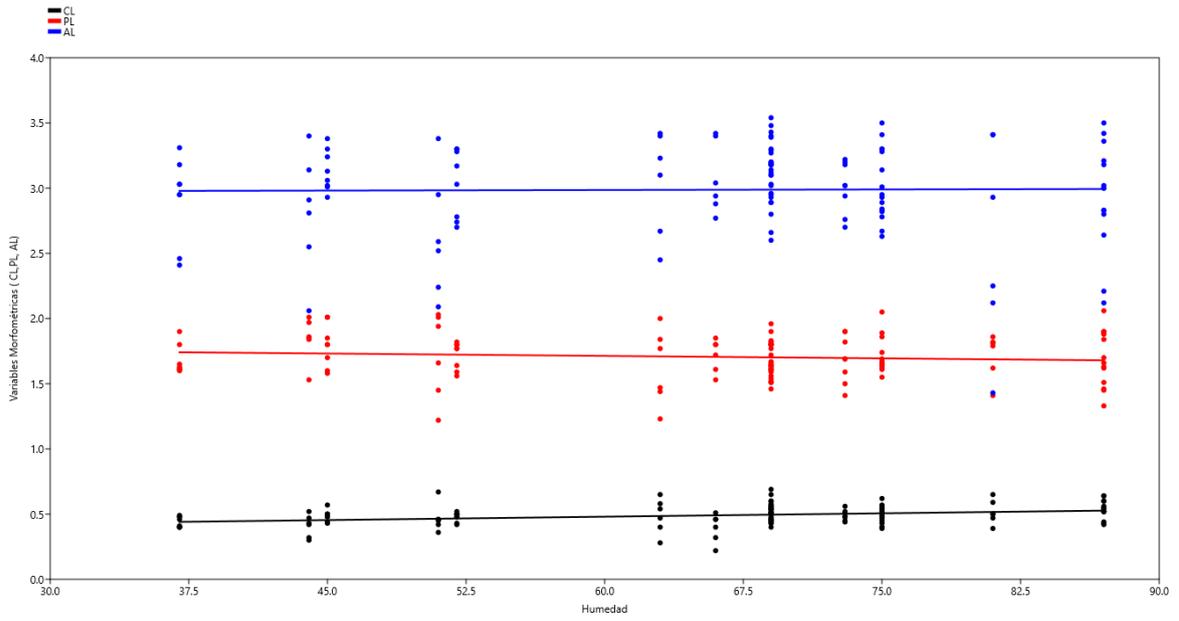
Anexo 7: Gráfico de correlación entre las variables obtenidas en el DAPC de los machos vs el NDWI a 100 metros.



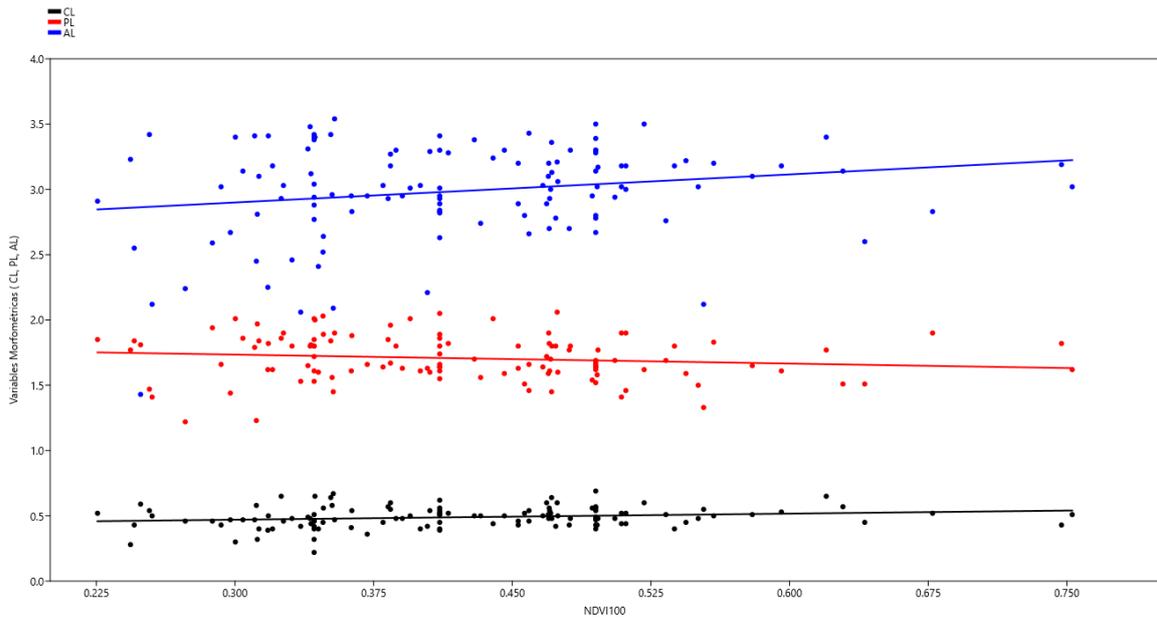
Anexo 8: Gráfico de correlación entre las variables obtenidas en el DAPC de los machos vs el NDWI a 200 metros.



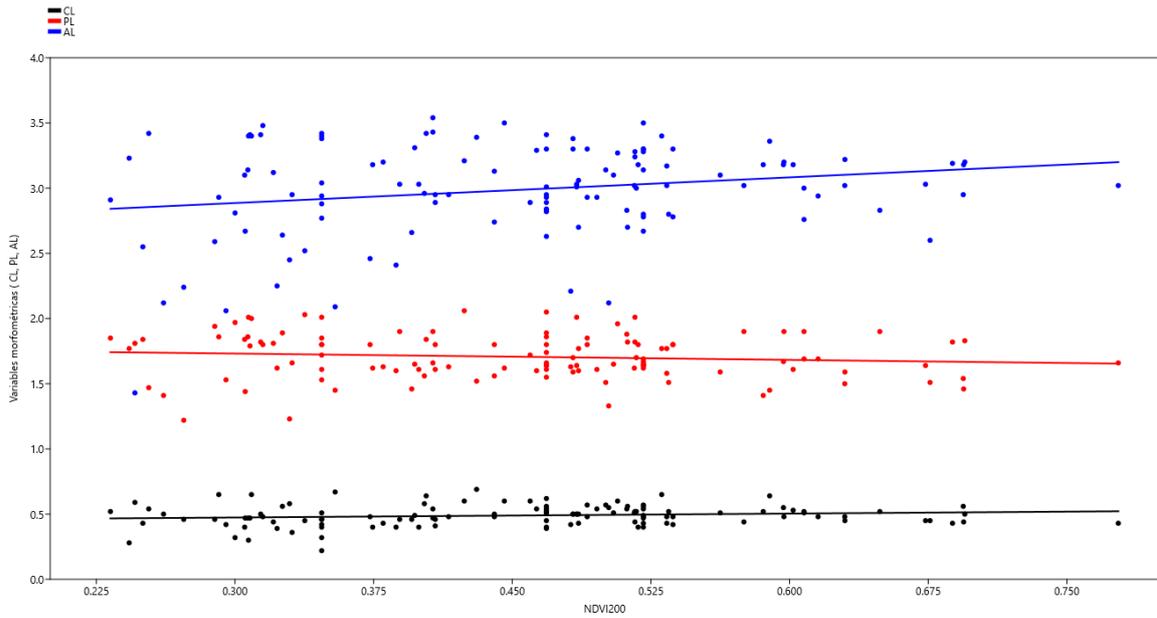
Anexo 9: Gráfico de correlación entre las variables obtenidas en el DAPC de las hembras vs la temperatura.



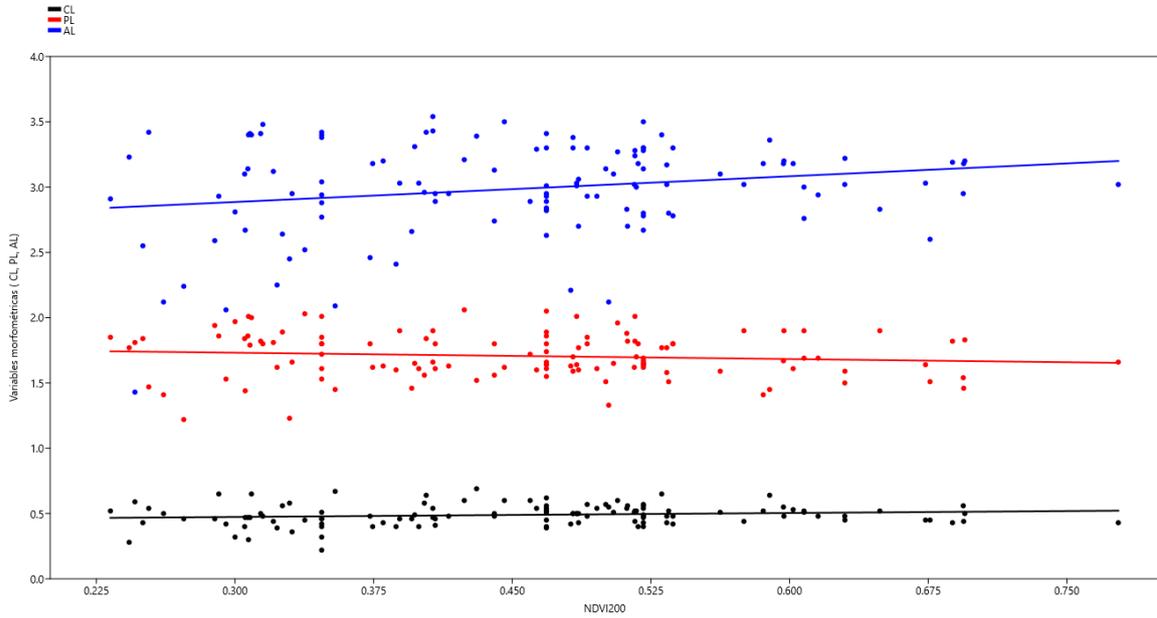
Anexo 10: Gráfico de correlación entre las variables obtenidas en el DAPC de las hembras vs la humedad.



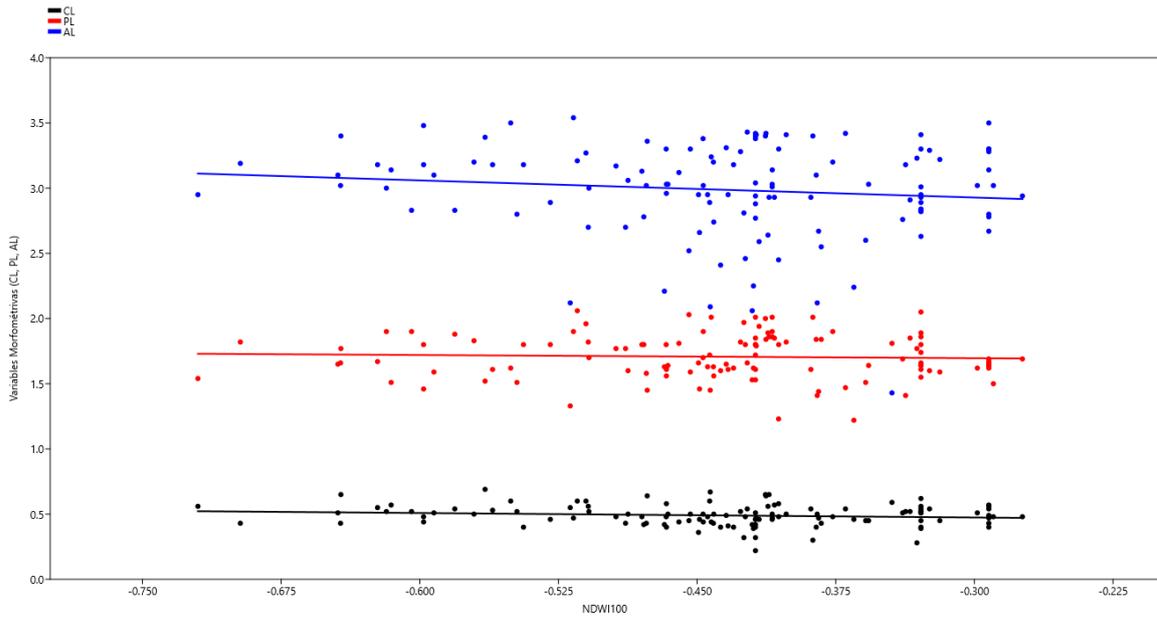
Anexo 11: Gráfico de correlación entre las variables obtenidas en el DAPC de las hembras vs el NDVI a 100 metros



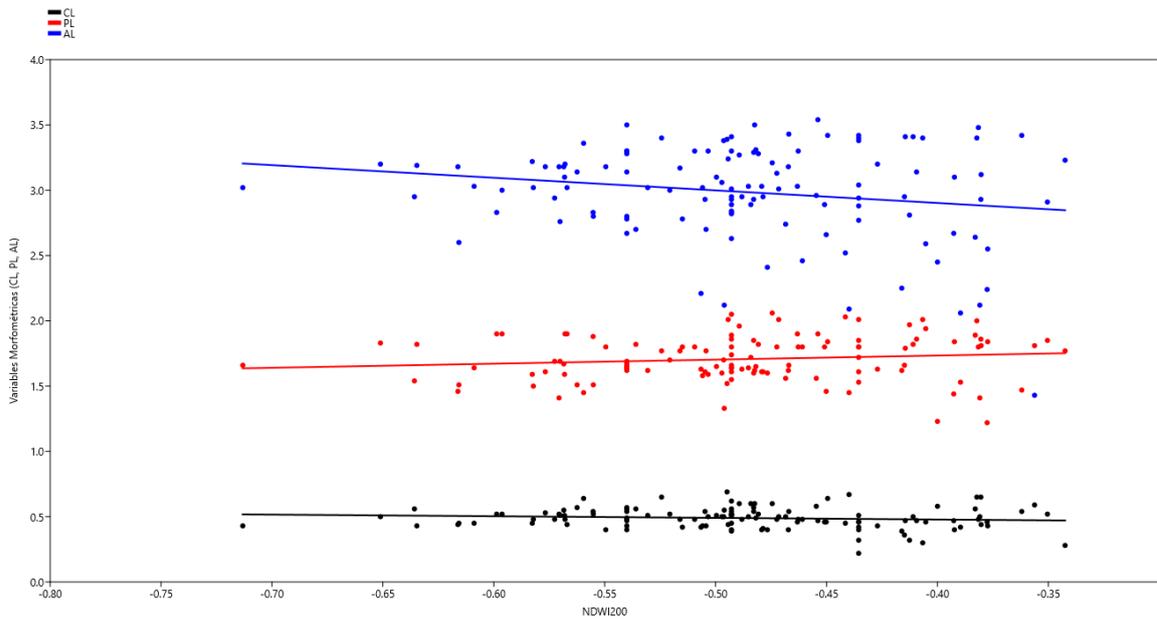
Anexo 12: Gráfico de correlación entre las variables obtenidas en el DAPC de las hembras vs el NDVI a 100 metros.



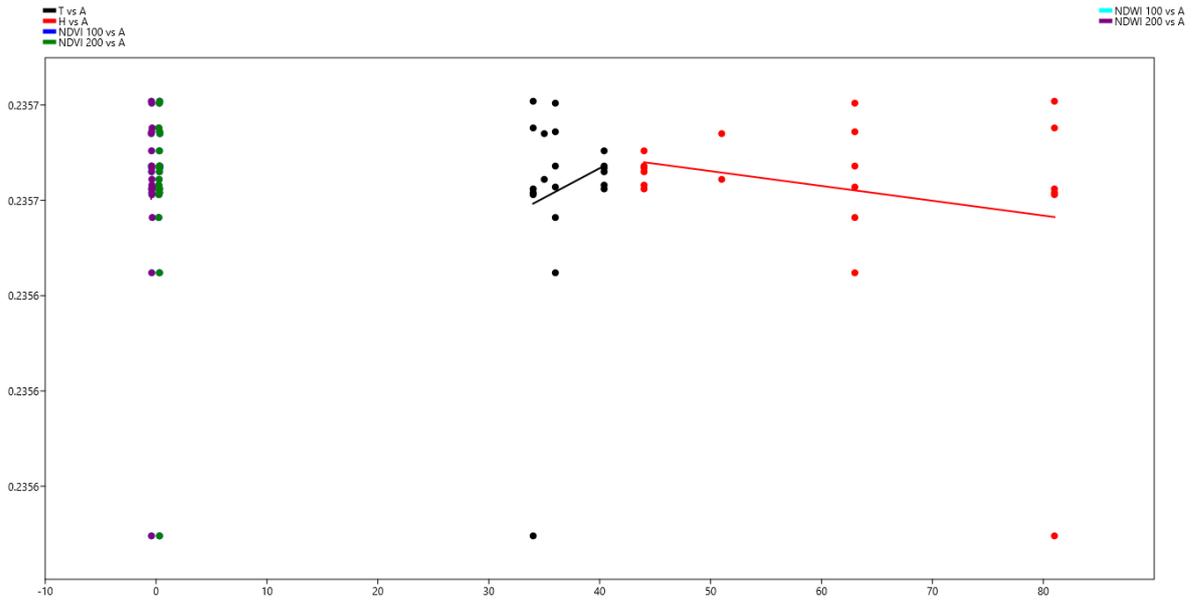
Anexo 13: Gráfico de correlación entre las variables obtenidas en el DAPC de las hembras vs el NDVI a 200 metros.



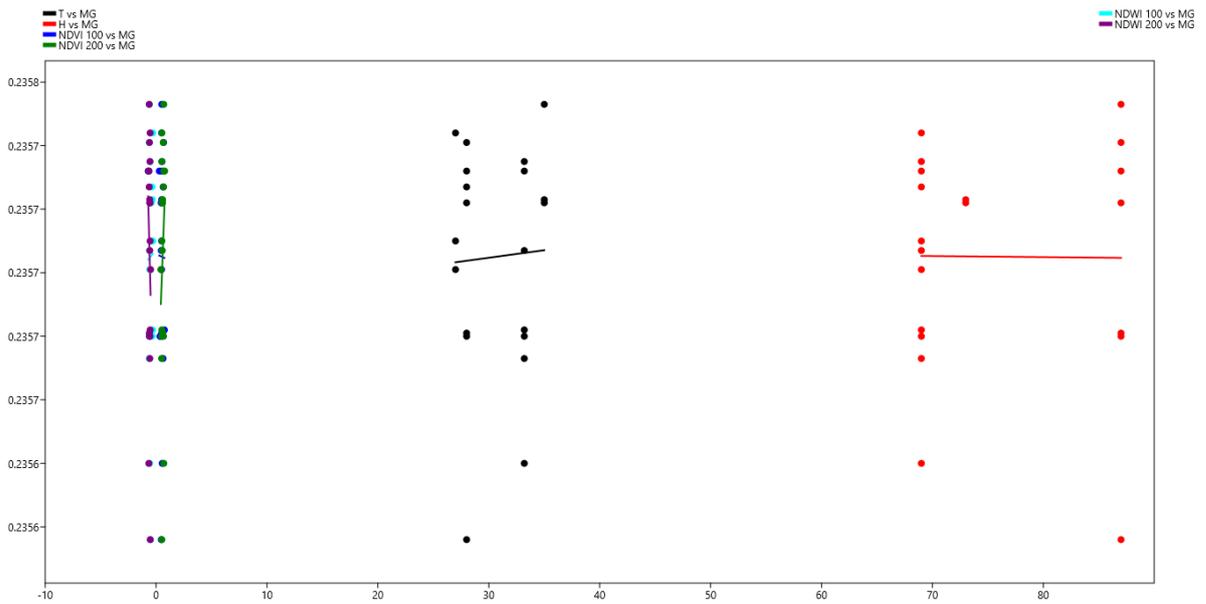
Anexo 14: Gráfico de correlación entre las variables obtenidas en el DAPC de las hembras vs el NDWI a 100 metros



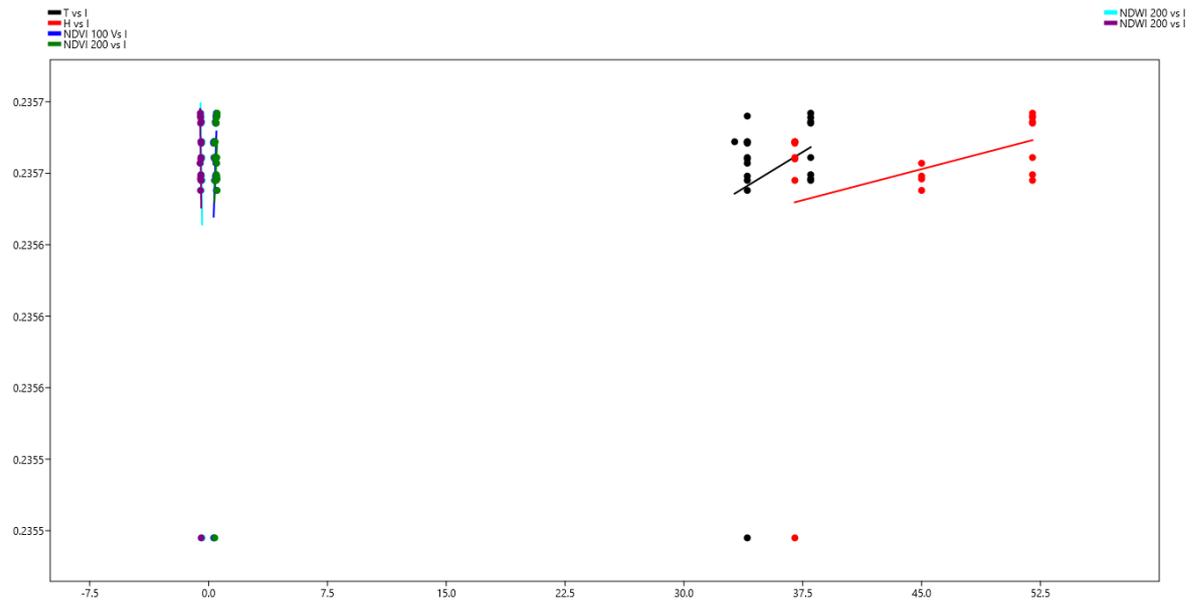
Anexo 15: Gráfico de correlación entre las variables obtenidas en el DAPC de las hembras vs el NDWI a 200 metros



Anexo 16: Gráfico de correlación entre las alas izquierdas de las hembras de Asunción vs las variables ambientales.



Anexo 17: Gráfico de correlación entre las alas izquierdas de las hembras de Minga Guazu vs las variables ambientales.



Anexo 18: Gráfico de correlación entre las alas izquierdas de las hembras de CDE vs las variables ambientales.

CONTRATAPA



Con el apoyo de:



La maestría “Gestión de Riesgo de Desastre y Adaptación al Cambio Climático” es cofinanciada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología - CONACYT con recursos del FEEI.