

## ANÁLISIS CROMÁTICO Y MORFOMÉTRICO DE *Triatoma mexicana* Herrich-Schaeffer, 1848 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) MEDIANTE PROCESAMIENTO DE IMÁGENES Y DISTRIBUCIÓN DE PROBABILIDADES

Marisol Serrano-Rodríguez<sup>1</sup>, Nancy Rivas<sup>2</sup>, Ricardo Alejandro-Aguilar<sup>2</sup>, Vanessa Cuatepotzo-Jiménez<sup>3</sup> y Daniel Robles-Camarillo<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup>Universidad Politécnica de Pachuca, Carretera Pachuca - Cd. Sahagún km 20 Ex-Hacienda de Santa Bárbara, CP 43830, Zempoala Hidalgo, México.

<sup>2</sup>Laboratorio de Entomología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Miguel Hidalgo, Santo Tomás, CP 11340, Ciudad de México, México.

<sup>3</sup>Laboratorio Estatal de Salud Pública de Hidalgo, Blvd. Luis Donaldo Colosio s/n, Parque de Poblamiento, CP 42088, Pachuca de Soto Hidalgo, México

✉ Autor de correspondencia: [danielrc@upp.edu.mx](mailto:danielrc@upp.edu.mx)

**RESUMEN.** *Triatoma mexicana* (Herrich-Schaeffer, 1848) ha sido reportado en cuatro estados de la república mexicana: Querétaro, Guanajuato, Hidalgo y San Luis Potosí; es un vector de importancia epidemiológica debido a que es transmisor natural del parásito flagelado *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la enfermedad de Chagas. La identificación de *T. mexicana* se realiza por personal experto con base en la clave entomológica, que únicamente toma como referencia la característica de los ángulos humerales agudos para afirmar la especie. Sin embargo, basados en colectas realizadas en las distintas poblaciones de *T. mexicana*, se han evidenciado la presencia de variaciones morfológicas y cromáticas de esta especie que varían dependiendo de la región geográfica de colecta. En el presente trabajo se han aplicado técnicas de procesamiento de imagen para caracterizar a *T. mexicana* con base en sus diferencias cromáticas y morfométricas para demostrar que hay una variación marcada entre las poblaciones de esta especie que podría indicar la presencia de subespecies. Analizando con distribuciones de probabilidad ( $P < 0.05$ ) es posible cuantificar tres características métricas de la cabeza y tres parámetros de color del conxivo, que explican la separación numérica de al menos dos clases diferentes entre organismos identificados como *T. mexicana*.

**Palabras clave:** *Triatoma mexicana*, procesamiento de imágenes, análisis de probabilidad.

### Chromatic and morphometric analysis of *Triatoma mexicana* Herrich-Schaeffer, 1848 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) through image processing and probability distribution

**ABSTRACT.** *Triatoma mexicana* (Herrich-Schaeffer, 1848) has been reported in four states of the Mexican Republic: Querétaro, Guanajuato, Hidalgo and San Luis Potosí; it is a vector of epidemiological importance because it is a natural transmitter of the flagellated parasite, *Trypanosoma cruzi*, the etiological agent of Chagas disease. The identification of *T. mexicana* is carried out by expert personnel using the entomological key, which only takes as a reference the characteristic of acute humeral angles to affirm the species. However, collections done in different locations of *T. mexicana*, shown the presence of morphological and chromatic variations between organisms of this species that vary depending on the geographical region of collection. In the present work, image processing techniques are used to characterize *T. mexicana* based on their chromatic and morphometric differences to demonstrate the existence of variations among the populations of this species that could indicate the presence of subspecies. Analyzing with probability distributions ( $P < 0.05$ ) makes it is possible to quantify three metric characteristics on the head and three connexivum color parameters, which explains the numerical separation of at least two different classes among organisms identified as *T. mexicana*.

**Keywords:** *Triatoma mexicana*, image processing, probability analysis.

## INTRODUCCIÓN

En México se han descrito 32 especies de triatominos, transmisores naturales de *Trypanosoma cruzi* (Galvão *et al.*, 2003).

*Tritoma mexicana* es considerado un vector de importancia epidemiológica en México, debido a que se le ha encontrado colonizando la vivienda humana y el peridomicilio en diversas localidades (Martínez-Ibarra *et al.*, 2008).

La correcta identificación de los triatominos es necesaria para la vigilancia entomológica y debe ser realizada por personal altamente capacitado y se basa en los caracteres establecidos en la clave de identificación de Lent y Wigodinsky (1979). En ésta clave, la única característica para identificar a *T. mexicana*, son los ángulos humerales agudos que se encuentran en el pronoto, igualmente describe que las hembras de la especie cuentan con los mismos patrones de coloración que los machos, con la diferencia de que las hembras tienen el abdomen más ancho.

La microscopía electrónica de barrido constituye una herramienta taxonómica importante, permitiendo el análisis de estructuras informativas para la diferenciación de triatominos, siendo utilizado en seis especies del género *Meccus* (Hemiptera: Triatominae) y en otras especies del género *Triatoma*, incluyendo a *T. mexicana*, este estudio demostró el valor taxonómico de la morfología y morfometría del escutelo, proponiendo a esta estructura como otra característica objetiva para la identificación de las diferentes especies de triatominos, siendo útil incluso entre subespecies como las de *T. protracta* (Rivas *et al.*, 2014; 2017).

En otro estudio (de la Rúa *et al.* 2014) analizó la correlación entre la región geográfica de colecta y las diferencias métricas de caracteres de la cabeza para *Triatoma dimidiata*, estas medidas permiten diferenciar ejemplares dependiendo de las distintas regiones de colecta y han servido para clasificar las diferentes variantes morfológicas de los organismos colectados.

Basados en colectas de *T. mexicana* en algunos municipios de los estados de Hidalgo, Guanajuato y Querétaro, se ha observado la existencia de variaciones morfológicas y cromáticas dependientes de la zona geográfica de colecta. Por tanto, el objetivo del presente estudio es diseñar nuevos métodos que permitan generar patrones cuantitativos que faciliten diferenciar las poblaciones de *T. mexicana* utilizando el color y los caracteres métricos de la cabeza mediante el procesamiento de imágenes. La figura 1 muestra la comparativa de tres organismos colectados en tres regiones geográficas diferentes.



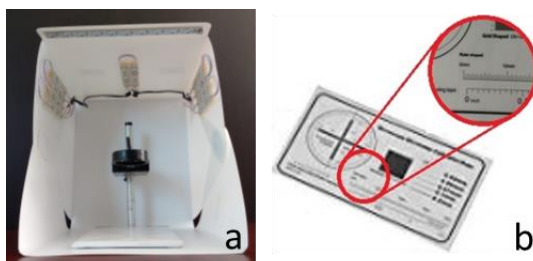
**Figura 1.** Fotografías de organismos de *T. mexicana* con evidentes variaciones cromáticas, colectadas en los estados de: a) Guanajuato-Querétaro, b) Hidalgo-occidente e c) Hidalgo-centro

## MATERIALES Y MÉTODO

Para el desarrollo de la presente investigación se contó con una colección entomológica propia del Laboratorio de Entomología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, del Instituto Politécnico Nacional. La captura de imágenes digitales se realizó bajo condiciones controladas de iluminación con una cámara dual de 20 megapíxeles monocromática y 12 megapíxeles RGB que contiene un estabilizador de imagen con alcance óptico de 2X (Zhang and Yang 2004). El tratamiento digital de las imágenes se realizó utilizando una interfaz propia diseñada en el ambiente de Matlab® 2018, usando las librerías de adquisición y procesamiento de imagen. El análisis estadístico fue realizado con Minitab® 18, utilizando la interfaz de confiabilidad y gráficas de probabilidad múltiple por grupos.

**La colección entomológica.** La colección analizada consta de 61 adultos identificados de *T. mexicana*, montados en alfileres sobre poliuretano blanco. Los ejemplares fueron ubicados en tres grupos de municipios que están separados de forma natural por barreras físicas: **Grupo 1** Hidalgo-centro (14 ejemplares de Eloxochitlán-Metzitlán), **Grupo 2** Guanajuato-Querétaro (17 ejemplares de Tierra Blanca-Peña Miller), **Grupo 3** Hidalgo-occidente (30 ejemplares de Zimapán-Tecozautla).

**Captura de imágenes.** Además de la cámara, se usó una caja plegable de polipropileno color blanco con dimensiones: 0.22 m x 0.23 m x 0.24 m, como estudio fotográfico portátil. Sobre las paredes al interior de la caja se instaló un módulo de lámparas LED ultrabrillante blanco de entre 10 y 15 lúmenes modelo MLM-5050WH, el montaje descrito se aprecia en la figura 2 a). La referencia de distancia se realizó con una regleta transparente flexible para microscopio, como se muestra en la figura 2 b). Se obtuvieron 61 fotografías de ejemplares adultos de la colección de *T. mexicana*.

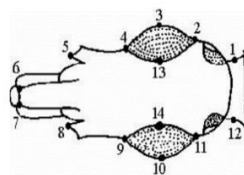


**Figura 2.** a) Estudio portátil para la captura, b) Regleta graduada de referencia

**Cálculo de distancias en las imágenes.** La ecuación de la distancia euclidiana, mostrada en la ecuación (1) fue aplicada para obtener dos puntos sobre la imagen en el entorno de Matlab, la distancia es convertida de pixeles a milímetros usando la graduación de la referencia.

$$D_e(P_1, P_2) = \sqrt{(x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2} \quad (1)$$

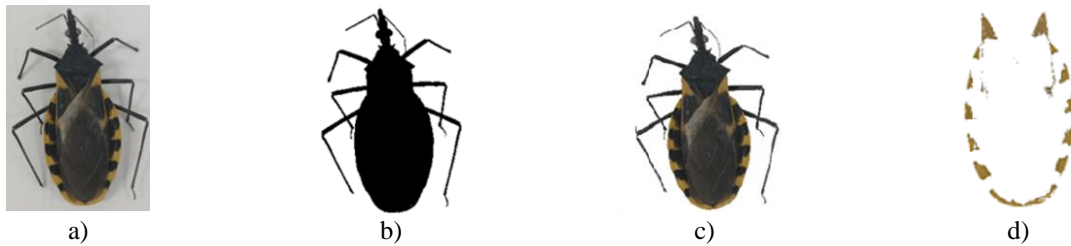
Dónde:  $P_1$  y  $P_2$  son los puntos de coordenadas cartesianas  $(x_1, y_1)$  y  $(x_2, y_2)$  dentro de la imagen respectivamente. De esta forma se obtienen cinco medidas de la cabeza como se describe en el pie de la siguiente figura.



**Figura 3.** Puntos de referencia para métricas de la cabeza de triatominos: 7-8 clípeo, 13-14 sintlipsis, 3-10 Distancia de los ojos, 1-2 Distancia postocular, 4-6 Distancia anteocular (Monroy et al. 2009).

**Extracción del color en las marcas del conexivo.** La imagen original mostrada en la figura 4 a), se binariza aplicando el método de Otsu (Nobuyuki, O. 1979), con la finalidad de obtener el fondo blanco, como se muestra en la figura 4 b), posteriormente se mezcla la imagen original con la binaria para preservar los detalles del organismo obteniendo la imagen de la figura 4 c), en esta imagen se ubican ocho puntos sobre las marcas de color del conexivo y se establece un rango característico para cada canal en el mapa de color RGB, necesario para filtrar colores con diferente mapa, como se muestra en la figura 4 d). El filtro de color se establece con la condición mostrada en la ecuación (2).

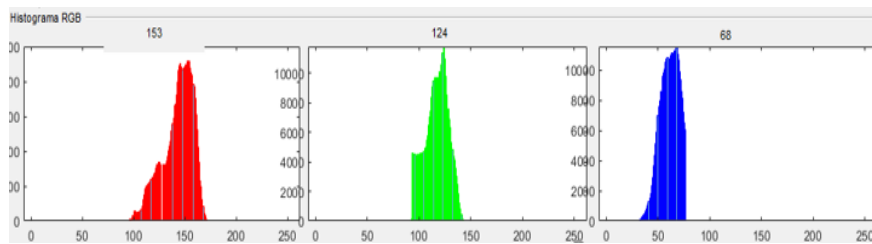
$$\text{sí } R < R_{min} \ \& \ G < G_{min} \ \& \ B > B_{max} = 255 \quad (2)$$



**Figura 4.** a) Imagen original capturada desde la colección, b) Imagen binarizada por el método de Otsu, c) Composición aplicada para filtrar el fondo de la imagen, preservando las características del organismo, d) Imagen filtrada que preserva únicamente los colores de las marcas del conexivo.

Con la imagen filtrada de la figura 4 d), se puede calcular el área de las marcas del conexivo contando los píxeles distintos de blanco, igualmente se calcula el histograma de color de las marcas como se ve en la figura 5, del histograma se calcula el color más alto del mapa RGB ( $R_{max}, G_{max}, B_{max}$ ), con este valor se puede calcular la distancia de color con la ecuación (3) y con estos mismos valores el color promedio de los tres canales en RGB, para las marcas del conexivo de cada organismo.

$$D_c(R_{max}, G_{max}, B_{max}) = \sqrt{(R_{max})^2 + (G_{max})^2 + (B_{max})^2} \tag{3}$$



**Figura 3.** Histograma del mapa de color RGB para las marcas de un organismo.

**Análisis de los datos.** Cada característica obtenida de las métricas de la cabeza y color siguen una distribución de datos diferente, por lo que las características son sometidas a un análisis de distribución de fiabilidad utilizando una prueba de bondad de ajuste Anderson Darling, que permite determinar qué distribución agrupa con menor índice de ajuste a los datos con un valor  $P$  mayor al nivel de significancia del 0.05, realizando las pruebas con cuatro modelos de distribución de fiabilidad comunes para examinar el ajuste de distribución (Minitab® 2017). Las funciones de densidad de probabilidad aplicadas se muestran en el cuadro 1. Los resultados del análisis con menor índice de ajuste se enlistan en el cuadro 2.

**Cuadro 1.** Modelos para las distribuciones de probabilidad aplicados, con menor índice de ajuste.

Función de densidad de probabilidad	Parámetros	Notación
$f(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi} \sigma(x - \lambda)} \exp\left\{-\frac{[\ln(x - \lambda) - \mu]^2}{2\sigma^2}\right\}$ $x > \lambda, \sigma > 0$	Distribución Lognormal Media = $\exp(\mu + 0.5\sigma^2) + \lambda$ Varianza = $\exp(2\mu + \sigma^2)(\exp(\sigma^2) - 1)$	$\mu$ parámetro de ubicación $\sigma$ parámetro de escala $\lambda$ parámetro de valor umbral $\pi$ PI (~3.1416)
$f(x) = \frac{\exp(-\frac{x - \mu}{\sigma})}{\sigma[1 + \exp(-\frac{x - \mu}{\sigma})]^2}$ $-\infty < x < \infty, -\infty < \mu < \infty, \sigma > 0$	Distribución Logística Media = $\mu$ Varianza = $\frac{\sigma^2 \pi^2}{3}$	$\mu$ parámetro de ubicación $\sigma$ parámetro de escala

**Cuadro 1.** Continuación.

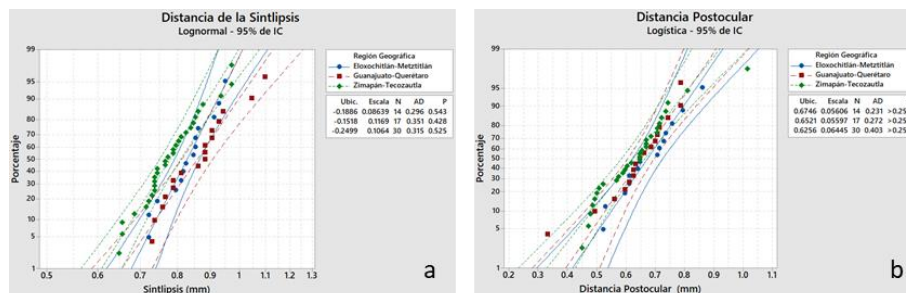
Función de densidad de probabilidad	Parámetros	Notación
$f(x) = \frac{1 \exp\left(-\frac{\ln(x-\lambda)-\mu}{\sigma}\right)}{\sigma(x-\lambda) \left[1 + \exp\left(-\frac{\ln(x-\lambda)-\mu}{\sigma}\right)\right]^2},$ $x > \lambda, \sigma > 0$	Distribución Loglogística cuando $\sigma < 1$ Media = $\exp(\mu)(\Gamma(1+\sigma)\Gamma(1-\sigma) + \lambda)$ cuando $\sigma < 1/2$ Varianza = $\exp(2\mu)(\Gamma(1+2\sigma)\Gamma(1-2\sigma) - \Gamma^2(1+\sigma)\Gamma^2(1-\sigma))$	$\mu$ parámetro de ubicación $\sigma$ parámetro de escala $\lambda$ parámetro de valor umbral $\Gamma$ función gamma exp base de logaritmo natural
$f(x) = \frac{1 \exp\left(\frac{x-\xi}{\theta}\right) \exp\left\{-\exp\left[\frac{x-\xi}{\theta}\right]\right\}}{\theta}, \theta > 0$	Distribución valor extremo pequeño Media = $\xi - v\theta$ Varianza = $\frac{\pi^2\theta^2}{6}$	$\xi$ parámetro de ubicación $\theta$ parámetro de escala $v$ constante de Euler (~0.57722) exp base de logaritmo natural

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Las características métricas de la distancia de la sintlipsis y postocular mostradas en la figura 6, muestran que estas dos características se combinan entre los grupos haciendo notar que las poblaciones prácticamente no tienen diferencia en estos parámetros. La métrica de la sintlipsis de la figura 6 a) para el grupo 2 se separa numéricamente del grupo 3, pero también presenta similitud numérica con los datos del grupo 1.

**Cuadro 2.** Distribuciones de probabilidad aplicadas a cada parámetro, con el menor índice de ajuste.

Evaluación de distribuciones		
Parámetro analizado	Distribución	Ajuste Anderson-Darling
Clípeo	Lognormal	0.638
Sintlipsis	Lognormal	0.542
Distancia ojos	Logística	0.490
Distancia postocular	Logística	0.486
Distancia anteocular	Logística	0.584
Área de marcas de color (conexivo)	Loglogística	0.698
Color promedio RGB	Valor extremo pequeño	1.211
Distancia de color RGB	Valor extremo pequeño	1.294



**Figura 4.** a) Distancia de sintlipsis representada por grupos, b) Distancia postocular que no demuestra separación numérica entre los organismos analizados

En la figura 7 a) la distancia del clípeo para el grupo 1 se encuentra numéricamente separada del mismo parámetro de las dos clases restantes, mientras que en la figura 7 b) la distancia de los ojos para los organismos de las clases 2 y 3, no presentan diferencia numérica significativa entre sí, pero una separación numérica discreta contra los organismos del grupo 1 en este parámetro.



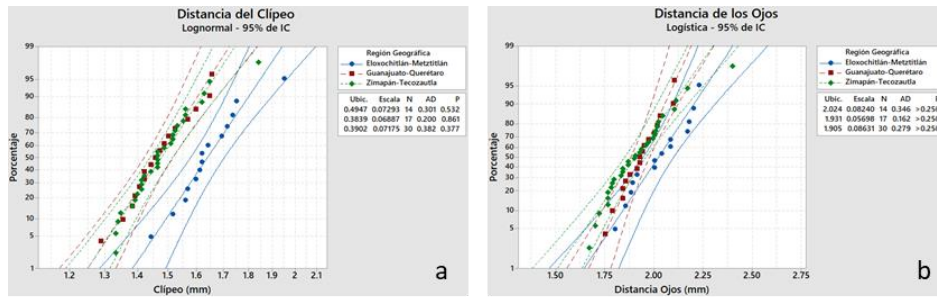


Figura 7. a) Distancia del clípeo y b) Distancia de los ojos

En la figura 8 a) se puede notar que la distancia anteocular tiene una distribución similar a la descrita para la de la figura 7 a), los organismos del grupo 1 muestran una evidente separación numérica a diferencia de los grupos restantes. En la figura 8 b), se puede apreciar que el área de las marcas de color del conexivo es mayor entre organismos del grupo 1 y cada grupo de organismos parece mantener una distribución constante en este parámetro, lo que permite visualizar una separación numérica entre grupos considerando dicho parámetro.

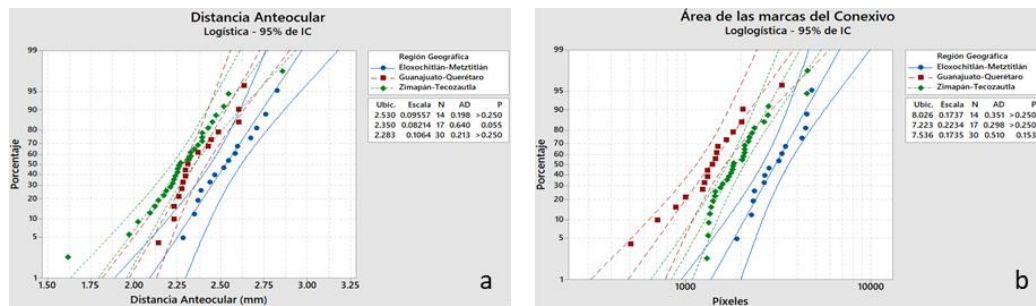


Figura 5. a) Gráfica de la distribución de la distancia anteocular, b) Separación de grupos mediante el área de las marcas de color en el conexivo

El análisis de color mostrado en las gráficas de la figura 9 a) muestran diferencias numéricas en el promedio del mapa de color de las marcas del conexivo para los tres grupos, igualmente sucede al analizar la distancia de color del mismo mapa en la figura 9 b), lo que indica que existe relación entre el color de dichas marcas respecto de cada región geográfica de colecta en las poblaciones estudiadas de *T. mexicana*.

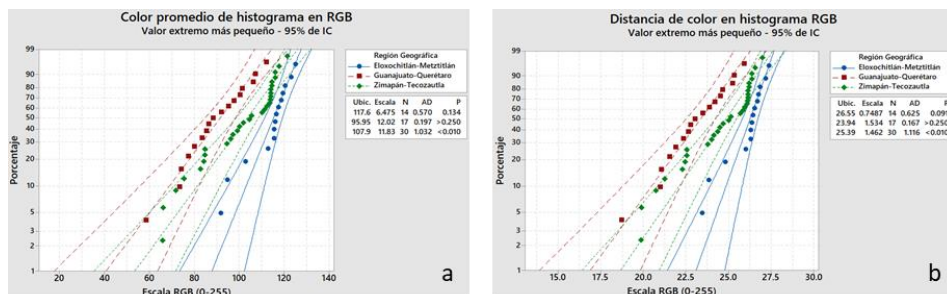


Figura 9. a) Análisis de distribución para el mapa de color de las marcas del conexivo, b) análisis de distribución sobre la distancia de color para las marcas del conexivo

## CONCLUSIONES

Con los resultados aquí presentados, se han podido establecer patrones cuantitativos de identificación que respaldan una variación cromática y morfométrica clara entre las poblaciones de *T. mexicana*, particularmente para los organismos colectados en los municipios colindantes de Eloxochitlán y Metztlán en el estado de Hidalgo, México. Sin embargo, aunque numéricamente se han podido establecer diferencias cuantitativas de distribución probabilística, basadas en los parámetros analizados en los organismos de *T. mexicana* provenientes de diferentes regiones geográficas de México, estos resultados no son concluyentes debido a que el tamaño de la muestra es de apenas 61 ejemplares.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores del presente trabajo agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, México) por su apoyo para la realización de esta investigación a través de la beca nacional número: 638283. Igualmente, a Brianna Morin de Peace Corps, Washington DC, por su apoyo en la revisión del idioma inglés.

## LITERATURA CITADA

- de la Rúa, N. M., Bustamante, D. M., Menes, M., Stevens, L., Monroy, C., Kilpatrick, Kilpatrick, C.W., Rizzo, D., Klotz, S.A., Schmidt, J., Axen, H.J and Dorn, P. L. 2014. Towards a phylogenetic approach to the composition of species complexes in the North and Central American *Triatoma*, vectors of Chagas disease. *Infection, Genetics and Evolution*, 24, 157–166.
- Galvão, C., R.U. Carcavallo, D. Rocha da Silva, and J. Jurberg. 2003. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatiominae Jeannel, 1919 (Hemiptera: Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. *Zootaxa*, 202, 1-36.
- Lent, H., and Wygodzinsky, P. (1979). Revision of the Triatiominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 163, 123–520.
- Martínez-Ibarra A., Salazar-Schettino P., Solorio-Cibrián M., Cabrera- Bravo M., Novelo-López M., Vences M., Montes-Ochoa Y., Nogueada-Torres B. (2008). Influence of temperature and humidity on the biology of *Triatoma mexicana* (Hemiptera: Reduviidae: Triatiominae) under laboratory conditions. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 103, 719-723.
- Minitab® (2017). Introducción a Minitab. [www.minitab.com](http://www.minitab.com) Fecha de consulta: 10-III-2019.
- Monroy, C., Pinto, N., Dujardin, J. P., Bustamante, D. M., Guhl, F., Rojas, G., Menes, M. 2009. Metric Variation Among Geographic Populations of the Chagas Vector *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae: Triatiominae) and Related Species. *Journal of Medical Entomology*, 41(3), 296–301.
- Nobuyuki, O. (1979). A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, 9(1), 62–66.
- Rivas N., M. E. Sánchez-Espíndola, A.D. Camacho, E. Ramírez-Moreno, A. Rocha-Gómez and R. Alejandro-Aguilar. 2014. Morphology and morphometry of the scutellum of six species in the genus *Meccus* (Hemiptera: Triatiominae). *J. Vector Ecol*, 39, 14-20.
- Rivas, N., Sánchez-Cordero, V., Camacho, A. D., Córdoba-Aguilar, A., and Alejandro-Aguilar, R. (2017). Morphological and morphometric analysis of scutella of six species and two subspecies of *Triatoma* (Hemiptera: Reduviidae) in Mexico. *Journal of Vector Ecology*, 42(2), 308–318.
- Zhang, X., & Yang, F. (2004). Manual del Usuario Cámara Digital. *RCLimDex (1.0) Manual Del Usuario*, 1–22.