

Simposio

**ECOLOGÍA SENSORIAL DE INSECTOS  
VECTORES****Ecología sensorial de insectos vectores**

Claudio R. Lazzari

Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, Faculté des Sciences, Université François  
Rabelais, Tours, Francia

La sangre de los vertebrados es un alimento muy rico en nutrientes y, salvo por la presencia eventual de parásitos, es además estéril. Muchos insectos la han adoptado como alimento principal o incluso único durante toda su vida. Sin embargo, la sangre no se encuentra a libre disposición en el ambiente, ni su obtención está desprovista de riesgo. Ella circula en el interior de vasos sanguíneos ocultos bajo la piel de animales móviles y capaces de defenderse que, incluso, pueden llegar a alimentarse del insecto que intenta picarlos. Para poder obtener y aprovechar la sangre de vertebrados homeotermos son necesarias importantes adaptaciones morfológicas, fisiológicas y de comportamiento, que representan la respuesta a fuertes presiones de selección que han modelado la biología de los insectos vectores de enfermedades.

Compartir hábitat con los huéspedes y predadores, identificar y localizar una fuente potencial de alimento, acercarse a ella en el momento oportuno, localizar los vasos sanguíneos ocultos bajo la piel, perforar la piel y succionar sangre sin ser detectado, ingerir rápidamente una gran cantidad de sangre caliente, protegerse del poder oxidante de ésta y evitar todo contacto innecesario con los huéspedes son algunos de los problemas asociados al modo de vida hematófago. La presencia de parásitos en la sangre del huésped vertebrado agrega el problema adicional de neutralizar los efectos deletéreos derivados de su entrada en el cuerpo del insecto.

La resolución adecuada de algunos de los problemas asociados a la alimentación sanguínea depende específicamente de la manera en que los hematófagos obtienen y utilizan la información proveniente del medio ambiente, es decir, de su ecología sensorial.

Un esfuerzo importante de investigación se consagra desde hace mucho tiempo a la comprensión de las señales asociadas a los huéspedes que

permiten a los insectos localizar su alimento. Dicho conocimiento podría ayudar entender cuestiones clave del tipo: ¿cómo reconocen los insectos hematófagos a un huésped adecuado?, ¿por qué ciertas personas son más picadas que otras?, ¿cómo localizan los vasos sanguíneos bajo la piel?, ¿es posible desarrollar cebos y trampas tan atractivos como un huésped vivo?

Mucho se ha avanzado en la identificación de los olores atractivos producidos por los vertebrados de sangre caliente, pero mucho menos en el rol de otras claves, como el calor, el vapor de agua y las señales visuales (forma, contraste, color, movimiento) que forman parte de integral de la información potencial que los insectos son capaces de percibir y utilizar. Menos aun de la manera como las distintas señales son integradas por el insecto al servicio de detectar y reconocer un huésped adecuado. Afortunadamente, diversos estudios recientes comienzan a desvelar la manera en que las distintas señales del huésped interactúan entre sí y con los factores endógenos y motivacionales.

**Sinergismo unimodal**

La respuesta a los estímulos químicos individuales ha sido caracterizada en muchos insectos hematófagos y en muchos casos se determinaron los umbrales de sensibilidad. Tales respuestas y umbrales corresponden a situaciones controladas en las que los estímulos son presentados uno a uno, lo que representa una situación empobrecida respecto a un huésped vertebrado, en el que las diversas señales emanadas de éste se presentan combinadas simultáneamente. El análisis de la respuesta a los estímulos químicos combinados muestra, sin embargo, importantes diferencias de sensibilidad. En efecto, la presentación de muy bajas concentraciones de dióxido de carbono, combinado con ácido láctico y ácidos grasos, constituye una mezcla tan atractiva como un

huésped vivo (Barrozo y Lazzari, 2004), mientras que cada uno de los componentes no es capaz de provocar ninguna respuesta de comportamiento. Vemos, entonces, que los umbrales de sensibilidad del comportamiento dependen de la forma de presentación de los estímulos.

### **Convergencia multimodal**

Como hemos dicho anteriormente, un huésped vivo es una fuente de numerosas señales de modalidad diferente. No sólo las señales de una misma modalidad interactúan para desencadenar un comportamiento determinado, como en el caso de los olores, sino que tales interacciones también tienen lugar entre estímulos de modalidad diferente. En triatominos, la convergencia multimodal de señales se observa en diversas situaciones. Por ejemplo, la combinación de calor y vapor de agua provoca respuestas más fuertes que la simple adición de las respuestas a los estímulos individuales (Barrozo, *et al.*, 2003). La integración entre los estímulos térmicos y los propioceptivos es necesaria para la estimación del tamaño y la temperatura de objetos distantes (Lazzari, 2009, 2012), lo que permite responder de manera específica a la temperatura de un huésped. La convergencia multimodal ha sido recientemente explotada en un cebo artificial basado en la combinación de dióxido de carbono, sustancias volátiles, calor y humedad, con resultados alentadores de captura en condiciones de laboratorio y de campo (Ryelandt, *et al.*, 2011).

### **Modulación circadiana**

El comportamiento de los hematófagos, en particular el de aquellos que viven en estrecha asociación con sus huéspedes, como los triatominos, está organizado en el tiempo de manera muy precisa, para minimizar riesgos y optimizar las probabilidades de alimentarse exitosamente. El control de la actividad rítmica reposa sobre relojes circadianos endógenos (Lazzari, 1992), que modulan diversos procesos, incluidos la sensibilidad sensorial (Barrozo, *et al.*, 2004; Reisenman, *et al.*, 2002). De esta manera, los insectos se vuelven más sensibles en los momentos del día en que un estímulo determinado es importante. Por ejemplo, los triatominos son sensibles al dióxido de carbono únicamente al comienzo de la noche, cuando salen de sus refugios para alimentarse y a las feromonas de agregación al amanecer, cuando regresan a sus refugios (Bodin, *et al.*, 2008).

### **Dependencia de estado**

La respuesta de los hematófagos a los estímulos del huésped está fuertemente modulada por el

estado fisiológico de los insectos. La relación entre alimentación y reproducción ha sido bien analizada en mosquitos, en los que los ciclos gonadotróficos (Klowden, 1995) hacen que las hembras pierdan sensibilidad a ciertos olores del huésped cuando no están motivadas para alimentarse. En el caso de insectos como los triatominos, que viven en estrecha asociación con sus huéspedes la pérdida de sensibilidad no representa una respuesta adaptativa, ya que no es suficiente con no acercarse a los huéspedes, sino que es importante evitarlos. Recientemente se ha demostrado que la respuesta al dióxido de carbono, uno de los compuestos emanados masivamente por la respiración de los huéspedes, es de atracción o de repulsión, según el estado nutricional y de reproducción del insecto (Bodin, *et al.*, 2009). Es decir, el animal no modifica su sensibilidad, sino el signo de la respuesta a un estímulo del huésped, para evocar la respuesta más adaptativa basada en el uso de la misma información.

### **Aprendizaje y memoria**

La capacidad cognitiva de los insectos vectores, y en particular la habilidad de reconocer y evitar aquellos más defensivos, ha sido señalada como un elemento de gran importancia epidemiológica, en cuanto que influiría la distribución heterogénea de parásitos en una población de huéspedes. A pesar de su importancia y de los esfuerzos realizados, la gran mayoría de los estudios experimentales ha fallado en demostrar la eventual capacidad de los insectos hematófagos de aprender y memorizar informaciones relativas a sus huéspedes (Alonso, *et al.* 2006). Experimentos recientes en triatominos muestran que la respuesta a un mismo olor puede ser atractiva o repelente, en función de si previamente dicho olor fue asociado a alimento o a un castigo, respectivamente. Del mismo modo, las chinches son capaces de modificar su elección frente a huéspedes distintos, en función de la experiencia individual del insecto (Vinauger, *et al.*, 2011).

### **Uso parsimonioso de la información sensorial**

Los estudios de ecología química de triatominos han demostrado la presencia repetida de los mismos compuestos en diversas feromonas y en los olores del huésped. Las feromonas de alarma, de agregación y sexuales están formadas por mezclas complejas de componentes y no por un tipo o dos de moléculas específicas. La superposición de composiciones de señales químicas con distinta funcionalidad biológica sugiere que estos insectos

hacen un uso parsimonioso de la información sensorial para reconocer determinadas situaciones y recursos, antes que basarse en componentes específicos. Esto representa una economía importante en términos de elementos sensoriales, ya que los mismos receptores pueden intervenir en distintos contextos y son un ejemplo más de la importancia de la integración de la información. Por ejemplo, un dado compuesto no evocaría una respuesta de comportamiento unívoca, sino que tendría para el insecto una significación biológica diferente en función del contexto (i. e., otras señales).

### Conclusiones

El estudio de la ecología sensorial de los insectos hematófagos se ha basado clásicamente en el análisis de la respuesta de los mismos frente a estímulos aislados. Este tipo de análisis debe continuar ya que estamos lejos de contar con una cartografía sensorial completa o con una comprensión detallada del universo perceptual de alguna especie de vector. Como hemos visto en las secciones precedentes, este nivel de análisis sólo concierne la etapa más baja de tratamiento de la información. Para comprender las capacidades reales de los hematófagos de localizar e identificar los recursos indispensables para su supervivencia, en particular sus huéspedes, es necesario, además, analizar un nivel de complejidad superior, el de las múltiples interacciones entre señales exógenas, estados motivacionales y experiencia individual.

### Referencias

1. Alonso WJ, Schuck-Paim C. The "ghosts" that pester studies on learning in mosquitoes: guidelines to chase them off. *Med Vet Entomol.* 2006;20:157-65.
2. Barrozo RB, Lazzari CR. Orientation behaviour of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* to short-chain fatty acids: synergistic effect of L-lactic acid and carbon dioxide. *Chem Senses.* 2004;29:833-41.
3. Barrozo RB, Manrique G, Lazzari CR. The role of water vapour in the orientation behaviour of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae). *J Insect Physiol.* 2003;49:315-21.
4. Barrozo RB, Minoli SA, Lazzari CR. Circadian rhythm of behavioural responsiveness to carbon dioxide in the blood-sucking bug *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae). *J Insect Physiol.* 2004;50:249-54.
5. Bodin A, Barrozo RB, Couton L, Lazzari CR. Temporal modulation and adaptive control of the behavioural response to odours in *Rhodnius prolixus*. *J Insect Physiol.* 2008;54:1343-8.
6. Bodin A, Vinauger C, Lazzari CR. State-dependency of host-seeking in *Rhodnius prolixus*: The post-ecdysis time. *J Insect Physiol.* 2009;55:574-9.
7. Klowden MJ. Blood, sex, and the mosquito - the mechanisms that control mosquito blood-feeding behavior. *Bioscience.* 1995;45:326-31.
8. Lazzari CR. Circadian organization of locomotion activity in the hematophagous bug *Triatoma infestans*. *J Insect Physiol.* 1992;38:895-903.
9. Lazzari CR. Orientation towards hosts in haematophagous insects: an integrative perspective. *Adv Insect Physiol.* 2009;37:1-58.
10. Lazzari CR. Behavioural biology of vectors of Chagas disease. *Ann Rev Entomol.* 2012, in press.
11. Reisenman CE, Insausti TC, Lazzari CR. Light-induced and circadian changes in the compound eye of the haematophagous bug *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *J Exp Biol.* 2002;205:201-10.
12. Ryelandt J, Noireau F, Lazzari CR. A multimodal bait for trapping blood-sucking arthropods. *Acta Trop.* 2011;117:131-6.
13. Vinauger C, Buratti L, Lazzari CR. Learning the way to blood: first evidence of dual olfactory conditioning in a blood-sucking insect, *Rhodnius prolixus*. *J Exp Biol.* 2011, in press.



## Observaciones del comportamiento de atracción de una población de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz y Neiva) (Diptera: Psychodidae) a diferentes semioquímicos

Paula Ximena Pareja<sup>1</sup>, Martha Ahumada<sup>1</sup>, Olga Lucía Cabrera<sup>1</sup>, Jorge Alberto Molina<sup>2</sup>, Carmen Flores-Mendoza<sup>3</sup>, Gordon Hamilton<sup>4</sup>, Roxanne G. Burrus<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Entomología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Centro de Investigaciones en Microbiología y Medicina Tropical, Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> U.S. Naval Medical Research Unit No. 6, Lima, Perú

<sup>4</sup> Keele University, Keele, United Kingdom

La comunicación química de los insectos está mediada por compuestos volátiles denominados semioquímicos; éstos comprenden sustancias que

favorecen las interacciones interespecíficas conocidos como aleloquímicos y sustancias que facilitan la comunicación intraespecífica denominadas

feromonas. Dentro de los aleloquímicos encontramos las cairomonas que son compuestos químicos benéficos al receptor pero no al emisor (Takken y Knols, 1999), algunos ejemplos de ellos son el dióxido de carbono, el 1-octen-3-ol, el ácido láctico, el ácido butírico y el amonio, los cuales son producto de las reacciones metabólicas de los huéspedes y que los insectos hematófagos se han especializado en detectar para localizar la fuente de alimento sanguíneo (Gibson y Torr, 1999). Por otro lado, están las feromonas que actúan como mediadores químicos en la comunicación entre individuos de la misma especie interviniendo en comportamientos como reproducción, agregación, alarma y ovoposición (Kelly y Dye, 1997).

Los principales órganos sensoriales encargados de la detección de sustancias químicas volátiles en especies del género *Lutzomyia* son las sensilias cuticulares olfativas que están restringidas a la cabeza, particularmente en antenas y palpos (Spiegel, *et al.* 2005). En *Lutzomyia longipalpis*, las sensilias intervienen en la detección de las feromonas liberadas por los machos y las cairomonas emitidas por los vertebrados, estímulos que originan en esta especie un comportamiento de agregación. Éste se puede observar cuando los machos se juntan formando enjambres, usualmente en la vecindad de los huéspedes, con el propósito de realizar despliegues de apareamiento competitivo nocturno a los que posteriormente las hembras son atraídas por el olor del huésped, la liberación de la feromona y el rápido movimiento de las alas, aumentando la oportunidad de cópula durante la alimentación (Nigam y Ward, 1991, Hamilton y Ramsoondar, 1994).

Estudios han demostrado que *L. longipalpis* es un complejo de especies que pueden ser reconocidas por presentar diferentes fenotipos dados por el número de manchas tergaes en el macho, sonidos de cortejo (Arrivillaga, *et al.* 2003, 2009) y especificidad de las feromonas sexuales emitidas por los machos (Spiegel, *et al.* 2005). El análisis químico de los extractos de las glándulas de machos ha permitido la identificación de tres tipos de feromonas sexuales: los homosesquiterpenos ( $C_{16}H_{26}$ ) (1S,3S,7R)-3-metil- $\alpha$ -himaqueleno (3M $\alpha$ H) específica para la población de Jacobina, Brasil (Hamilton, *et al.* 1996a) y la (S)-9-metilgermacreno-B (9MGB) específica en poblaciones de Lapinha y Sobral, Brasil (Hamilton, *et al.* 1999), El Layero y Guayabita, Venezuela (Watts, *et al.* 2005), Asunción, Paraguay (Brazil, *et al.*, 2009), Honduras y Costa Rica (Hamilton, *et al.*

1996b) y el diterpeno ( $C_{20}H_{32}$ ), cembreno presente en poblaciones de Sobral, Santarem, Marajó, Natal y Morada Nova en Brasil (Hamilton, *et al.* 1994; Watts, *et al.* 2005).

Los estudios de las cairomonas como atrayentes han demostrado que el dióxido de carbono en trampas CDC con luz aumenta la captura de especies de flebotomos con comportamiento antropofílico y zoofílico (Andrade, *et al.* 2008, Nigam y Ward, 1991), y que las hembras de *L. longipalpis* pueden detectar el 1-octen-3-ol en corrientes de aire (Sant'Ana, *et al.* 2002; Andrade, *et al.* 2008). En la actualidad, mezclas comerciales de ácido láctico, ácido caproico y amonio (BG-Mesh Lure™) han sido evaluados en trampas CDC con luz en poblaciones de *L. intermedia* y *L. longipalpis* en Minas Gerais, Brasil, y se encontró un aumento en la captura de estas especies (Andrade, *et al.* 2008).

Teniendo en cuenta que se han utilizado sustancias volátiles como atrayentes para mejorar la eficiencia de los métodos de captura de flebotomos, se desarrolló el presente estudio entre el 2009 y el 2010 con el fin de evaluar en condiciones de laboratorio y de campo el efecto atrayente de la feromona sintética (S)-9-metilgermacreno-B y de algunas cairomonas sobre una población de *L. longipalpis* proveniente de la vereda El Callejón, municipio de Ricaurte, Cundinamarca.

La evaluación realizada en laboratorio entre las 18:00 y las 21:00 horas con un olfatómetro de una vía con decisión doble en "Y" permitió determinar la respuesta de hembras vírgenes  $F_1$  expuestas individualmente a diferentes concentraciones de la feromona sintética (S)-9-metilgermacreno-B y las cairomonas 1-octen-3-ol, dióxido de carbono, ácido láctico, ácido butírico, amonio, y una mezcla de estas. Entre los resultados de estos ensayos se tiene que la feromona sintética (S)-9-metilgermacreno-B fue atractiva a concentraciones de 3,7 % ( $p=0,00053$ ) y 5 % ( $p=3,2076E-10$ ) siendo la respuesta a este semioquímico estadísticamente significativa. Con respecto a las cairomonas, a pesar de que la respuesta de *L. longipalpis* no fue significativa a ninguna de las concentraciones con respecto al control, se observó un mayor poder de atracción a la concentración de ácido láctico al 1,0 % (55 %), ácido butírico al 0,1 % (55 %), amonio al 10 % (55 %), 1-octen-3-ol al 1,0 % (58 %),  $CO_2$  de 800 ppm (52 %) y la mezcla de ácido láctico, ácido butírico y amonio en proporción 1:1:1 (58 %).

En la fase de campo, para la evaluación del poder atrayente de los semioquímicos se utilizó un diseño experimental de cuadrado latino con cuatro

tratamientos: trampa de luz CDC (CDC-TL) cebada con (S)-9-metilgermacreno-B al 5 %, CDC-TL más dióxido de carbono; CDC-TL más 1-octen-3-ol al 1,0 % y CDC-TL más mezcla. Durante este ensayo se capturaron 60.940 hembras de *L. longipalpis*, de las cuales, 58.691 (96,31 %) correspondieron a las trampas cebadas con la feromona (S)-9-metilgermacreno-B al 5 %, 1.358 (2,23 %) a las trampas cebadas con dióxido de carbono, 667 (1,1 %) a las trampas cebadas con 1-octen-3-ol al 1,0 % y 224 (0,37 %) a las trampas cebadas con la mezcla. Se observó que la respuesta de *L. longipalpis* a las trampas con (S)-9-metilgermacreno-B fue estadísticamente significativa comparada con el control ( $p=1,0353E-05$ ) y los otros semioquímicos evaluados.

Como conclusión de los bioensayos se tiene que.

- a) la feromona sintética (S)-9-metilgermacreno-B ejerce un fuerte poder de atracción sobre la población de *L. longipalpis* comparada con los otros semioquímicos evaluados;
- b) se propone la utilización de esta sustancia como método de captura y control para esta especie en la zona de estudio;
- c) es necesario efectuar otros bioensayos con las kairomonas dióxido de carbono, 1-octen-3-ol, ácido láctico, ácido butírico y amonio realizando cambios menores en las concentraciones evaluadas que resultaron más atractivas con el fin de identificar concentraciones que tengan un mayor poder atrayente para la hembras de *L. longipalpis*.

#### Referencias

1. Andrade J, Andrade M, Dias E, Pinto M, Eiras A. Are light traps baited with kairomones effective in the capture of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia intermedia*? An evaluation of synthetic human odor as an attractant for phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 2008; 103:337-43.
2. Arrivillaga J, Mutebi JP, Piñango H, Norris D, Alexander B, Feliciangeli MD, Lanzaro GC. The taxonomic status of genetically divergent populations of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) based on the distribution of mitochondrial and isozyme variation. J Med Entomol. 2003;40:615-27.
3. Arrivillaga J, Salerno P, Rangel Y. Aislamiento reproductivo asimétrico entre *Lutzomyia pseudolongipalpis* y *Lutzomyia longipalpis* (especie C2), vectores neotropicales de leishmaniasis visceral (Diptera: Psychodidae). Rev Biol Trop. 2009;57:23-31.
4. Brazil RP, Caballero NN, Hamilton JCG. Identification of the sex pheromone of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae) from Asunción, Paraguay. Parasit Vectors. 2009;2:51.
5. Gibson G, Torr SJ. Visual and olfactory responses of haematophagous Diptera to host stimuli. Med Vet Entomol. 1999;13:2-23.
6. Hamilton JGC, Ramsoondar TMC. Attraction of *Lutzomyia longipalpis* to human skin odours. Med Vet Entomol. 1994;8:375-80.
7. Hamilton JGC, Dougherty MJ, Ward RD. Sex pheromone activity in a single component of tergal gland extract of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) from Jacobina, North Eastern Brazil. J Chem Ecol. 1994;20:141-51.
8. Hamilton JGC, Dawson GW, Pickett JJ. 3-methyl- $\alpha$ -himachalene: Proposed structure for novel homosesquiterpene sex pheromone of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) from Jacobina, Brazil. J Chem Ecol. 1996a;22:2331-40.
9. Hamilton JGC, Ward RD, Dougherty MJ, Maignon R, Ponce C, Ponce E, et al. Comparison of the sex-pheromone components of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae) from areas of visceral and atypical cutaneous leishmaniasis in Honduras and Costa Rica. Ann Trop Med Parasitol. 1996b; 90:533-41.
10. Hamilton JGC, Ibbotson HC, Hooper AM, Mori K, Pickett JA, Sano S. 9-methylgermacrene-B is confirmed as the sex pheromone of the sandfly *Lutzomyia longipalpis* from Lapinha, Brazil, and the absolute stereochemistry defined as S. Chem Commun. 1999;23:2335-6.
11. Kelly DW, Dye C. Pheromones, kairomones and the aggregation dynamics of the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. Anim Behav. 1997;53:721-31.
12. Nigam Y, Ward RD. The effects of male sandfly pheromone and host factors as attractants for female *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). Physiol Entomol. 1991;16:305-12.
13. Sant'Ana AL, Eiras AE, Cavalcante RR. Electroantennographic responses of the *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae) to 1-octen-3-ol. Neotrop Entomol. 2002;31:13-7.
14. Spiegel CN, Jeanbourquin P, Guerin PM, Hooper AM, Claude S, Tabacchi R, et al. (1S, 3S, 7R)-3-methyl- $\alpha$ -himachalene from the male sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) induces neurophysiological responses and attracts both males and females. J Insect Physiol. 2005;12:1-10.
15. Takken W, Knols BG. Odor-mediated behavior of Afrotropical malaria mosquitoes. Annu Rev Entomol. 1999;44:131-57.
16. Watts PC, Hamilton JCG, Ward RD, Noyes HA, Souza NA, Kemp SJ, et al. Male sex pheromones and the phylogeographic structure of the *Lutzomyia longipalpis* species complex (Diptera: Psychodidae) from Brazil and Venezuela. Am J Trop Med Hyg. 2005;73:734-43.

## Ecología sensorial de triatominos

Mario Ortiz, Jorge Molina

Centro de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical, Facultad de Ciencias,  
Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia

Comportamientos relevantes en la ecoepidemiología de la enfermedad de Chagas son la dispersión activa y la búsqueda del huésped en los triatominos. Estos comportamientos son dirigidos por estímulos lumínicos y químicos (Minoli y Lazzari, 2006; Ortiz, *et al.*, 2011).

### Dispersión activa

Los reportes de la llegada volando de triatominos silvestres atraídos a las casas por las luces artificiales y la realización de ensayos en el laboratorio que han demostrado el papel de la luz blanca en la dirección del despegue de *Triatoma infestans* y *Rhodnius prolixus* (Minoli y Lazzari, 2006), han resaltado el papel que juegan las luces en la dirección del vuelo en triatominos.

Nuestros resultados en el laboratorio con *Rhodnius prolixus* han demostrado la interacción de diferentes longitudes de onda y la intensidad de la luz en la dirección del despegue (Ortiz y Molina, datos sin publicar). Las longitudes de onda evaluadas abarcan desde el ultravioleta hasta el rojo y se evaluaron a tres diferentes intensidades ( $0,06 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ ,  $0,6 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  y  $6 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ ). Los resultados muestran que el efecto atractivo de las longitudes de onda depende de la intensidad a la cual se presenten, evidenciándose que longitudes de onda corta (azul) son atractivas solamente a la más alta intensidad probada ( $6 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ ) y que las longitudes de onda largas (rojo) son atractivas solo a las intensidades bajas probadas ( $0,06 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ ,  $0,6 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ ). Por otro lado, las longitudes de onda intermedias (verde y amarillo) presentaron un efecto atractivo combinado, mostrando un efecto en la dirección del despegue tanto a la intensidad más alta como a la intensidad más baja (Ortiz y Molina, datos sin publicar).

De igual forma, los resultados no arrojaron diferencias significativas en el despegue bajo las condiciones experimentales entre machos y hembras y parámetros corporales tales como la longitud total, ancho del pronoto, ancho del abdomen y peso (Ortiz y Molina, datos sin publicar). Entre los aspectos interesantes aportados por este trabajo, se encuentra el hecho de haber demostrado una respuesta de comportamiento al rojo a pesar de no haberse identificado hasta el momento este tipo de pigmento visual en hemípteros (Briscoe y Chittka, 2001). Una posible explicación a este fenómeno

puede ser la utilización por parte de los triatominos de un mecanismo acromático para diferenciar luces de diferente calidad espectral, mecanismo que puede estar basado en la presencia de un solo cromóforo que no necesariamente tiene que tener su máxima absorbancia en el rango del rojo (Reisenman, *et al.*, 2000).

De acuerdo con estos datos no solamente la longitud de onda de la luz sino también su intensidad influye en la respuesta de estos insectos frente a los estímulos lumínicos, información de gran utilidad en el desarrollo y aplicación de trampas con luz para la vigilancia y captura de estos vectores.

### Búsqueda del huésped

En la búsqueda del huésped intervienen estímulos físicos y químicos. Entre los estímulos químicos se encuentran los compuestos denominados semioquímicos. Entre los semioquímicos encontramos los aleloquímicos, compuestos que median en las interacciones entre organismos de diferentes especies. Los aleloquímicos se han clasificado funcionalmente en cairomonas, alomonas y sinomonas. Las cairomonas son benéficas para el receptor y perjudiciales para el emisor, las alomonas son benéficas para el emisor y perjudiciales para el receptor y las sinomonas son benéficas para ambos miembros de la relación (Cruz-López, *et al.*, 2001). Las cairomonas son de gran importancia en la búsqueda del huésped en *Rhodnius prolixus* ya que permiten la ubicación del huésped y la orientación hacia éste. Entre estas cairomonas sobresalen el  $\text{CO}_2$ , el ácido láctico, el ácido isobutírico, el 1-octen-3-ol, el nonanal y el amonio, compuestos que hacen parte del sudor humano o que son productos de la respiración (Guerenstein y Lazzari, 2009).

Recientemente han sido involucrados también como cairomonas los productos metabólicos de la microbiota cutánea en la búsqueda del huésped por parte de *R. prolixus* (Ortiz y Molina, 2010). Experimentos de comportamiento realizados por nuestro grupo utilizando un olfatómetro de decisión dual han demostrado la atracción ejercida por extractos de piel humana obtenidos de diferentes regiones del cuerpo (cara, manos y pies). Esta atracción no solamente fue diferencial por las diferentes regiones del cuerpo humano, sobresaliendo la atracción de los extractos de cara,

seguidos por la atracción de los extractos de pies, sino que este efecto atractivo pudo ser eliminado mediante la aplicación de un antiséptico de uso tópico (triclosán) (Ortiz y Molina, 2010; Ortiz, *et al.*, 2011). Mediante la comparación de dos poblaciones de *R. prolixus* (colonia y F<sub>1</sub> de insectos silvestres) se pudo evidenciar que no existen diferencias significativas en cuanto al comportamiento presentado por las dos poblaciones frente a los diferentes extractos, siendo el de cara el más atractivo para las dos poblaciones (Ortiz, *et al.*, 2011). La utilización de diferentes voluntarios permitió establecer que no se presentan diferencias en el número de insectos atraídos por cada uno de los extractos obtenidos y que en todos los casos las bacterias cutáneas están jugando un papel importante en el efecto atractivo de los extractos (Ortiz, *et al.*, 2011).

Debido a las diferencias entre las dos poblaciones de *R. prolixus* en cuanto a hábitat y alimentación (los insectos de colonia llevan 30 años en el laboratorio alimentándose únicamente de sangre de gallina) se realizó un análisis del fenotipo de antena en ambos grupos para poder explicar la similitud en las atracciones de comportamiento observadas. Este análisis permitió establecer que a pesar de las diferencias en la longitud y área de la antena (la F<sub>1</sub> de insectos silvestres presentaba una antena más larga y con mayor área), los individuos de las dos poblaciones no presentaron diferencias significativas ni en el número, ni en la densidad de las sensilias quimiorreceptoras, apoyando esto lo evidenciado en los ensayos de comportamiento. El mantenimiento del número y de la densidad de las sensilias quimiorreceptoras en los insectos de colonia, que presentaron una antena más corta, se debe a un efecto focalizado sobre el pedicelo por la crianza en laboratorio. Si se tiene en cuenta que en la tribu Rhodnini las sensilias quimiorreceptoras no se encuentran en el pedicelo, el efecto focalizado en este segmento evitaría una disminución en las sensilias que intervienen en la quimiorrecepción (Ortiz, *et al.*, 2011). Este fenómeno (reducción focalizada en el pedicelo) permite la conservación del comportamiento eurifágico en *R. prolixus*,

comportamiento que es de gran relevancia en el éxito ecológico de la especie y en la ecoepidemiología de la enfermedad de Chagas (Ortiz, *et al.*, 2011).

La evidencia de la participación de un tercer miembro (las bacterias cutáneas) en la interacción huésped-insecto hematófago, permite no sólo el mejor entendimiento de la relación, sino también, el potencial desarrollo de nuevos tipos de cebos para trampas, basados en sustancias volátiles producidas por la microbiota cutánea y de nuevos métodos para evitar la picadura de estos insectos.

Tanto la dispersión activa como la búsqueda del huésped son comportamientos de gran relevancia no sólo para el éxito ecológico de esta especie de triatomino, sino también para la transmisión de la enfermedad de Chagas a los seres humanos; debido a esto, su entendimiento y análisis prometen valiosa información para el desarrollo de nuevos métodos y estrategias para el control de la transmisión vectorial de esta enfermedad.

#### Referencias

1. Briscoe AD, Chittka L. The evolution of color vision in insects. *Annu Rev Entomol.* 2001;46:471-510.
2. Cruz-López L, Malo EA, Rojas JC, Morgan ED. Chemical ecology of triatomine bugs: vectors of Chagas disease. *Med Vet Entomol.* 2001;15:351-7.
3. Guerenstein P, Lazzari CR. How triatomines acquire and make use of information to find blood. *Acta Trop.* 2009;110:148-58.
4. Minoli SA, Lazzari CR. Take-off activity and orientation of triatomines (Heteroptera: Reduviidae) in relation to the presence of artificial lights. *Acta Trop.* 2006;97:324-30.
5. Ortiz MI, Molina J. Preliminary evidence of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Triatominae) attraction to human skin odour extracts. *Acta Trop.* 2010;113:174-9.
6. Ortiz MI, Suárez-Rivillas A, Molina J. Behavioural responses to human skin extracts and antennal phenotypes of *Rhodnius prolixus* from sylvatic first filial generation and long rearing laboratory colony insects. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2011;106:461-6.
7. Reisenman C, Lorenzo Figueiras A, Giurfa M, Lazzari C. Interaction of visual and olfactory cues in the aggregation behaviour of the haematophagous bug *Triatoma infestans*. *J Comp Physiol A.* 2000;186:961-8.



## **Neuroetología ecológica de la olfacción: metodologías y potencial aplicación en la lucha contra las enfermedades transmitidas por insectos vectores**

Pablo Guerenstein

Universidad Nacional de Entre Ríos y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina

La neuroetología estudia las bases neuronales del comportamiento animal. Dentro de este campo de la ciencia, la neuroetología ecológica pone énfasis en el estudio del comportamiento y los circuitos neuronales subyacentes ensayando estímulos que el animal encuentra en la naturaleza. Esto último implica un conocimiento profundo de la ecología del animal antes de abordar los estudios de comportamiento y fisiológicos en sí mismos. Este enfoque necesariamente involucra tanto trabajo en laboratorio como en campo. El enfoque neuroetológico permite, por ejemplo, hacer predicciones sobre el comportamiento de un animal basándose en las respuestas de las neuronas involucradas en esos comportamientos, lo cual puede llevar a un conocimiento más rápido y profundo sobre un determinado comportamiento. El enfoque de la neuroetología ecológica está siendo aplicado a estudios sobre comportamiento olfativo de insectos. Es así que se estudia el ambiente olfativo natural de los insectos, y se llevan a cabo estudios de comportamiento y neuronales basados en estímulos olfativos naturales.

Los estímulos olfativos naturales suelen constar de mezclas de cientos de olores. Sin embargo, el sistema olfativo animal es capaz de detectar sólo algunos de los constituyentes de una mezcla compleja de olores. Los estudios de comportamiento y neurobiológicos permiten, por ejemplo, identificar los constituyentes de una mezcla de olor que es detectada por los insectos. Esto no sólo abre la puerta a un mayor conocimiento sobre la biología del insecto, sino que también permite producir una mezcla de olor sintética, basada en los constituyentes identificados, que permita manipular el comportamiento de los insectos en el campo y, por ejemplo, poder hacerle seguimiento o controlar sus poblaciones. Por otro lado, basándose en respuestas neuronales también puede predecirse en qué contexto un cierto olor podría estar siendo utilizado e incluso, junto a qué otros estímulos no olfativos un cierto olor evoca respuestas neuronales.

Los tipos de estudio que se emplean en la neuroetología ecológica de la olfacción son múltiples. Incluyen muestreo y mediciones de olores en el

campo y laboratorio, estudio del comportamiento olfativo en ambientes naturales y en el laboratorio —utilizando olores naturales y análogos sintéticos—, estudios neuronales a nivel periférico y a nivel central.

Esto implica una gran diversidad de metodologías necesarias. Estas incluyen:

- muestreo de olores naturales, usualmente mezclas de muchos olores constituyentes, utilizando polímeros sintéticos como porapak y tenax;
- elaboración de extractos de esas mezclas de olor natural empleando solventes orgánicos,
- identificación de los componentes biológicamente activos de esas mezclas utilizando técnicas como la cromatografía de gas acoplada a un ensayo de comportamiento o neurofisiológico;
- simulación de estímulos naturales empleando compuestos sintéticos o precursores y liberándolos en contenedores específicos;
- ensayos de comportamiento de laboratorio utilizando una diversidad de metodologías, como el uso de olfatómetros, arenas, compensadores de marcha, jaulas de vuelo, túneles de viento, etc.;
- ensayos de comportamiento de campo empleando jaulas de vuelo, señuelos, trampas, etc.;
- registros electrofisiológicos de neuronas olfativas receptoras ubicadas en las antenas o en las piezas bucales, usualmente utilizando electrodos de vidrio o de tungsteno; estos registros pueden ser del tipo electro-antenograma o de pequeños órganos olfatorios llamados sensilia;
- registros electrofisiológicos de neuronas olfativas centrales ubicadas en el lóbulo de las antenas o zonas integradoras multimodales del cerebro utilizando electrodos de vidrio o de sílice; estos registros pueden ser de neurona única o de múltiples neuronas simultáneamente;
- registros de imágenes cerebrales empleando marcadores luminiscentes de la actividad neuronal, y
- estudios morfológicos de las neuronas centrales estudiadas utilizando técnicas de

teñido neuronal y microscopía de fluorescencia o confocal.

Es claro que este enfoque de abordaje múltiple requiere incursionar en diversas disciplinas, como química orgánica, química analítica, etología, neurofisiología sensorial y anatomía del sistema nervioso.

Ya se están llevando a cabo estudios en neuroetología ecológica de la olfacción en diversos insectos modelo. En insectos de importancia médica también se ha comenzado a utilizar este enfoque aunque su desarrollo es aún incipiente. El potencial de su uso incluye un mayor conocimiento de la biología de estos insectos y su aplicación en el seguimiento y control de sus poblaciones.

En esta presentación se expondrán los avances que se han producido en el campo de la neuroetología ecológica de la olfacción en insectos que incluyen vectores de enfermedad, como así también los métodos empleados para lograr esos avances.

### Referencias

- Dacks A, Guerenstein P, Reisenman C, Martin J, Lei H, Hildebrand J. Olfaction in invertebrates: *Manduca*. In: Squire LR, editor. Encyclopedia of neuroscience. Oxford: Academic Press; 2009. p. 49-57.
- Diehl PA, Vlimant M, Guerenstein P, Guerin P. Ultrastructure and receptor cell responses of the antennal grooved peg sensilla of *Triatoma infestans* (Hemiptera : Reduviidae). *Arthrop Struct Dev*. 2003;31:271-85.
- Guerenstein PG, Lorenzo MG, Núñez JA, Lazzari CR. Baker's yeast, an attractant for baiting traps for Chagas' disease vectors. *Experientia*. 1995;51:834 - 7.
- Guerenstein PG, Guerin PM. Olfactory and behavioural responses of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* to odours of vertebrate hosts. *J Exp Biol*. 2001;204:585-97.
- Guerenstein PG, Christensen TA, Hildebrand JG. Sensory processing of ambient CO<sub>2</sub> information in the brain of the moth *Manduca sexta*. *J Comp Physiol A*. 2004;190:707-25.
- Guerenstein PG, Guerin PM. A comparison of volatiles emitted by adults of three triatomine species. *Entomol Exp Appl*. 2004;111:151-5.
- Guerenstein PG, Hildebrand JG. Roles and effects of environmental carbon dioxide in insect life. *Annu Rev Entomol*. 2008;53:161-78.
- Guerenstein PG, Lazzari CR. Host-seeking: how triatomines acquire and make use of information to find blood. *Acta Trop*. 2009;110:148-58.
- Guerenstein PG, Lazzari CR. The role of olfaction in host seeking of triatomine bugs. En: Takken W, Knols B, editors. Ecology and control of vector-borne diseases. Volume II: Olfaction in vector-host interactions. Wageningen: University Press; 2010. p. 309-25.
- Halle E, Fox AN, Zwiebel LJ, Carlson JR. A mosquito odorant receptor tuned to a component of human sweat. *Nature*. 2004;427:212-3.
- Lu T, Qiu YT, Wang G, Kwon JY, Rutzler M, Kwon H, *et al*. Odor coding in the maxillary palp of the malaria vector mosquito *Anopheles gambiae*. *Curr Biol* 2007;17:1533-44.
- Ochieng SA, Park KC, Baker TC. Host plant volatiles synergize responses of sex pheromone-specific olfactory receptor neurons in male *Helicoverpa zea*. *J Comp Physiol A*. 2002;188:325-33.
- Pawlowski VM, Christensen TA, Lei H, Hildebrand JG. A primer on multichannel neural ensemble recording in insects. In: Christensen T, editor. Methods in insect sensory neuroscience. Boca Raton, FL: CRC Press; 2005.
- Pelletier J, Guidolin A, Syed Z, Cornel AJ, Leal WS. Knockdown of a mosquito odorant-binding protein involved in the sensitive detection of oviposition attractants. *J Chem Ecol*. 2010;36:245-8.
- Vickers NJ, Baker TC. Reiterative responses to single strands of odor promote sustained upwind flight and odor source location by moths. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91:5756-60.

