

ARTICULOS ORIGINALES

Estudio en condiciones de laboratorio de los ciclos de vida de *Lutzomyia torvida* y *Lutzomyia longiflocosa* (Diptera: Psychodidae) posibles vectores de *Leishmania braziliensis* en la zona cafetera colombiana

Marisol Neira¹, Alberto Díaz-Martínez², Felio Bello¹, Cristina Ferro²

Resumen

En el presente estudio, se hizo un seguimiento diario en condiciones de laboratorio del ciclo de vida de *Lutzomyia torvida* y *Lutzomyia longiflocosa* con el propósito de mejorar el conocimiento de la biología de estas dos especies del grupo *verrucarum*, serie *townsendi*. Cada una de ellas es la especie antropofílica más abundante en dos focos diferentes de *Leishmania braziliensis* localizados en el centro del país sobre la cordillera oriental. *L. torvida* fue capturada en Reventones (Cundinamarca) y *L. longiflocosa* en Tello (Huila) con cebo humano y trampa Shannon entre febrero de 1996 y marzo de 1997, principalmente en la época seca. La postura promedio de las hembras capturadas fue de 25,8 para *L. torvida* y 27,6 huevos para *L. longiflocosa*. El tiempo promedio de duración del ciclo de vida de huevo a adulto fue de 96,8 días para *L. torvida* y de 93,8 días para *L. longiflocosa*. Los mayores porcentajes de pérdida de individuos para las dos especies se presentaron en la fase de huevo y cuarto estadio larval. Aunque 54,8% de los insectos de *L. torvida* y 72% de *L. longiflocosa* lograron llegar a la fase adulta, fue difícil alimentar las hembras sobre hámster porque éstas se resistieron a picar.

A laboratory study of *Lutzomyia torvida* and *Lutzomyia longiflocosa* (Diptera: Psychodidae) life-cycles, being possible *Leishmania braziliensis* vectors in Colombia's coffee-growing area

In the present study a daily follow-up of the life-cycle of *Lutzomyia torvida* and *Lutzomyia longiflocosa* under laboratory conditions was carried out in order to improve knowledge about the biology of these two highly anthropophilic species of the *verrucarum* group, *townsendi* series. Each of them represents the most abundant species in two different *Leishmania braziliensis* foci from the Eastern Andean range of mountains in Central Colombia. Between February 1996 and March 1997, the sand fly *L. torvida* was collected in Reventones (Cundinamarca) and *L. longiflocosa* in Tello (Huila) using Shannon traps and protected human bait, mainly during the dry season. The mean number of eggs laid by wild females was 25.8 for *L. torvida* and 27.6

¹ Departamento de Química y Biología, Universidad de La Salle, Santa Fe de Bogotá, Colombia.

² Laboratorio de Entomología, Instituto Nacional de Salud, Santa Fe de Bogotá, Colombia.

Recibido para su publicación: 3 de noviembre de 1998 - Aprobado para su publicación: 22 de diciembre de 1998

for *L. longiflocosa*. On average, the entire life cycle from egg to adult was 96.8 days for *L. torvida* and 93.8 days for *L. longiflocosa*. The highest immature lost was at the egg and fourth larval stages for both species. Although 54.8% of *L. torvida* and 72% of *L. longiflocosa* managed to become adults, it was difficult to obtain engorged females since the majority of them refused to feed on hamster.

La serie *townsendi* del grupo *verrucarum* está formada por nueve especies del género *Lutzomyia*: *L. torvida* Young, Morales & Ferro 1994; *L. longiflocosa*, Osorno-Mesa *et al.* 1970; *L. spinicrassa*, Morales *et al.* 1969; *L. quasitownsendi*, Osorno, Osorno & Morales 1972; *L. sauroida*, Osorno, Morales & Osorno 1972; *L. amilcari*, Arredondo 1984; *L. townsendi*, Ortiz 1959; *L. nadiae*, Feliciangeli, Arredondo & Ward 1992, y *L. youngi*, Feliciangeli & Murillo 1985. Estas especies tienen una distribución geográfica restringida a los valles interandinos de Colombia y Venezuela con excepción de *L. youngi* que se encuentra también en Costa Rica (1, 2).

La importancia médica de la serie *townsendi* radica en que *L. youngi* es considerada vector de leishmaniasis cutánea en Venezuela y posible transmisor de *Leishmania panamensis* en Costa Rica (2); *L. spinicrassa* fue encontrada con flagelados identificados como *Leishmania braziliensis* en Colombia (3); *L. quasitownsendi* y *L. torvida* se encontraron naturalmente infectadas con flagelados no identificados (4, 5). Esta última es la especie antropofílica más abundante en el foco de leishmaniasis cutánea en la inspección de Reventones de Anolaima, Cundinamarca (6), y ejemplares de la misma localidad se han infectado experimentalmente con parásitos de *Leishmania braziliensis* (5) y, finalmente, *L. longiflocosa* también es la especie antropofílica más abundante en otro foco de *Leishmania braziliensis*, ubicado en la zona cafetera de los municipios de Tello y Baraya en el departamento del Huila (7). Esta especie, en condiciones de laboratorio, ha mostrado susceptibilidad a la infección con *Leishmania braziliensis* y, además, tiene la capacidad de transmitir el parásito por picadura a hámster (7, 8).

En este trabajo se hizo el seguimiento del ciclo de vida en el laboratorio de las especies *L.*

torvida y *L. longiflocosa* con el fin de mejorar el conocimiento de la biología de estas especies, comprometidas aparentemente en la transmisión de *Leishmania braziliensis* en los focos de Reventones (Cundinamarca) y Baraya y Tello (Huila).

Materiales y métodos

Las capturas de *L. torvida* se realizaron en la Inspección de Reventones, municipio de Anolaima (Cundinamarca), en la vereda El Platanal, localizada a los 04°47'35" de latitud norte y a los 74°29'35" de longitud occidental, entre los 1.425 y los 1.475 msnm y una temperatura media de 24 °C. Las de *L. longiflocosa* se realizaron en el municipio de Tello (Huila), en la vereda Medio Roblal que se encuentra localizada a los 03°00'20" de latitud norte y a los 74°59'57" de longitud occidental, a una altitud de 1.510 msnm, presenta una temperatura media de 25 °C y una precipitación media anual de 1.190 mm.

Las capturas de los flebótomos se realizaron en los meses de febrero, marzo, agosto y septiembre de 1996 y en febrero y marzo de 1997, utilizando cebo humano protegido y trampa Shannon. A medida que los insectos se capturaban, se colocaban en una jaula de tela (muselina) de 18 cm², la cual estaba suspendida dentro de un armazón metálico de 25 cm² por medio de unas cintas amarradas a sus ocho esquinas.

Al terminar la captura, se suministró agua y azúcar a los insectos en pequeñas motas de algodón y las jaulas se colocaron en cajas de icopor para mantener reguladas la temperatura y la humedad. A la mañana siguiente fueron transportadas al Instituto Nacional de Salud en Santa Fe de Bogotá en donde las hembras se alimentaron sobre hámster anestesiado.

Con el fin de determinar el número de huevos ovipositados por hembra, el número de larvas

que pasaban de un estadio a otro, la duración del estadio y el tiempo de emergencia, las hembras que hicieron ingestión de sangre se colocaron individualmente en vasos de cría, preparados previamente con yeso siguiendo las instrucciones de Modi y Tesh (9) y se mantuvieron a una temperatura entre 22 y 25 °C y una humedad del 90%. Las hembras muertas se mantuvieron en viales de vidrio con alcohol al 70% para su identificación taxonómica.

Una vez iniciada la eclosión, los vasos de cría que contenían las larvas, se colocaron en una incubadora a una temperatura entre 23 y 25 °C y una humedad relativa promedio de 90%. Las larvas se alimentaron con comida preparada con materia orgánica en descomposición, según Young *et al.*, 1981, (10) y modificada por Ferro *et al.*, 1998 (11). Cuando pasaron a estadio de pupa, se dejó de suministrar alimento. A medida que emergieron los adultos, para determinar la longevidad, se colocaron grupos de hembras y machos del mismo día en vasos de cría separados por sexo y para el establecimiento de la colonia se colocaron machos y hembras en un mismo vaso; a las hembras del último grupo se les colocó un hámster anestesiado para que hicieran su comida de sangre.

El tiempo de duración de las diferentes fases metamórficas se determinó a través de la estadística descriptiva la cual incluyó el promedio, la desviación estándar, los valores máximo y mínimo observados, el intervalo de confianza para el 95% de la población y el

coeficiente de variación.

Resultados

Para los ejemplares traídos del campo, el número promedio de huevos por hembra fue de 25,8 para *L. torvida* y para *L. longiflocosa*, 27,6 con una retención promedio de huevos de 43,7% (*L. torvida*) y 34,9% (*L. longiflocosa*).

El tiempo de duración del ciclo de vida fue muy similar en las dos especies, 96,8 días para *L. torvida* y 93,8 días para *L. longiflocosa*; una situación semejante se presentó para la duración de todos los estadios metamórficos, los cuales presentaron aproximadamente el mismo tiempo de duración en las dos especies (cuadro 1, figura 1).

Los estadios tuvieron un tiempo de duración promedio entre 7,1 y 12,7 días, a excepción del cuarto estadio que fue mucho más largo, 30,8

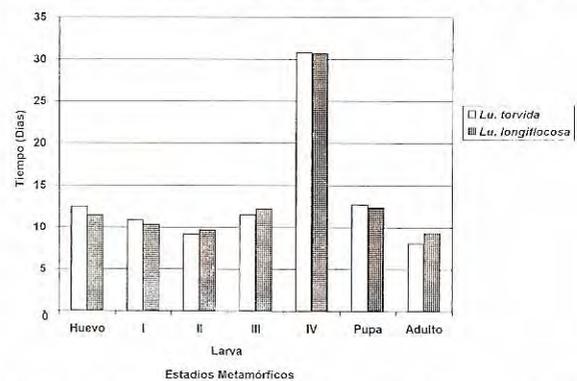


Figura 1. Ciclo de vida comparativo de *L. torvida* y *L. longiflocosa* (Diptera: Psychodidae).

Cuadro 1. Ciclo de vida de *L. torvida* y *L. longiflocosa* (Diptera: Psychodidae) en condiciones de laboratorio.

Lu. torvida

Estadio metamórfico	Tamaño muestra	Promedio (días)	Desviación estándar	Valor mínimo	Valor máximo	Intervalo del 95%		Coefficiente de variación
						Límite inf.	Límite sup.	
Huevo	427	12,50	0,57	11,96	13,30	12,14	12,86	4,55
Estadio 1	295	10,84	1,09	9,35	13,00	10,14	11,53	10,06
Estadio 2	289	9,12	0,94	8,05	10,57	8,52	9,71	10,29
Estadio 3	288	11,49	1,05	9,83	13,21	10,82	12,16	9,18
Estadio 4	282	30,77	2,78	24,82	35,48	29,01	32,54	9,04
Pupa	229	12,74	1,72	10,92	16,22	11,65	13,83	13,46
Adulto	234	9,36	3,15	2,00	17,00	8,84	9,88	33,65

Lu. longiflocosa

Estadio metamórfico	Tamaño muestra	Promedio	Desviación estándar	Valor mínimo	Valor máximo	Intervalo del 95% Límite inf.	Límite sup.	Coefficiente de variación
Huevo	341	11,45	1,77	6,67	14,50	10,54	12,36	15,43
Estadio 1	282	10,28	1,71	6,70	14,33	9,40	11,16	16,65
Estadio 2	280	9,70	1,89	7,00	14,68	8,73	10,67	19,51
Estadio 3	279	12,20	1,16	9,50	14,34	11,60	12,80	9,53
Estadio 4	276	30,68	4,60	23,50	41,24	28,31	33,04	15,00
Pupa	256	12,39	1,25	9,86	15,43	11,75	13,03	10,09
Adulto	247	7,10	2,69	2,00	15,00	5,72	8,48	37,84

días para *L. torvida* y 30,7 días para *L. longiflocosa*.

Discusión

El mayor tiempo de duración del ciclo de vida encontrado en este estudio para *L. torvida* y *L. longiflocosa* parece ser una característica de las especies de la serie *townsendi*, pues, especies como *L. spinicrasa* y *L. quasitownsendi*, integrantes también de esta serie, presentan tiempos de duración mayores de 76,9 días (12), en tanto que otras especies del género *Lutzomyia* de otros grupos y series, mantenidas en condiciones similares, presentan ciclos de vida entre 54 y 60 días (11-18).

El tiempo de duración del adulto para la F1 en las dos especies fue menor al tiempo esperado ya que el ciclo gonadotrófico de las hembras traídas del campo fue de 8,1 en *L. torvida* y de 7,5 días en *L. longiflocosa*. Este hecho es particularmente notable en *L. longiflocosa*, para la cual el tiempo del ciclo gonadotrófico fue mayor que el de la longevidad de la F1 (cuadro 1), lo que probablemente indica que las condiciones para el mantenimiento de los adultos no fueron las óptimas, en cuanto a los requerimientos exigidos por las dos especies, lo que posiblemente ocasionó que menos de 5% de las hembras hiciera ingestión de sangre, impidiendo de esta forma el establecimiento de la colonia.

Se presentó un alto porcentaje de pérdida de huevos ovipositados: *L. torvida*, 30,9%, y *L. longiflocosa*, 17,3 (cuadro 2). El mayor porcentaje de mortalidad se presentó en el cuarto estadio, siendo nuevamente mayor en *L. torvida* (13,5%) que en *L. longiflocosa* (7,2%).

Cuadro 2. Porcentaje de mortalidad de los estadios metamórficos *L. torvida* y *L. longiflocosa* (Diptera: Psychodidae).

Estadio metamórfico	<i>Lu. longiflocosa</i>	<i>Lu. torvida</i>
Huevo	17,30	30,91
Estadio I	0,71	2,03
Estadio II	0,36	0,35
Estadio III	1,08	2,08
Estadio IV	7,25	13,48
Pupa	3,52	4,10

Esta alta mortalidad está relacionada en parte con el tiempo de duración de este estadio ya que, a medida que se prolonga el tiempo de duración del IV estadio, aumenta la contaminación por hongos y la depredación por ácaros. En los demás estadios inmaduros, el porcentaje de mortalidad fue siempre inferior a 4,1%.

A la fase adulta llegó el 54,8% de los insectos de *L. torvida* y el 72% de *L. longiflocosa* en una proporción machos/hembras de 1:1. Las hembras que emergieron en el laboratorio se resistieron a picar en el hámster anestesiado, por tanto, no hicieron su comida de sangre y no se obtuvo una segunda generación. Aunque esta situación se presenta muy frecuentemente en intentos de colonización de especies de *Lutzomyia* (Laboratorio de Entomología, INS), en este caso específico es difícil entender ya que, en las mismas condiciones ambientales, a principios de la década de los 90 se lograron mantener 17 generaciones continuas de *L. longiflocosa* y 4 de *L. torvida* (19) y, actualmente, se mantienen dos especies de la misma serie, *L. quasitownsendii* y *L. youngi*.

Estos resultados hacen suponer que, además de las condiciones ambientales del laboratorio, pueden existir factores intrínsecos (genéticos) en los individuos de la generación parental que definen la capacidad de adaptación de esa población específica a las condiciones de laboratorio.

Agradecimientos

Por su apoyo financiero a COLCIENCIAS, al Instituto Nacional de Salud y a la Universidad de La Salle. Al señor Marco Fidel Suárez por su invaluable ayuda en el campo y en el laboratorio.

Referencias

1. Feliciangeli D, Arredondo C, Ward R. Phlebotomine sandflies in Venezuela. Review of the *verrucarum* species group (III) of *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) with description of a new specie from Lara. J Med Entomol 1992;29:729.
2. Young DG, Duncan MA. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Mem Amer Entomol Inst 1994;54:1-181.
3. Young DG, Morales A, Kreutzer RD, Alexander B, Corredor A, Tesh RB. Isolation of *Leishmania braziliensis* from cryopreserved Colombian sand flies (Diptera:Psychodidae). J Med Entomol 1987; 24:587.
4. Sandoval CM, Angulo VM, Gutiérrez M, Muñoz G, Ferro C. Especies de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) posibles vectores de Leishmaniasis en la ciudad de Bucaramanga, Santander, Colombia. Biomédica 1998;18:161-8.
5. Castillo M, Santamaria E, Ayala ME, Cabrera OL, Ferro C. Ensayo de infección experimental de *Lutzomyia torvida* y *Lutzomyia longiflocosa* con *Leishmania braziliensis*. Biomédica 1997;17(Suppl. 1):85.
6. Ferro C, Morales A. Flebótomos de Colombia: estudios realizados por el Laboratorio de Entomología, 1965-1997. En: Toro G, Hernández CA, Raad J, editores. Instituto Nacional de Salud, 1917-1997: una historia, un compromiso. Santa Fe de Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 1998. p.219-33.
7. Cabrera OL, Bello F, Cárdenas R, Neira M, Ferro C. *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) en el foco de leishmaniasis cutánea de Baraya y Tello (Huila), Colombia. Resúmenes Congreso Nacional de Ciencias Biológicas 1998.p.90.
8. Ferro C, et al. Especies del grupo *verrucarum* (Diptera: Psychodidae) y su papel como vectores en dos focos de *Leishmania braziliensis* del centro de Colombia. Resúmenes SOCOLEN 1998.p.41.
9. Modi GB, Tesh RB. A simple technique for mass rearing *Lutzomyia longipalpis* and *Phlebotomus papatasi* (Diptera :Psychodidae) in the laboratory. J Med Entomol 1983;20(5):568-9.
10. Young DG, Perry PV, Endris RG. A larval diet for rearing phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). J Med Entomol 1981;18(5).
11. Ferro C, Cárdenas E, Corredor D, Morales A, Munstermann L. Life cycle and fecundity analysis of *Lutzomyia shannoni* (Dyar) (Diptera: Psychodidae). Mem Inst Oswaldo Cruz 1998;93(2):195.
12. Cabrera O, Morales A, Suarez M, Diaz A, & Ferro C. Ciclo de vida de *Lutzomyia quasitownsendi* y evolución del tiempo de desarrollo a través de 22 generaciones. Biomédica 1997;17(1):84.
13. Montoya LJ, Cadena PH, Jaramillo SC. Rearing colonization of *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae), a vector of visceral leishmaniasis in Colombia. Mem Inst Oswaldo Cruz 1998;93(2): 263.
14. Mirsa A. Sobre biología de algunos flebótomos (Diptera: Psychodidae) y datos sobre otros hematófagos colectados en Altagracia de Orituco (Estado Guarico), Venezuela. Rev Asist Social 1953;18:269-76.
15. Oviedo M, Moreno G, Graterol D. Bionomía de los vectores de leishmaniasis visceral en el Estado Trujillo, Venezuela. III. Colonización de *Lutzomyia evansi*. Bol Dir Malariol San Amb 1953;35(Suppl. 1):269-76.
16. Johnson PT, Hertig M. The rearing of Phlebotomus sandflies in laboratoy culture. Ann Ent Soc Am 1961; 54(6):764-76.
17. Sherlock IA, Sherlock VA. Criação e biologia em laboratório do *Phebotomus longipalpis*, Lutz & Neiva, 1912 (Diptera: Psychodidae. Rev Brasil Biol 1959;19(3):229-50.
18. Barreto PM. Observações sobre a biologia do *Phlebotomus intermedius* Lutz e Neiva, 1912 (Diptera: Psychodidae) em condições experimen-tais. An Fac Med Univ Sao Paulo 1940;XVI(Tomo 1):143.
19. Morales A, Suárez M, Cabrera OL, Neira M, Bello F, Ferro C. Colonización de algunas especies de *Lutzomyia* de la serie *Townsendi*, grupo *verrucarum*, presentes en Colombia (Diptera: Psychodidae). Biomédica 1997;17(Suppl.)2.