

Desarrollo embrionario de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae), bajo condiciones de laboratorio

Embryonic development of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae), under laboratory conditions

Judier Karelly Melgarejo-Colmenares¹ , Ronald López²  y Olga L. Cabrera-Quintero*² 

1 Universidad Nacional de San Martín, Laboratorio de Ecología de Enfermedades Transmitidas por Vectores (2eTV), Buenos Aires, Argentina

2 Instituto Nacional de Salud de Colombia (INS), Grupo de Entomología, Bogotá, Colombia

*Autor de correspondencia: olgaluabrera@yahoo.com

Recibido: 05 abril de 2019

Aceptado: 08 de agosto de 2019

Publicación en línea: 31 de diciembre de 2019

Resumen

Palabras clave:
dípteros; flebotominos; desarrollo
embrionario; huevo

Lutzomyia longipalpis es el principal vector de la leishmaniasis visceral en las Américas. Durante seis días se hizo seguimiento al desarrollo de los huevos de *L. longipalpis* bajo condiciones experimentales. Esto permitió describir las características morfológicas internas y externas del huevo y de las larvas recién nacidas, así como estimar su longitud. En huevos con uno y dos días de desarrollo, se observó abundante vitelo sin formación clara de blástula y gástrula. Al tercer día, se registró una disminución de la envoltura vitelina y la diferenciación de algunas estructuras de la larva. En el cuarto día se observó la larva formada, pero sin quitinización. Al quinto día se visualizaron las setas caudales y a través del corión las estructuras diferenciadas de la larva, y al sexto día la mayoría (90 %) de las larvas había eclosionado. En promedio, la longitud de los huevos fue de 372,8 µm y el ancho de 109,0 µm, en tanto que la longitud de las larvas fue de 628,8 µm y la de las setas caudales 686,7 µm.

Abstract

Key words:
diptera; sandflies; embryonic
development; egg

Lutzomyia longipalpis is the main vector of visceral leishmaniasis in the Americas. The development of *L. longipalpis* eggs was monitored for six days under experimental conditions. This allowed describing the internal and external morphological characteristics of the egg and the newly born larvae, as well as estimating their length. In eggs with one and two days of development, abundant vitello was observed without clear formation of blastula and gastrula. On the third day, a decrease in the vitelline envelope and the differentiation of some larval structures were recorded. On the fourth day the larva formed was observed, but not sclerotized. On the fifth day we visualized the caudal setae and through the chorion the differentiated larval structures, and on the sixth day the majority (90 %) of the larvae had hatched. On average, the length of the eggs was 372.8 µm and the width 109.0 µm, while the length of the larvae was 628.8 µm and the length of the caudal setae was 686.7 µm.

Lutzomyia longipalpis (Lutz y Neiva, 1912), es reconocido como el vector principal de *Leishmania infantum*, agente etiológico de la leishmaniasis visceral (LV) que en ausencia de tratamiento puede ser fatal (World Health Organization, 2017). Presenta una distribución geográfica que va desde de México hasta el norte de Argentina y Uruguay (Young y Duncan, 1994; Salomón et al., 2011). En Colombia, *L. longipalpis* presenta una distribución restringida al valle alto y medio del río Magdalena, en donde esta especie mantiene la transmisión de la LV, principalmente en el área rural. Las alteraciones y modificaciones en el uso de la tierra han generado cambios en los ciclos de transmisión de la leishmaniasis. En las últimas dos décadas, se han notificado brotes de la enfermedad en áreas periurbanas y urbanas (Flórez et al., 2006; Gómez y Zambrano, 2012), lo que sugiere la rápida adaptación de *L. longipalpis* a ambientes modificados por el hombre (Travi et al., 2002; Dias et al., 2011).

Considerando la importancia epidemiológica, esta especie ha sido objeto de diversos estudios. Morrison et al. (1995a) en un estudio llevado a cabo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte (Cundinamarca, Colombia), describieron la asociación positiva entre la abundancia de hembras de *L. longipalpis* y las variables humedad relativa y precipitación. Los mismos autores determinaron también aspectos de la bionomía de esta especie y establecieron patrones de actividad nocturna, sitios de cría y preferencias de hospedero como fuente de alimento sanguíneo (Morrison et al., 1995 a;b; Ferro et al., 1997). Por otro lado, estudios relacionados con el ciclo de vida bajo condiciones de laboratorio, han estimado el tiempo de duración, con descripción morfológica de cada fase del desarrollo (Killick-Kendrick et al., 1997). La primera descripción de la morfología externa del huevo, del estadio larval IV y de la pupa, para *L. longipalpis*, fue realizada por Guitton y Sherlock (1962). Estos estudios han sido posibles debido a la relativa facilidad con la que se logra mantener en cautiverio a esta especie por generaciones continuas.

A pesar de lo anterior, es notable el desconocimiento relacionado con la morfología interna del huevo y el desarrollo embrionario. En la literatura, solo se conoce el estudio de la embriogénesis en *Phlebotomus papatasi* (Abbassy et al., 1995a;b), en el cual se registraron los cambios en cada etapa del desarrollo embrionario entre las 0 y las 216 h, tiempo requerido para la formación completa de la larva de esta especie. Para especies del género *Lutzomyia*, presentes en las Américas, no se conocen estudios sobre este tema. Una de las razones es atribuida a la dificultad para lograr criar estas especies bajo condiciones controladas de

laboratorio, disponer de suficiente material biológico para estas observaciones. No obstante, *L. longipalpis* es la única especie mantenida en una colonia cerrada por más de cien generaciones (filiales) en el laboratorio de Entomología del Instituto Nacional de Salud de Bogotá (Colombia). El presente trabajo describe las características generales de la morfología externa y el desarrollo del huevo de *L. longipalpis*.

Se utilizaron 30 hembras de *L. longipalpis*, filial 71, procedentes de una colonia establecida a partir de especímenes silvestres recolectados en la vereda El Callejón. Estas hembras fueron alimentadas con sangre ofrecida desde un hámster anestesiado. El uso del hámster para alimentar a las hembras de *L. longipalpis*, fue aprobado por el comité de Ética del INS (junio 25 del 2009). Después de 24 horas, cuando las hembras han digerido parcialmente la sangre ingerida, se individualizaron en vasos de cría con una humedad máxima del 100 %, medida de humedad del sustrato (yeso dental) usada en la cría masiva para esta especie en el Laboratorio. Los vasos fueron colocados en el interior de un recipiente plástico mantenido en una incubadora con una temperatura que varió entre 28 y 29 °C, una humedad relativa entre 78 y 81 % y un fotoperiodo luz: oscuridad de 6:18.

Para registrar las características del huevo, después de ovipositados (entre el 5o y el 6o día después de alimentadas, datos no publicados de los autores), se seleccionaron 20 huevos de alguna de las 30 hembras individualizadas, para cada día de desarrollo. Cada huevo se trasladó, con la ayuda de un pincel, a una gota de solución tampón fosfato (PBS) colocada sobre una lámina portaobjeto. Se midió la longitud, desde el extremo anterior hasta el extremo posterior y el ancho se midió en la parte media. Estas medidas se obtuvieron usando un microscopio óptico, Nikon Eclipse 50i. Para visualizar el aspecto interno del huevo, éste se disecó usando agujas de disección, bajo un estereomicroscopio Nikon SMZ1000. Las larvas hasta con 24 h de nacidas también se midieron. La medida se tomó desde el margen frontal de la cápsula de la cabeza hasta donde finaliza el último segmento abdominal o metámero. La longitud de las setas caudales se midió desde el punto de inserción en el último segmento abdominal hasta el extremo distal de cada seta.

Las variables registradas fueron: aspecto externo del huevo, corion brillante o rugoso, coloración, forma y tamaño. Del interior del huevo, se registró el aspecto del vitelo, presencia de masa corporal y formación de larva.



Figura 1. Desarrollo del huevo de *Lutzomyia longipalpis* A1: huevo con 24 h de desarrollo; A2: 72 h, inicio de especialización de tejido; A3: 96 h, diferenciación de metámeros; A4: 120 h, visualización de setas caudales; A5: 144 h, formación de la larva.

Las variables de tamaño para huevos y larvas recién nacidas, se presentan como promedio con su rango de variación.

Se midieron 150 huevos y la longitud promedio fue de 372,8 μm (mín.: 368,6; máx.: 384,4) y el ancho 109,0 μm (108,3 - 114,1). Durante el tiempo de desarrollo (6 - 7 días) los huevos no presentaron variación en forma y tamaño, pero si se registró variación en la pigmentación coriónica. Huevos con 24 y 48 h de ovipositados presentaron una coloración café oscuro brillante (figura 1, A1) y en el interior, el vitelo presentó un aspecto viscoso y transparente. Al alcanzar las 72 h de desarrollo (figura 1 A2), el huevo cambió su tonalidad a café claro (translúcido) y el vitelo se transformó en tejido especializado, observándose los metámeros de la larva. Entre las 96 (figura 1 A3) y las 120 h, se observó la formación completa del cuerpo de la larva. Pasadas las 144 h de desarrollo, las setas caudales se hicieron visibles, así como la quitinización de la cabeza y la formación de la espina de eclosión ubicada en la parte dorsal de la cabeza (Barreto, 1941) (figura 1 A4, A5). Después de las 144 h y hasta las 168 h de tiempo de desarrollo bajo condiciones óptimas, el huevo eclosionó. La condición de eclosionado fue confirmada por un corte en forma de J en uno de los extremos del huevo, realizado por la larva usando la espina de eclosión.

Con relación al tamaño de las larvas, los 30 individuos medidos registraron una longitud promedio de 628,8 μm (mín.: 578,7; máx.: 678,8) y para las setas caudales de 686,7 μm (mín.: 669,1; máx.: 704,2). Este estudio permitió describir de forma general los cambios morfológicos del desarrollo del huevo de *L. longipalpis*. Durante los dos primeros días (48 h) ocurrió la formación de la blástula y la gástrula; sin embargo, la gran cantidad de vitelo y la técnica de disección del

huevo pudieron ocasionar la destrucción de estas estructuras, lo que limitó su visualización. El vitelo, sustancia almacenada en el óvulo y la fuente de alimento para nutrir el embrión, se observó en los tres primeros días de desarrollo. Esto también se ha descrito para *P. papatasi* (Abbassy *et al.*, 1995a, b). Según estos autores, la formación del blastodermo y la gástrula se presenta entre las 60 y 84 h y la organogénesis entre el quinto y el noveno día (108 y 204 horas). El tiempo de diferenciación de órganos es mayor para esta especie que para *L. longipalpis* para la cual se registró una duración de siete días (rango de 4 a 9) (Killick-Kendrick *et al.*, 1977), en el presente trabajo.

Respecto a la coloración de los huevos (negro a marrón), Barreto (1941) menciona que después de ser ovipositados, la coloración se hace más clara y turgente al momento de la eclosión. Adicionalmente, el tamaño del huevo de *L. longipalpis*, aparentemente se encuentra entre los de mayor longitud comparado con otras especies de flebotominos en el Nuevo Mundo. Por ejemplo, los huevos de *L. youngi* miden 340,1 μm (322,8 - 366,9) con un ancho de 106,0 μm (85,5 - 124,3); para *L. longiflocosa*, la longitud promedio es 335,8 μm (322,3 - 347,0) y el ancho 113,3 μm (101,2 - 123,7); en *L. columbiana*, la longitud promedio es 335,4 μm (313,5 - 359,2) y el ancho 108,6 μm (87,5 - 150,7); en *L. evansi*, la longitud promedio es 311,9 μm (288,8 - 328,4) y el ancho 88,4 μm (72,6 - 108,4) (Sierra *et al.*, 2000). Para las setas caudales, el tamaño puede presentar variaciones en las larvas de primer instar entre especies de flebotominos y por lo tanto constituirse en un carácter morfológico que contribuya con la identificación de la especie. En este estudio se determinó que la longitud de las setas caudales fue semejante al tamaño del cuerpo de la larva, diferente a lo descrito en larvas recién nacidas de *P. wellcomei* (1080,0 - 1140,0 μm) y *L. shannoni* (800 - 1350 μm),

donde las setas son casi el doble del tamaño del cuerpo de las larvas (550 - 558 μm y 400 - 675 μm , respectivamente) (Ward, 1971; Ferro *et al.*, 1998).

Las descripciones disponibles en la literatura de los estadios inmaduros en flebotominos se han centrado principalmente en larvas y específicamente para larvas de IV estadio. Estudios sobre el desarrollo del huevo en vectores de leishmaniasis, son muy limitados. Ferro *et al.* (1987), realizaron la descripción de algunos de las formas inmaduras de *L. walkeri* (Newstead, 1914). Describieron la quetotaxia y el tamaño de larva de estadio IV y pupa. Para *L. shannoni*, se describieron detalles de la morfología de todos los estadios inmaduros (Ferro *et al.*, 1998).

El tiempo de desarrollo del estadio de huevo de *L. longipalpis* es menor comparado con otras especies de *Lutzomyia* como *L. spinicrassa*, *L. quasitownsendi* y *L. youngi* lo que coincide con lo registrado por Killick-Kendrick *et al.* (1977). Los resultados obtenidos en el presente trabajo colocan a disposición de la comunidad científica, información básica que permitirá realizar comparaciones morfológicas de estadios inmaduros (huevo y larva I) de *L. longipalpis*, considerando que este vector hace parte de un complejo de especies en América.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los señores Marco Fidel Suárez (INS) y Gilberto Torres (ULS), por su apoyo y asistencia en el mantenimiento de la colonia de *L. longipalpis* usada para el experimento.

Referencias

Alegret, J. 1989. La antropología marítima como campo de investigación de la antropología social. *Agricultura y Sociedad* 52: 119-142.

Ayala Quintero, R. 1980. Observaciones críticas sobre el sistema cooperativo. El caso de las cooperativas pesqueras. Facultad de Economía, Universidad Autónoma de México.

Broda, J. 1991. Cosmovisión y observación de la naturaleza: El ejemplo del culto a las colinas, el Arco Astronómico y la Etnoastronomía en Mesoamérica. *Serie de historia de la ciencia y la tecnología* 4: 461-500.

Boom, J. 1993. *Otras tribus, otros escribas: Antropología Simbólica en el estudio comparativo de culturas, historias, religiones y textos*. Fondo de Cultura

Económica, Ciudad de México.

Berger, P. 1987. *El dosel Sagrado. Para una teoría sociológica de la religión*. Editorial: Amorrortu Editores, Buenos Aires.

Brockmann, A. 2004. *La pesca indígena en México. Instituto de Investigaciones Antropológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F.*

Burke, P. 2000. *Formas de historia cultural*. Editorial Alianza, Madrid.

Cruz, J. 1996. *Mitos y realidades de la Pesca en México: una perspectiva social*. Universidad Autónoma de Tamaulipas, Tamaulipas.

De tezanos, A. y Ávila, R. 2002. *Una etnografía de la etnografía. Aproximaciones metodológicas para la enseñanza del enfoque cualitativo-interpretativo para la investigación social*. Antropos, Bogotá D.C.

Descola, P. 2012. *Más allá de naturaleza y cultura*. Amorrortu Editores, Buenos Aires.

Giménez, M. 2006. *Teoría y análisis de la cultura. Volumen I. México: Instituto Coahuilense de Cultura, Colección Interacciones (CONACULTA), México D.F.*

León - Portilla, M. 1992. Agua: universo de significados y realidades, Conocimiento mesoamericano. *Revista de Cultura Científica* 28: 7-14.

Mead, M. 1985. *Adolescencia, sexo y cultura en Samoa*. Ediciones Paidós, Barcelona.

Malinowski, B. 1948. *Los argonautas del Pacífico occidental*. Planeta-De Agostini S.A., Madrid.

Mateo, J. 2004. Personas que viven en el mar. La génesis y el desarrollo de una sociedad marítima y una comunidad pesquera. *Prohistoria: historia, políticas de la historia* 8: 59-86.

Reynoso, R. 2016. *Los Pescadores de Tamiahua, Veracruz: Cosmovisión y Existencia en el Mar*. Publicia, Veracruz.

O'connor, J. 1998. *Causas naturales. Ensayos de marxismo ecológico*. Fondo de Cultura Económica México D.F.

Thompson, P. 1984. La historia oral y el historiador. *Debats* 10: 52-56.

Taylor, S. y Bogdan, R. 1984. *Introducción a los métodos cualitativos de investigación*. Ediciones Paidós, Barcelona.

Vargas Pacheco, E. 1993. Sociedad y Naturaleza. Una aproximación al mundo maya a través de la

arqueología, la lingüística y las fuentes históricas. Vilches, R.1980. *La pesca prehispánica*. BANPESCA, *Perspectivas antropológicas en el mundo maya 2*: 363-372. México D.F.

Citar como: Melgarejo-Colmenares, J.K., López, R. y Cabrera-Quintero, O.L. 2019. Desarrollo embrionario de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae), bajo condiciones de laboratorio. 14(2): 195-199. Doi: <http://dx.doi.org/10.21676/23897864.3150>.