

RESPUESTA DE *Lutzomyia cruciata* (DIPTERA: PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE) A DIFERENTES LONGITUDES DE ONDA DE LUZ EN CONDICIONES DE LABORATORIO

✉ **Ana Karen Serrano-Domínguez, Oscar Fernando Mikery-Pacheco y Alfredo Castillo-Vera.**

Ecología de Artrópodos y Manejo de Plagas, El Colegio de la Frontera Sur, Carretera Antiguo Aeropuerto km 2.5, Tapachula, Chiapas, CP 30700, México.

✉ Correo: akserrano@ecosur.edu.mx

RESUMEN. La respuesta de *Lutzomyia cruciata* a diferentes longitudes de onda del espectro de luz visible fue evaluada al ofrecerle simultáneamente dos fuentes de luz a cada hembra: 1) tratamiento (14 distintas longitudes de onda entre 340 y 670nm) y 2) control (570nm). El espectro de luz, que incluye el color verde (540nm) y naranja (590nm), exhibió un pico en la atracción relativa en las hembras de *Lu. cruciata*. Estas variaciones en sus preferencias, indican que *Lu. cruciata* puede discriminar entre fuentes de luz visible con distinta longitud de onda, lo que permite deducir que esta especie posee una visión policromática. Su preferencia a la región verde-amarillo-naranja quizá le ofrezca una ventaja al desplazarse durante el atardecer, bajo la luz de la luna o de las estrellas, ya que es una especie con hábitos crepusculares-nocturnos. Estudios complementarios para determinar la preferencia de este insecto a diferentes intensidades y colores de la luz, bajo condiciones de campo, son requeridos. Los resultados obtenidos en este trabajo podrían ser usados como base para futuros estudios sobre monitoreo y control de poblaciones silvestres de *Lu. cruciata*.

Palabras Clave: *Lu. cruciata*, atracción, vector de leishmaniasis, longitud de onda de luz.

Response of *Lutzomyia cruciata* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) to different wavelengths of light in laboratory conditions

ABSTRACT. The response of females *Lu. cruciata* to different wavelengths of light spectrum was assessed by simultaneously offering two light sources each female: 1) treatment (14 different wavelengths between 340 and 670nm) and 2) control (570nm). The light spectrum, which includes the green (540nm) and orange (590nm) colors, showed a peak in the relative attractiveness in female *Lu. cruciata*. These variations in its preferences indicate that *Lu. cruciata* can discriminate between visible light sources with different wavelengths, leading to the conclusion that this species has a color vision. Its preference for green- yellow-orange region may offer to an advantage when traveling during sunset, under moonlight or starlight conditions, as it's a species with crepuscular-nocturnal habits. Additional studies to determine the preference of this insect at different intensities and colors of light, under field conditions, are required. The results obtained in this study could be used as a basis for future studies on monitoring and control of wild populations of *Lu. cruciata*.

Key words: *Lu. cruciata*, attraction, leishmaniasis vector, wavelengths of light.

INTRODUCCIÓN

El flebotomineo *Lutzomyia (Tricholateralis) cruciata* (Coquillet) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) transmite *Leishmania mexicana* Biagi (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), el agente causal de leishmaniasis cutánea (LC) en Centro América y en 22 estados de la República Mexicana (Sánchez-Tejeda *et al.*, 2001). Únicamente las hembras de flebotomineos se alimentan de la sangre de hospederos vertebrados para obtener proteínas y completar la maduración de los huevos y transmiten LC.

El proceso de búsqueda de hospedero por hembras de Phlebotominae es sin duda influenciado por los olores emitidos por machos conspecíficos (feromona sexual) y el hospedero propiamente (kairomonas) (Kelly y Dye, 1997), así como por factores físicos como la temperatura, humedad y talla del hospedero (Nigam y Ward, 1991; Quinell *et al.*, 1992). Sin embargo, la mayoría de insectos dípteros hematófagos también utilizan señales visuales para localizar a su hospedero. La sensibilidad espectral les permite reconocer formas, tallas, contrastes, color y la velocidad de movimiento de un hospedero potencial (Gibson y Torr, 1999). Aunque los insectos crepusculares a nocturnos tienen un mayor poder de captación de luz que las especies diurnas, exhiben limitada resolución, pero son capaces de guiarse a través de la luz de la luna o de las estrellas (Land *et al.*, 1997; Bidlingmayer, 1994). La atracción hacia objetivos coloreados se ha demostrado en algunas especies de dípteros de la familia Glossinidae (Mellor *et al.*, 1996).

Los flebotomíneos son insectos de crepusculares a nocturnos cuya actividad es probablemente desencadenada por la reducción de la intensidad de luz (Chanotis *et al.*, 1971). Mellor y Hamilton (2003) mencionan la importancia de la visión para estos insectos en la orientación de las hembras hacia el hospedero, mediante la creación de mapas de familiarización, un aspecto escasamente estudiado en Phlebotominae. Se ha indicado que la sensibilidad espectral de *Lu. longipalpis* es comparable a la reportada en otros dípteros hematófagos diurnos como *Glossina morsitans*, con capacidad de discriminación entre diferentes longitudes de onda en diferentes intensidades, sugiriendo una visión a color (Mellor *et al.*, 1996; Mellor y Hamilton, 2003). Por su parte, las trampas cebadas con luz ultravioleta (UV) y roja han incrementado las capturas de flebotomíneos en campo (Hoel *et al.*, 2007; Jeraldo *et al.*, 2012). Dada la importancia de la visión en la biología y ecología de flebotomíneos, este estudio tiene el objetivo de determinar la longitud de onda de la luz visible más atractiva para hembras de *Lu. cruciata* en condiciones de laboratorio, y establecer las bases para futuros estudios sobre monitoreo y/o control de poblaciones silvestres de esta especie.

MATERIALES Y MÉTODO

Flebotomíneos. Hembras silvestres de *Lu. cruciata* fueron utilizadas en esta investigación. Estas fueron capturadas en el área arbolada propiedad del Instituto Tecnológico de Tapachula (ITT) localizado en la zona urbana a 160 msnm (14°53'10.02''N 92°16'36.20''O) con una trampa Shannon modificada por Pérez *et al.* (1988) sujeta a los árboles aledaños para suspenderla a 30-50cm del suelo, usando cebos humanos (protegidos de las picaduras de insectos hematófagos) dentro de la trampa. Los especímenes ingresan a la trampa por la parte inferior (espacio entre el suelo y la trampa) y posteriormente se posan en las paredes de la misma, donde fueron recolectados empleando un aspirador entomológico e introducidos en botes de policarbono (Nalgene®) con fondo de yeso húmedo para su traslado al insectario. Las hembras fueron recolectadas durante la noche (19-21 h). Se asumió que el total de hembras capturadas en este sitio y con el mismo tipo de trampa pertenecen a la especie *Lu. cruciata* (Mikery *et al.*, 2015). Las hembras se mantuvieron dentro de los botes descritos anteriormente y puestas a 27±2°C (75±5% de HR (Humedad Relativa) y fotoperiodo de 12:12 L:O (Luz: Oscuridad) y se les proporcionó un algodón humedecido con una solución de miel al 40%, colocado en la parte superior del bote.

Bioensayo. La respuesta comportamental de hembras silvestres de *Lu. cruciata* se evaluó en una prueba de doble elección, exponiendo al insecto a dos diferentes longitudes de onda de la misma intensidad en un olfatómetro tipo "T". El olfatómetro consistió de un tubo de vidrio en

forma de “T” de 20mm de diámetro interno. El brazo principal del aparato tenía una longitud de 300 mm con un brazo central de 50mm de largo en un ángulo de 90° (Fig. 1). La cámara de selección fue colocada en una base de madera. Un filtro de paso de banda de 20nm (Andover Corp., NH) fue colocado en cada extremo del brazo principal. La luz fue proporcionada por dos iluminadores con fibra óptica (Fiber-Lite PL-750, Dolan-Jenner Industries, MA), una en cada extremo, equipado con una lámpara halógena de 150W (Osram, Ciudad de México). Los bioensayos se realizaron en un cuarto oscuro y las únicas fuentes de luz consistieron de las dos fuentes de luz en cada extremo del brazo principal.

En cada bioensayo, un extremo de la cámara fue iluminado con una longitud de onda control (570nm), para el cual muchos insectos poseen fotoreceptores (Briscoe y Chittka, 2001), y en el otro por una de las 14 longitudes de onda entre 340-670nm, seleccionadas al azar. Un hembra fue seleccionada al azar y fue introducida en el brazo central del olfatómetro, el cual fue sellado con una mota de algodón y los laterales con una película plástica hialina (Great Value, Mexico City). Posteriormente, se apagaron las luces y se cubrió el olfatómetro con una caja negra (Fig. 1). Después de 5 minutos, se registró la posición del insecto en el interior del olfatómetro. La posición del filtro se cambió cada cinco repeticiones y la posición del olfatómetro entre cada repetición para eliminar el posible sesgo de posición. En total, se evaluaron 20 hembras por cada longitud de onda. Los insectos fueron usados solo una vez. Todos los experimentos se hicieron en un cuarto de bioensayos con temperatura y humedad relativa de $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ y $75\pm 5\%$ respectivamente.

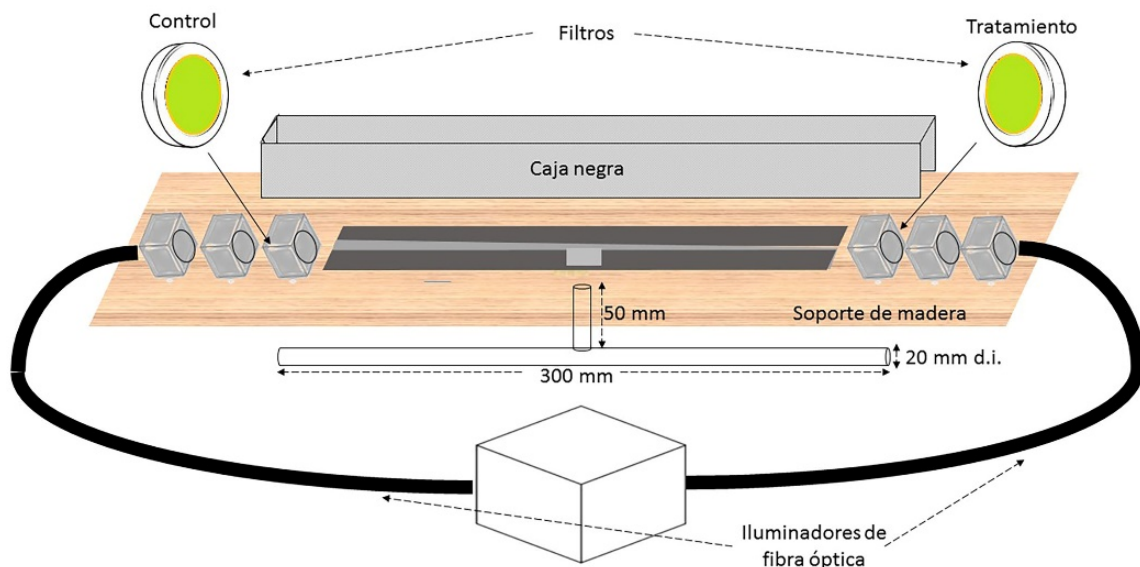


Figura 1. Diagrama del aparato usado para medir; la atracción y discriminación entre las longitudes de onda del tratamiento y control.

Análisis estadístico. La respuesta de las hembras de *Lu. cruciata* a las diferentes longitudes de onda y control fueron analizados con una prueba de bondad de ajuste (prueba *G*) con corrección de Williams (Sokal y Rohlf, 1995).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En general, los insectos son sensibles a un amplio espectro de luz, desde ultravioleta (UV) a rojo. Su sensibilidad a los colores juega un papel importante para poder realizar sus actividades

de forrajeo, orientación, selección de pareja y hospedero. Sin embargo, este es un tema poco investigado en insectos que son activos con luz nocturna o crepuscular, como es el caso de *Lu. cruciata*. En el presente estudio se observó que la atracción relativa de las hembras de *Lu. cruciata* hacia la luz visible muestra un pico entre 590, 540 y 490nm (figura 2), sin que estas sean estadísticamente distintas al resto de las longitudes de onda evaluadas (Cuadro 1). Similarmente, Mellor *et al.* (1996) reportó mayor sensibilidad de las hembra de *Lu. longipalpis* a 520, 546 y 570nm rango de luz. Por otra parte, la curva de atracción relativa exhibida por las hembras de *Lu. cruciata* muestra un decaimiento en el rango de 340 a 460nm. La preferencia de las hembras hacia esas longitudes de onda indica su importancia ecológica durante la noche.

Cuadro 1. Respuesta comportamental de hembras silvestres de *Lu. cruciata* a luz de diferentes longitudes de onda comparado con una longitud de onda control de 570 nm bajo condiciones de laboratorio.

Color	Longitud de onda (nm)	G	P
Ultravioleta	340	4.878	0.027
	350	3.122	0.077
	370	4.878	0.027
	380	9.561	0.001
Violeta	400	4.878	0.027
	420	3.122	0.077
Azul	460	7.024	0.008
	490	0.00E	1
Verde	520	0.78	0.377
	540	3.122	0.077
Naranja	590	1.756	0.185
	640	4.878	0.027
Rojo	650	3.122	0.077
	670	3.122	0.077

El patrón de respuesta de *Lu. cruciata* hacia las diferentes longitudes de onda es similar al reportado para *Lu. longipalpis*, con excepción del pico de respuesta en 340 y 350nm (Mellor *et al.*, 1996) (Fig. 2), los picos de sensibilidad y el efecto de la intensidad indican que más de un fotorreceptor está involucrado en la respuesta (Mellor y Hamilton, 2003). Los insectos del orden Diptera generalmente poseen tres tipos de receptores en cada omatidio que proporcionan una visión tricromática, sin embargo, en flebotomíneos no hay evidencia de un tercer pico de sensibilidad (Mellor y Hamilton, 2003). Las señales tricromáticas son útiles para el insecto durante el comportamiento de oviposición, búsqueda de hospedero, polinización, detección de objetos, patrones de reconocimiento y visión de movimiento.

La no significancia estadística en nuestros datos pudo deberse a la longitud de onda usada como control (570nm), ya que Mellor y colaboradores (1996) y Mellor y Hamilton (2003) reportaron que esta longitud de onda se encuentra dentro del rango de sensibilidad espectral y de mayor porcentaje de respuesta en bioensayos con *Lu. longipalpis* en laboratorio. Estos autores usaron como control a 400nm porque fue la longitud de onda que registró menos sensibilidad en *Lu. longipalpis* (Mellor *et al.*, 1996).

La respuesta comportamental de las hembras de *Lu. cruciata* hacia las longitudes de onda evaluadas es similar a lo reportado en otros Dípteros hematófagos como la mosca tsetse *Glossina morsitans* (Green y Cosens, 1983) y el culícido *Aedes aegypti* (Muir *et al.*, 1992). Por otra parte,

las pruebas en campo de trampas cebadas con luz de diferente longitud de onda han resultado efectivas para la captura de *Lu. shannoni* y *Lu. vexator* en trampas con luz roja y azul-verde-amarillo respectivamente (Mann *et al.*, 2009); trampas con luz roja incrementaron las capturas de *Phlebotomus papatasi* (Hoel *et al.*, 2007); trampas con luz UV incrementaron las capturas de *Lu. longipalpis* (Jeraldo *et al.*, 2012); y en las especies *Lu. intermedia*, *Lu. whitmani* y *Lu. verrucarum* únicamente se ha descrito su fototaxis positiva (Davies *et al.*, 1995; Dos Santos *et al.*, 2003).

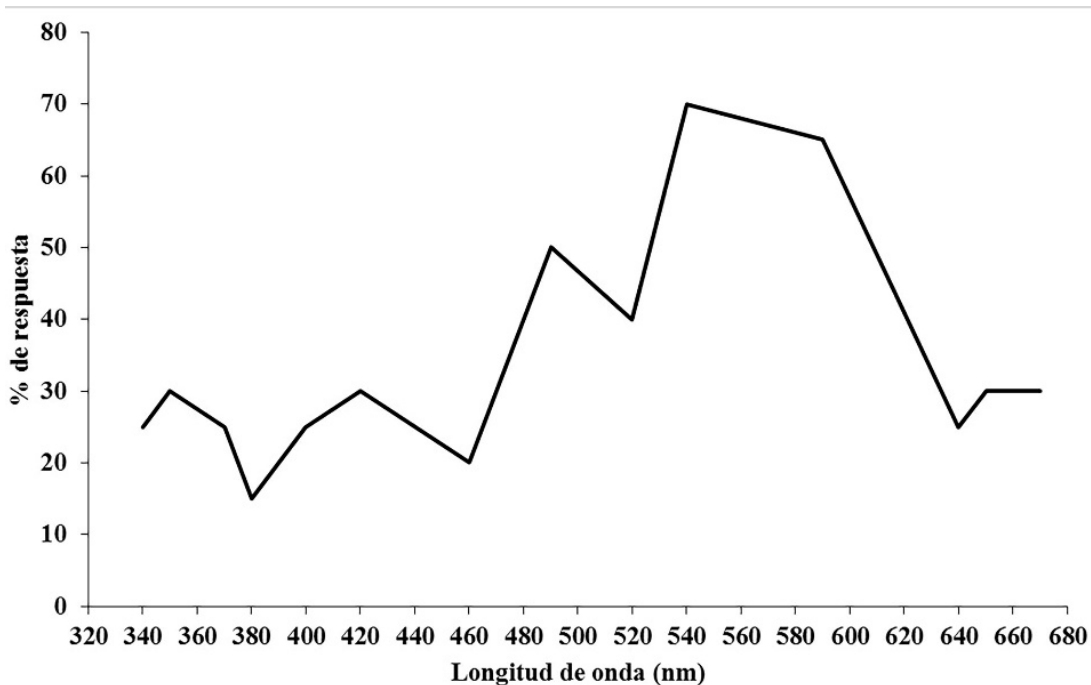


Figura 2. Porcentaje de respuesta de hembras de *Lutzomyia cruciata* a cada longitud de onda evaluada desde 340 a 670nm.

El uso de trampas de luz en campo es muy útil por su practicidad, disminución del riesgo de infección de humanos durante la vigilancia de flebotomíneos, determinación de la abundancia y diversidad de flebotomíneos (Alexander, 2000; Davies *et al.*, 1995). Sin embargo, utilizan bulbos de luz con un filamento de tungsteno como su fuente de luz y transmite un rango de longitudes que contienen pequeñas cantidades de UV, grandes cantidades de amarillo-rojo y cerca del 75% se encuentra en la región de infra-rojo (Service, 1993), lo cual incrementa la selectividad porque algunas especies de flebotomíneos son insensibles a esta luz y nunca o rara vez entran a estas trampas (Chanotis, 1978). Las capturas de hembras de *Lu. cruciata* con trampas de luz tipo CDC son muy bajas (Pérez *et al.*, 2014), probablemente porque son insensibles al tipo de luz ofrecida. Los datos de este estudio sugieren que las trampas de luz CDC pueden ser mejoradas.

CONCLUSIONES

El principal hallazgo de este estudio es que *Lu. cruciata* es atraída por luz de la región verde-amarillo-naranja del espectro de luz visible. Aunque hace falta la realización de experimentos en laboratorio para determinar si *Lu. cruciata* también puede discriminar entre

diferentes intensidades de luz, así como comparar en campo la eficiencia de trampas tipo CDC cebada con luz de diferentes regiones del espectro.

AGRADECIMIENTOS

Al personal del laboratorio de ecología química de insectos por permitirnos realizar los experimentos en el cuarto de bioensayos. A los M. en C. Hernán Villatoro Moreno y Erik de Jesús Solórzano Gordillo por el apoyo en el trabajo de campo. Al Instituto Tecnológico de Tapachula por permitirnos realizar las capturas de insectos en su propiedad.

LITERATURA CITADA

- Alexander, B. 2000. Sampling methods for phlebotomine sandflies. *Med. Vet. Entomol.*, 14: 109-122.
- Bidlingmayer, W.L. 1994. How mosquitoes see traps: the role of visual responses. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 10: 272-279.
- Briscoe, A. D. y L. Chittka. 2001. The evolution of color vision in insects. *Ann. Rev. Entomol.*, 46: 471-510.
- Chaniotis, B.N. 1978. Phlebotomine sandflies (family Psychodidae). Surveillance and collection of arthropods of veterinary importance. Agriculture handbook, No. 518. Veterinary Services, Animal and Plant Health Inspection Service US Department of Agriculture. 19-30 pp.
- Chaniotis, B.N., Correa, M.A., Tesh, R.B. y K.M. Johnson. 1971. Daily and seasonal man-biting activity of phlebotomine sandflies in Panama. *Med. Vet. Entomol.*, 8: 415-420.
- Dos Santos, T.C., Gaia, M.C.M. y R.P. Brazil. 2003. Attraction of sand flies (Diptera: Psychodidae) to light traps in rural areas of Minas Gerais state, Brazil. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 19:74-78.
- Gibson, G. y S.J. Torr. 1999. Visual and olfactory responses of haematophagous Diptera to host stimuli. *Med. Vet. Entomol.*, 13: 2-23.
- Hoel, D.E., Butler, J.E., Fawaz, E.Y., Watany, N., El-Hossary, S.S. y J. Villinski. 2007. Response of phlebotomine sand flies to light-emitting diode-modified light traps in southern Egypt. *J. Vector Ecol.*, 32:302-308.
- Green, C.H. y D. Cosens. 1983. Spectral responses of the tsetse fly, *Glossina morsitans morsitans*. *J. Insect Physiol.*, 29: 795-800.
- Jeraldo, V.L.S., Casanova, C., Araújo, E.D., Cruz, D.E.R., Pinto, M.C. y C.M. Melo. 2012. Type of light in sand fly captures (Diptera: Psychodidae). *Acta biol. Colomb.*, 17: 675-678.
- Kelly, D.W. y C. Dye. 1997. Pheromones, kairomones and the aggregation dynamics of the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. *Anim. Behav.*, 53: 721-731.
- Land, M.F., Gibson, G. y J. Horwood. 1997. Mosquito eye design: conical rhabdoms are matched to wide aperture lenses. *Proc. R. Soc. London B*, 264:1183-1187.
- Mann, R.S., Kaufman, P.E. y J.F. Butler. 2009. *Lutzomyia* spp. (Diptera: Psychodidae) Response to Olfactory Attractant and Light Emitting Diode-Modified Mosquito Magnet X (MM-X) Traps. *J. Med. Entomol.*, 46: 1052-1061.
- Mellor, H.E., Anderson, M. y J.G.C. Hamilton. 1996. Spectral sensitivity in the eyes of male and female *Lutzomyia longipalpis* sandflies. *Med. Vet. Entomol.*, 10: 371-374.
- Mellor, H.E. y J.G.C. Hamilton. 2003. Navigation of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) under dusk or starlight conditions. *Bull. Entomol. Res.*, 93: 315-322.

- Mikery, P.O.F., Rojas, L.J.C., Rebollar-Téllez, E.A. y V.A. Castillo. 2015. Sandfly (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) species diversity in an urban area of the municipality of Tapachula, Chiapas, Mexico. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 110: 142-144.
- Muir, L.E., Thorne, M.J. y B.H. Kay. 1992. *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) vision: spectral sensitivity and other perceptual parameters of the female eye. *J. Med. Entomol.*, 29:278-281.
- Nigam, Y. y R.D. Ward. 1991. The effect of male sandfly pheromone and host factors as attractants for female *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *Physiol. Entomol.*, 16: 305-312.
- Pérez, J., Virgen, A., Rojas, J.C., Rebollar-Téllez, E.A., Castillo, A., Infante, F., Mikery, O., Marina, C.F. y S. Ibáñez-Bernal. 2014. Species composition and seasonal abundance of sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in coffee agroecosystems. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 109: 80-86.
- Pérez, J.E., Villaseca, P., Llanos-Cuentas, A., Campos, M. y H. Guerra. 1988. Técnicas para recolectar "titiras" (*Lutzomyia* spp., Diptera: Psychodidae) en ambientes altoandinos peruanos. *Rev. Per. Entomol.*, 30: 77-80.
- Quinnell, R.J., Dye, C. y J.J. Shaw. 1992. Host preferences of the phlebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Amazonian Brazil. *Med. Vet. Entomol.*, 6: 195-200.
- Sanchez-Tejeda, G., Rodríguez, N., Parra, C.I., Hernandez-Montes, O., Barker, D.C. y A. Monroy-Ostria. 2001. Cutaneous leishmaniasis caused by members of *Leishmania braziliensis* complex in Nayarit, state of Mexico. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 96: 15-19.
- Service, M.W. 1993. Mosquito ecology: field sampling methods. Elsevier Science Publishers, Barking, UK. 988 pp.
- Sokal, M.R. y F.J. Rohlf. 1995. Biometry. Freeman: New York. 937 pp.