



(Tablas de vida y ciclo gonotrófico de *Lutzomyia longiflocosa*
(Diptera:Psychodidae) en Campoalegre, Huila.)

Miguel Ángel Beltrán Ruiz

Tesis de investigación presentada como requisito parcial para optar por el título de:

Magister en Ciencias Biológicas

Director

Jesús Eduardo Escobar Castro, MSc, Ph.D.

Co-Directora

Ligia Inés Moncada Álvarez, MSc.

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Biología
Bogotá D.C., Colombia
2022

Nota de aceptación:



Firma del director



Firma del co-director

Bogotá D.C., enero 2023.

Dedicatoria

A mis padres Edward Beltrán y Jacqueline Ruiz por su confianza en mí.

A mis hermanos Adriana y Sergio por su ayuda incondicional.

A mis colegas, por apoyarme en esta etapa de formación.

A los que ya no están[†], por su formación en valores y principios.

Han sido mi motivación, inspiración y alegría. Gracias por brindarme su ayuda y confianza para lograr mis metas, además por ser ejemplo de perseverancia y solidaridad con los más necesitados.

“La vida cobra sentido cuando se hace de ella una aspiración a no renunciar a nada”. Ortega y Gasset.

Agradecimientos

Mis más sinceros agradecimientos a,

A la Escuela de Ciencias Básicas y Aplicadas de la Universidad de la Salle, institución que me ha permitido el desarrollo de esta investigación en sus instalaciones, además me ha brindado su apoyo en la realización de este estudio el cual busca aportar al conocimiento sobre un grupo de insectos que afecta a las poblaciones de humanos más vulnerables del país.

Por la financiación de este estudio a la Universidad de la Salle, el Instituto Nacional de Salud y al Ministerio de Ciencias - “Minciencias”, “proyecto 860-2018”.

A Minciencias por su apoyo en mi formación profesional de magister.

A la Universidad Nacional de Colombia, más específicamente al programa de maestría en ciencias biológicas por brindarme y contribuir en mi formación académica en este nivel de estudios.

Al Dr. Jesús Eduardo Escobar Castro, por su valiosa asesoría, soporte y tiempo dedicado en el desarrollo de esta investigación.

A la bióloga Ligia Inés Moncada Álvarez, MSc, por sus sugerencias desde el inicio del proceso de formación, por su colaboración, seguimiento del proyecto y por sus recomendaciones para el cumplimiento oportuno de los requisitos.

A la Dra. Gelys Igreth Mestre Carrillo, por su apoyo, confianza y por recibirme como integrante en este proyecto de investigación.

A la bióloga Jennifer Alejandra Vargas Durango, por sus enseñanzas en este grupo de organismos, por su apoyo incondicional en laboratorio, en campo y por sus palabras de aliento.

Al Dr. Jorge Eduardo Rabinovich, por su ayuda en el análisis experimental de las tablas de vida metodología MPO.

Al Dr. Carlos Moisés Hernández Suárez por su guía en el análisis experimental de las tablas de vida metodología MPO.

Al laboratorista Marco Fidel Suárez del Instituto Nacional de Salud, por su ayuda y sus consejos sobre la cría, alimentación y mantenimiento de colonias de *Lutzomyia*.

En el departamento del Huila a la familia Hernández Rocha, en especial a Reinaldo Hernández, por su gentileza, hospitalidad y acogimiento en el transcurso del trabajo en campo, muchas gracias.

A mis colegas biólogos y profesionales de las ciencias naturales, por su amistad, ser ejemplo de disciplina, perseverancia, pasión en la valiosa labor de estudiar los seres vivos y/o sus componentes en un tiempo que se pone en riesgo la integridad del planeta tierra.

A mis colegas profesionales de las ciencias de la salud, por su amistad, por trabajar en conjunto en la inestimable labor de atender los retos en el sector de la salud.

A mis compañeros de la Universidad Nacional de Colombia, por su valiosa asesoría y apoyo.

A mis estudiantes de la asignatura de biología 2022-1 de la Universidad Nacional de Colombia, por recordarme la pasión, motivación necesaria para seguir esforzándose por los sueños.

Al departamento de estadística de la Universidad Nacional de Colombia, por su apoyo en el análisis experimental del ciclo de vida.

A mis compañeros de la Universidad de la Salle, por su ayuda académica y emocional.

A los asistentes del II Congreso de la Sociedad Latinoamericana de Ecología de Vectores, La Plata, Argentina, por sus valiosas recomendaciones.

Nuevamente gracias a todas aquellas personas que contribuyeron a mi formación profesional como a mi formación personal puesto que sin ellas no hubiera podido desarrollar este proyecto de mi vida.

GRACIAS.

Resumen:

(Tablas de vida y ciclo gonotrófico de *Lutzomyia longiflocosa* (Diptera:Psychodidae) en Campoalegre, Huila.)

Los flebótomos son un grupo de insectos de gran importancia en salud pública, dada su capacidad de transmisión de patógenos, como lo es *Leishmania spp.* En Colombia, *Lutzomyia longiflocosa* se considera el vector más probable de los brotes de Leishmaniasis Cutánea LC en los departamentos de Norte de Santander, Huila y Tolima. Sin embargo, se desconocen varios aspectos de su biología que afectan directamente su capacidad vectorial, por lo tanto, es necesario conocer las características inherentes de su ciclo de vida para realizar modelos de predicción, prevención y control vectorial más eficientes frente a futuros brotes de la enfermedad. En este estudio se determinaron las tablas de vida de *Lu. longiflocosa* en tres fases, dos en condiciones de semicampo en Campoalegre, Huila, Colombia y una fase en laboratorio; la investigación se realizó utilizando tres cohortes de 100 individuos distribuidos en tres fases, en la fase de sequía (semicampo 1), fase de lluvias (semicampo 2) y fase de condiciones controladas (laboratorio) entre 2020 y 2021. Los flebótomos fueron recolectados utilizando una trampa Shannon entre las 18:00h-24:00h, luego fueron transferidos a una jaula para flebótomos, después fueron alimentados con la ayuda de un hámster anestesiado; más tarde fueron transferidos a recipientes de plástico, luego se organizaron los recipientes en una nevera de icopor, y se determinó el ciclo de vida registrando los parámetros de vida y realizando tablas de vida por cada fase muestreada. Los resultados para las fases semicampo 1, semicampo 2 y laboratorio muestran una alta mortalidad en el estadio de huevo con valores del 0.35%, 0.23% y 0.50% respectivamente. Por otro lado, el ciclo (semicampo 2) mostró una mayor mortalidad en los estadios de huevo, larva 1 y larva 2 en contraste con el ciclo (semicampo 1) con valores de 0.23%, 0.40% y 0.26%, respectivamente; además, el instar con menor mortalidad fue el de pupa con valores de 0.5%, 0.2% y 0.07% para cada fase respectivamente. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas de la duración del ciclo de vida en las fases muestreadas, pero, el estadio de larva 4 mostró la mayor duración de 40 días mientras tanto el estadio adulto mostró la menor duración de 6 días. El ciclo gonotrófico fue de 9, 11 12 días respectivamente. Finalmente, El número reproductivo básico (R_0) tuvo valores de 10.03, 4.3 y 4.7 respectivamente. Esta investigación representa una aproximación a las características del ciclo de vida *Lu. longiflocosa* en condiciones de semicampo y de laboratorio, se sugiere estudiar la asociación del ciclo de vida con las condiciones abióticas rezagadas, es decir, considerando los meses anteriores.

Palabras clave: Ciclo-de-vida, tablas-de-vida, *Lutzomyia-longiflocosa*, ciclo-gonotrófico, flebótomos.

Abstract:

(Life tables and gonotrophic cycle of *Lutzomyia longiflocosa* (Diptera:Psychodidae) in Campoalegre, Huila).

Phlebotomine sand flies are a group of insects of great importance in public health, given their ability to transmit pathogens, such as *Leishmania spp.* In Colombia, *Lutzomyia longiflocosa* is considered the most likely vector of cutaneous leishmaniasis CL outbreaks in the departments of Norte de Santander, Huila and Tolima. However, several aspects of its biology that directly affect its vectorial capacity are unknown; therefore, it is necessary to know the inherent characteristics of its life cycle in order to develop more efficient prediction, prevention and vectorial control models for future outbreaks of the disease. In this study, the life tables of *Lu. longiflocosa* were determined in three phases, two in semifield conditions in Campoalegre, Huila, Colombia and one phase in the laboratory; the research was conducted using three cohorts of 100 individuals distributed in three phases, in the drought phase (semifield 1), rainy phase (semifield 2) and controlled conditions phase (laboratory) between 2020 and 2021. The sandflies were collected using a Shannon trap between 18:00h-24:00h, then transferred to a cage for sandflies, then fed with the help of an anesthetized hamster, later transferred to plastic containers, then the containers were organized in an styrofoam cooler, and the life cycle was determined by recording the life parameters and making life tables for each sampled phase. The results for the semifield 1, semifield 2 and laboratory phases show a high mortality in the egg stage with values of 0.35%, 0.23% and 0.50%, respectively. On the other hand, the cycle (semifield 2) showed higher mortality in the egg, larva 1 and larva 2 stages in contrast to the cycle (semifield 1) with values of 0.23%, 0.40% and 0.26%, respectively; in addition, the instar with the lowest mortality was the pupa stage with values of 0.5%, 0.2% and 0.07% for each phase, respectively. No statistically significant differences were found in the duration of the life cycle in the sampled stages, but larval stage 4 showed the longest duration of 40 days while the adult stage showed the shortest duration of 6 days. The gonotrophic cycle was 9, 11 and 12 days respectively. Finally, the basic reproductive number (R_0) had values of 10.03, 4.3 and 4.7 respectively. This research represents an approximation to the characteristics of the *Lu. longiflocosa* life cycle in semifield and laboratory conditions, it is suggested to study the association of the life cycle with lagged abiotic conditions, that is considering the previous months.

Key words: Life-cycle, life-table, *Lutzomyia-longiflocosa*, gonotrophic-cycle, phlebotomies.

Tabla de contenido

Dedicatoria.....	2
Agradecimientos.....	3
Resumen:	5
Abstract:	6
Lista de figuras	11
Lista de tablas	13
Abreviaturas.....	14
1. Marco teórico.....	15
1.1 Leishmaniasis	15
1.1.1 Leishmaniasis en el mundo.....	15
1.1.2 Manifestación clínica de la Leishmaniasis	15
1.1.2.1 Leishmaniasis visceral LV	16
1.1.2.2 Leishmaniasis mucosa LM.....	16
1.1.2.3 Leishmaniasis cutánea LC.....	17
1.1.3 Leishmaniasis en Colombia.....	18
1.1.4 Leishmaniasis cutánea en Colombia.....	19
1.1.5 Agente etiológico.....	19
1.2 Flebótomos	20
1.2.1 Flebótomos y <i>Leishmania</i>	20
1.2.2 Flebótomos en Colombia.....	20
1.2.4 Ciclo de vida	22
1.2.5 Morfología	23
1.2.5.1 Huevo	23
1.2.5.2 Larva.....	23
1.2.5.3 Pupa.....	24
1.2.5.4 Adulto.....	25
1.3 Taxonomía.....	26
1.3.1 Clasificación taxonómica de Phlebotominae.....	26
1.3.2 Clasificación taxonómica de <i>Lutzomyia longiflocosa</i> o <i>Pifanomyia longiflocosa</i> ..	27
1.4 Ecología o bionomía.....	27
1.4.1 Tablas de vida	27

1.4.1.1	Tabla de vida vertical	28
1.4.1.2	Tabla de vida horizontal.....	28
1.4.2	Elementos principales de una tabla de vida	28
1.4.3	Curva de supervivencia.....	29
1.4.4	Ciclo gonotrófico	30
1.4.4.1	Ciclo gonotrófico de <i>Lutzomyia</i>	30
1.5	Antecedentes.....	31
2	Justificación	31
3.	Objetivo general	33
3.1	Objetivos específicos.....	33
4	Metodología.....	33
4.1	Fase de campo	33
4.1.1	Área de estudio	33
4.1.2	Selección de puntos de muestreo	34
4.1.3	Datos climatológicos.....	34
4.1.4	Toma de datos ciclo de vida semicampo	35
4.1.5	Toma de muestra.....	36
4.1.6	Ciclo de vida condiciones de semicampo	36
4.1.7	Ciclo gonotrófico	37
4.2	Fase de laboratorio.....	37
4.2.1	Toma de datos ciclo de vida laboratorio.....	37
4.2.2	Ciclo de vida condiciones de laboratorio.....	37
4.2.3	Criterios para diferenciar los estadios larvales	38
4.2.4	Identificación de adultos <i>Lu. longiflocosa</i>	38
4.3	Diseño experimental	39
4.3.1	Jaulas.....	39
4.3.2	Recipientes de cría y neveras de icopor	39
4.3.3	Alimentación de larvas	39
4.3.4	Transferencia de los flebótomos emergidos de la F1.....	39
4.3.4	Alimentación de adultos	40
4.4	Análisis estadístico	40
3.4.1	Software estadísticos.....	40

4.4.2 Condiciones ambientales	40
4.5 Análisis de datos.....	40
4.5.1 Ciclo de vida:	40
4.5.2 Atributos del desarrollo	40
4.5.3 Parámetros de las tablas de vida, LHP.....	41
4.5.3.1. Metodología FIFO.....	41
4.5.3.2 Metodología MPM	41
4.5.4 Ciclo gonotrófico	42
5. Resultados.....	43
5.1 Condiciones ambientales y de laboratorio.....	43
5.1.1 Condiciones ambientales	43
5.1.2 Condiciones de laboratorio	43
5.2 Ciclo de vida de <i>Lu. longiflocosa</i>	46
5.2.1 Fases del ciclo de vida de <i>Lu. longiflocosa</i>	46
5.2.1.1 Huevo	46
5.2.1.2 Larva.....	46
5.2.1.3 Pupa.....	47
5.2.1.4 Adulto.....	47
5.2.2 Promedio ponderado del periodo del ciclo de vida.....	48
5.2.3 Atributos de desarrollo.....	49
5.3 Tablas de vida de <i>Lu. longiflocosa</i>	50
5.3.1 Metodología FIFO	50
5.3.1.1 Curva de supervivencia	51
5.3.1.2 Tasa de mortalidad	51
5.3.1.3 Expectativa de vida	52
5.3.2 Metodología MPM.....	53
5.4 Ciclo gonotrófico.....	53
5.4.1 Ciclo gonotrófico	53
5.4.2 Fertilidad y fecundidad del ciclo gonotrófico.....	54
6. Discusión	55
7. Conclusiones.....	59
8. Recomendaciones	59

9. Componente ético	60
10. Bibliografía.....	60
11. Anexos	67
11.1 Promedio de la temperatura (°C) y la humedad (HR) en semicampo 1, semicampo 2 y laboratorio.....	68
11.2 Descriptivos del ciclo de vida de <i>Lutzomyia longiflocosa</i> metodología FIFO.....	68
11.3 Formato seguimiento ciclo de vida.....	69
11.4 Formato seguimiento longevidad adultos F1	70
11.5 Formato seguimiento longitud de los estadios	71
11.6 Formato seguimiento ciclo gonotrófico.....	72
11.7 Promedio del ciclo gonotrófico en las diferentes fases de <i>Lutzomyia longiflocosa</i>	73

Lista de figuras

Figura 1: Distribución geográfica de la leishmaniasis endémica.....	15
Figura 2: Paciente con LV.....	16
Figura 3: Paciente con LM.....	16
Figura 4: Paciente con LC.....	17
Figura 5: Ciclo de vida de <i>Leishmania</i>	19
Figura 6: Esquema del ciclo de vida de <i>Lutzomyia</i> . a) huevo, b) larva, c) pupa, d) adulto.....	22
Figura 7: Huevo de <i>Lutzomyia</i>	23
Figura 8: Larva de cuarto estadio de <i>Lutzomyia</i>	23
Figura 9: Pupa de <i>Lutzomyia</i>	24
Figura 10: Apariencia general de un adulto de <i>Lutzomyia</i> . a) vista lateral de un adulto, b) detalle de la cabeza.....	25
Figura 11: Esquema de la genitalia masculina de las especies de <i>Lutzomyia</i> del grupo <i>verrucarum</i> , series <i>verrucarum</i> , <i>serrana</i> , <i>townsendi</i> y <i>pia</i>	26
Figura 12: Esquema de la genitalia de <i>Lu. longiflocosa</i> , a) genitalia del macho, b) bomba y filamentos, c) espermoteca.....	27
Figura 13: Esquema de los diferentes tipos de curva de supervivencia, a) humanos, b) aves, c) arboles.....	30
Figura 14: Área de estudio; A) Colombia y departamento del Huila, B) Departamento del Huila y municipio de Campoalegre, C) Municipio de Campoalegre, vereda Venecia y punto de muestreo.....	34
Figura 15: Estación meteorológica y sitio de trabajo en campo.....	34
Figura 16: Puesto de trabajo. A) vista externa del sitio de trabajo, B) neveras de icopor con vasos de cría. C) neveras de icopor tapadas con malla de plástico y suspendidas con cuerda fina.....	36
Figura 17: Insectario A) vista externa del insectario B) nevera de icopor con vasos de cría, C) jaula para contención de flebótomos.....	37
Figura 18: Procedimiento de aclaración química de flebótomos para su identificación taxonómica. A) hembra parental en vial de vidrio con etanol e información de colecta, B) transferencia del flebótomo a crisol de porcelana, C) adición de KOH y calentamiento, D) adición de fenol y reposo durante 24h, E) apariencia del flebótomo hembra bajo estereoscopio, F) espermoteca de una hembra de <i>Lu. longiflocosa</i> bajo un lente de 40x en microscopio.....	39

Figura 19: Esquema MPM del ciclo de vida de <i>Lutzmoyia</i>	42
Figura 20: Ombrotérmico desde febrero 2020 hasta enero 2021 de la vereda Venecia, Campoalegre, Huila, Colombia.....	43
Figura 21: Temperatura media en las diferentes fases	44
Figura 22: Humedad relativa media en las diferentes fases	45
Figura 23: Precipitación en las diferentes fases	46
Figura 24: Ciclo de vida de <i>Lu. longiflocosa</i> , a) huevo, b) larva “4 instares”, c) pupa, d) adulto.....	47
Figura 25: Promedio ponderado del periodo de ciclo de vida de <i>Lu. longiflocosa</i> por estadios pre-reproductivos y reproductivos en las diferentes fases. H: Huevo, L1: Larva 1, L2: Larva 2, L3: Larva 3, L4: Larva 4, P: Pupa, A: Adulto.....	49
Figura 26: Curva de supervivencia de <i>Lu. longiflocosa</i> en las diferentes fases. A) Curva de supervivencia por estadio, H: Huevo, L1: Larva 1, L2: Larva 2, L3: Larva 3, L4: Larva 4, P: Pupa, A: Adulto; B) Curva de supervivencia por semana.....	51
Figura 27: Tasa de mortalidad de <i>Lu. longiflocosa</i> en los diferentes periodos por estadio. H: Huevo, L1: Larva 1, L2: Larva 2, L3: Larva 3, L4: Larva 4, P: Pupa, A: Adulto.....	52
Figura 28: Curva de expectativa de vida de <i>Lu. longiflocosa</i> en los diferentes periodos. A) Curva de expectativa de vida por estadio. H: Huevo, L1: Larva 1, L2: Larva 2, L3: Larva 3, L4: Larva 4, P: Pupa, A: Adulto; B) Curva de expectativa de vida por semana.....	53
Figura 29: Boxplot del primer ciclo gonotrófico en las diferentes fases.....	54
Figura 30: Boxplot comparativo de la fertilidad y fecundidad de las diferentes fases en el primer ciclo gonotrófico. A) Fertilidad, B) Fecundidad.....	55

Lista de tablas

Tabla 1: Especies de <i>Leishmania</i> que causan LC en el mundo.....	18
Tabla 2: Reportes de flebótomos y su agente etiológico en Colombia.....	21
Tabla 3: Parámetros de una tabla de vida.....	28
Tabla 4: Ciclo de vida de <i>Lu. longiflocosa</i> en las diferentes fases muestreadas.....	35
Tabla 5: Definición de los atributos del desarrollo.....	40
Tabla 6: Parámetros de una tabla de vida siguiendo la metodología MPM.....	42
Tabla 7: Longitud de los estadios en <i>Lu. longiflocosa</i>	47
Tabla 8: Atributos de desarrollo de <i>Lu. longiflocosa</i>	50
Tabla 9: Parámetros de tablas de vida de <i>Lu. longiflocosa</i> metodología FIFO.....	50
Tabla 10: Parámetros de tablas de vida de <i>Lu. longiflocosa</i> metodología MPM.....	53

Abreviaturas

°C	Centígrados
D	Oscuridad – “dark”
F0	Generación parental
F1	Primera generación
FIFO	Primero en Ingresar, Primero en Salir – “First In, First Out”
h	Hora
HR	Humedad relativa
INS	Instituto Nacional de Salud
KOH	Hidróxido de potasio
LHP	Parámetros de tablas de vida – “Life history parameters”
L	Litros
LC	Leishmaniasis cutánea
LM	Leishmaniasis mucosa
LT	Leishmaniasis tegumentaria
LV	Leishmaniasis visceral
Minciencias	Ministerio de ciencias, Colombia
m	Metros
ml	Mililitros
mm	Milímetros
MPM	Matriz de Modelo Poblacional – “Matrix Population Model”
m.s.n.m.	metros sobre el nivel del mar
OMS	Organización Mundial de la Salud
PGw	Promedio geométrico de Williams
WHO	World Health Organization
µm	Micrómetros

1. Marco teórico

1.1 Leishmaniasis

1.1.1 Leishmaniasis en el mundo

La leishmaniasis es un grupo de enfermedades zoonóticas y antroponóticas causada por protozoarios flagelados pertenecientes al género *Leishmania* (Oryan & Akbari, 2016). Se han reconocido más de 20 especies de *Leishmania* que son transmitidos aproximadamente por 70 especies de flebótomos (Mann et al., 2021). La importancia de esta patología radica en que puede llegar a enfermar gravemente a los humanos, en especial aquellos que tienen un sistema inmunitario poco desarrollado (Güran, 2018). Es considerada una enfermedad desatendida ya que afecta principalmente a las poblaciones más pobres de los países en vías de desarrollo. Esta enfermedad se distribuye en América, África, Europa y Asia (Figura 1); sin embargo, se presenta mayoritariamente en los países que se sitúan en los trópicos y subtropicales (Pigott et al., 2014). En el año 2021 se informaron 233.696 nuevos casos ocasionando una mortalidad de 324 personas (WHO, 2021). El incremento en la distribución y el número de casos de leishmaniasis se debe a diversas circunstancias de las cuales, las más representativas son los cambios ambientales, estos pueden ser antropogénicos o naturales y a las migraciones humanas consecuencia de desplazamientos forzados debido a la inestabilidad sociopolítica de los países afectados (Ferro. et al., 2011; González et al., 2011).

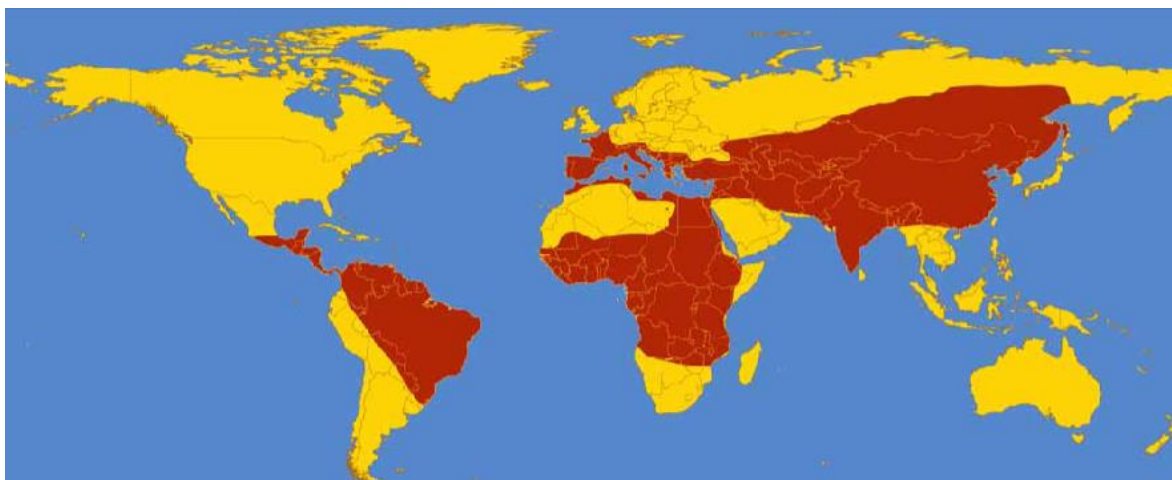


Figura 1: Distribución geográfica de la leishmaniasis endémica. Imagen tomada de Lopes et al. (2010)

1.1.2 Manifestación clínica de la Leishmaniasis

La leishmaniasis presenta diversas manifestaciones clínicas, pero las más representativas son: leishmaniasis visceral (LV), leishmaniasis tegumentaria (LT) en la forma de: leishmaniasis mucosa (LM) o leishmaniasis cutánea (LC) (Piscopo & Mallia Azzopardi, 2007). La infección puede ser asintomática, producir discretas lesiones en la piel o, por el contrario, destruir la mucosa orofaríngea o infiltrar el bazo y la médula ósea produciendo una enfermedad sistémica que puede ocasionar la muerte (CIDEIM, 1994; Torres et al., 2017).

1.1.2.1 Leishmaniasis visceral LV

Conocida como kala-azar, fiebre negra, fiebre muerte, fiebre dum-dum entre otros nombres; es endémica en más de 60 países del mundo (Wilhelm, 2019). Se extiende por el sur y el este de Asia; gran parte de África; los países del mediterráneo y por Iberoamérica (Griensven & Diro, 2012; Guerin et al., 2002). Es causada por las siguientes especies *L. donovani*, *L. infantum*, *L. chagasi*, *L. amazonensis*, and *L. tropica* (Desjeux, 2004b).

El periodo de incubación de la LV oscila entre 2-6 meses, las personas afectadas presentan malestar general, dolor abdominal, aumento del tamaño abdominal, fiebre, debilidad, inapetencia, palidez, tos y pérdida de peso (Figura 2) (Griensven & Diro, 2012). Por otra parte, los infectados tienen un riesgo alto de padecer otras infecciones, o en su defecto sin un debido tratamiento puede llegar a ser mortal (Alvar et al., 2008).



Figura 2: Paciente con LV. Imagen tomada de Zambrano et al. (2016)

1.1.2.2 Leishmaniasis mucosa LM

Esta manifestación clínica inicia con una lesión cutánea y con el tiempo puede comprometer la boca, nariz y faringe, produciendo una destrucción inflamatoria de la mucosa (Figura 3); además, la enfermedad se puede reactivar como resultado de la inmunosupresión producida por otras enfermedades (Amato et al., 2008). La LM ha sido reportada en Asia, África, Europa y Suramérica (Strazzulla et al., 2013). Los agentes etiológicos de la LM son las especies *L. braziliensis*, *L. panamensis*, *L. guyanensis*, *L. amazonensis* y *L. major* (Goto & Lindoso, 2010).



Figura 3: Paciente con LM. Imagen tomada de Zea et al. (2009)

1.1.2.3 Leishmaniasis cutánea LC

La leishmaniasis tegumentaria o leishmaniasis cutánea LC, se caracteriza por unas lesiones en la piel en forma de úlceras que se desarrollan en el lugar de la picadura del flebótomo infectado (Figura 4); los parásitos se ubican en las células de la piel produciendo úlceras que pueden variar en forma y tamaño (Mokni, 2019). La LC es la manifestación clínica más temida debido a su asociación con la LM.



Figura 4: Paciente con LC. Imagen tomada de Mokni (2019)

Esta enfermedad es endémica en más 70 países, además, se ha reportado su distribución en Asia, África, Europa y Suramérica, sin embargo, en la última década se ha documentado un incremento de casos de LC en: Afganistán, Bolivia, Brasil, Colombia, Perú y Siria (Desjeux, 2004a; Reithinger et al., 2007). Las especies más representativas de ocasionar la LC en el mundo se encuentran en la (Tabla 1).

Tabla 1: Especies de *Leishmania* que causan LC en el mundo. Tabla modificada de Reithinger et al. (2007).

Especie	Manifestación clínica principal	Ciclo de transmisión	Distribución geográfica principal
<i>L. braziliensis</i>	LC o LM	Zoonótico	Suramérica Partes de Centroamérica México
<i>L. panamensis</i>	LC o LM	Zoonótico	Sur de Centroamérica Norte de Suramérica
<i>L. peruviana</i>	LC	Zoonótico	Perú
<i>L. guyanensis</i>	LC	Zoonótico	Suramérica
<i>L. lainsoni</i>	LC	Zoonótico	Suramérica
<i>L. colombiense</i>	LC	Zoonótico	Norte de Suramérica
<i>L. amazonensis</i>	LC	Zoonótico	Suramérica
<i>L. mexicana</i>	LC	Zoonótico	Centroamérica México Estados Unidos
<i>L. pifanoi</i>	LC	Zoonótico	Suramérica
<i>L. venezuelensis</i>	LC	Zoonótico	Etiopia Kenia
<i>L. garnhami</i>	LC	Zoonótico	Norte de África
<i>L. aethiopica</i>	LC	Zoonótico	Centro de Asia Norte de África Oriente de África Medio Oriente
<i>L. killicki</i>	LC	Zoonótico	Norte de África
<i>L. major</i>	LC	Zoonótico	Centro de Asia Medio Oriente Partes del Norte de África Sureste de Asia
<i>L. tropica</i>	LC	Antroponótico	África Asia central Sureste de Asia
<i>L. donovani</i>	LC o LV	Antroponótico	Europa Norte de África
<i>L. infantum</i>	LC o LV	Zoonótico	Centro América Suramérica

1.1.3 Leishmaniasis en Colombia

La leishmaniasis en Colombia se conoce desde la época precolombina, Josué Gómez identificó la enfermedad en un niño de 11 años, que tenía nódulos o úlceras en la mejilla y estas manifestaciones se denominaban vulgarmente como “bubón de Vélez”, “marranas”, “puercas” o “úlceras de los chicleros” (Escovar, Bello, & Moncada, 2004).

Actualmente, Colombia es uno de los tres países con mayor número de especies de *Leishmania* que afectan al ser humano: *L. panamensis*, *L. braziliensis*, *L. lainsoni*, *L. guyanensis*, *L. infantum*, *L. equatoriensis*, *L. mexicana*, *L. amazonensis* y *L. colombiensis*; por otra parte, en el siglo XX de los 58.897 casos reportado de leishmaniasis en el país un 96,35% corresponden a LC, un 2,65% a LM y un 1% a LV, la manifestación clínica más relevante de la enfermedad en Colombia es la LC (Ramírez et al., 2016).

1.1.4 Leishmaniasis cutánea en Colombia

En Colombia la LC se distribuye por todo el país desde 0 hasta 2400 m.s.n.m. (Escovar, Bello, & Moncada, 2004; Pardo et al., 2017). La distribución de la enfermedad se ve beneficiada con la diversidad de pisos térmicos del país porque se presentan diferentes condiciones para el desarrollo del parásito y del vector; las regiones que representan más del 75% de los casos de LM y LC son la Andina, Amazónica, Orinoquía (Herrera et al., 2018). De ahí que, la mayoría de los casos de LC ocurran en zonas rurales (Oviedo-Sarmiento et al., 2021). Los principales factores de riesgo para LC son vivir en condiciones de pobreza, el tiempo de exposición en zonas al aire libre, las características inadecuadas de las viviendas, falta de los elementos de protección, la baja escolaridad y antecedentes familiares de leishmaniasis, no por predisposición genética sino porque los familiares suelen vivir cerca entre sí y las viviendas se encuentran en zonas que presentan las condiciones apropiadas para la permanencia del vector o del parásito (López et al., 2017).

En particular en los últimos años se ha reportado una asociación positiva de los cultivos ilícitos y la deforestación con el aumento de los casos de la LC en el país (Bates et al., 2015; Minsalud, 2018), por lo tanto, se debe implementar mejores modelos de vigilancia epidemiológica como también de mejores sistemas de salud en estas zonas.

1.1.5 Agente etiológico

Los parásitos unicelulares pertenecen al phylum Protozoa, clase *Mastigophora*, orden kinetoplastida, familia Trypanosomatidae; solamente dos géneros pertenecientes a la familia Trypanosomatidae tienen especies que son parásitos hísticos y hemáticos en el hombre; *Leishmania* y *Trypanosoma* (Lopes et al., 2010).

Leishmania es un género de microorganismos unicelulares parásitos que miden entre 2,5 a 3 µm. Su ciclo de vida tiene dos formas: el promastigote, que es la forma infectante para los hospederos mamíferos, es flagelada y se desarrolla en el tracto digestivo de las hembras flebotominas; por otro lado el amastigote es la forma replicativa dentro de las células del huésped y es a su vez la forma infectante para el vector (Reithinger et al., 2007) (Figura 5).

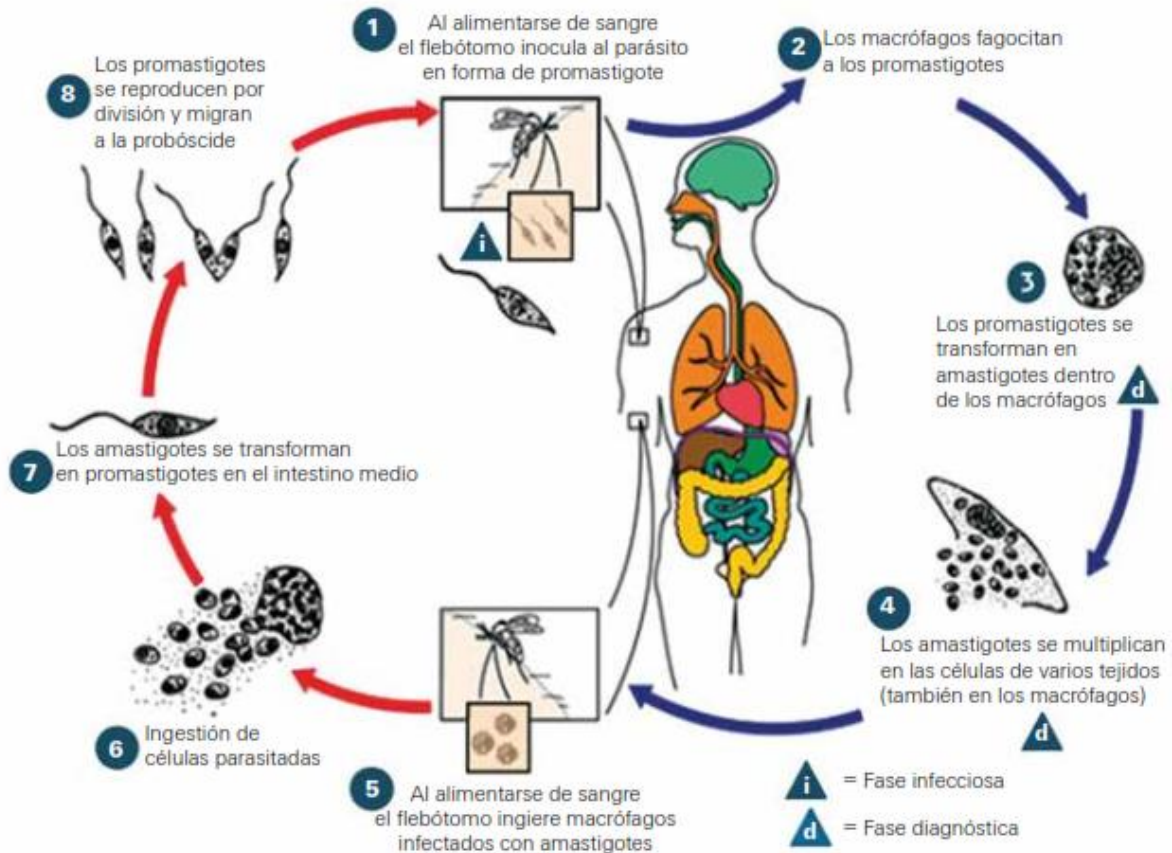


Figura 5: Ciclo de vida de *Leishmania*. Imagen tomada de González et al. (2017)

1.2 Flebótomos

1.2.1 Flebótomos y *Leishmania*

Los flebótomos, conocidos en Colombia por nombres comunes como papalotillas, chitre, palomilla, quemador, pringador, mantablanca, capotillo entre otros y en inglés como sandflies. Pertenecen a la subfamilia Phlebotominae familia Psychodidae, son un grupo de importancia en salud pública porque al alimentarse de sangre de seres humanos y de otros vertebrados (Moncada et al., 2021), pueden ser vectores de varios patógenos entre ellos los parásitos del género *Leishmania*.

1.2.2 Flebótomos en Colombia

A la fecha se han identificado 159 especies del género *Lutzomyia* en Colombia (Ferro et al., 2011), de los cuales, 15 han sido reconocidos como vectores de *Leishmania* y cinco especies de los agentes etiológicos *Leishmania spp* Tabla 2 (Bejarano & Estrada, 2016; Salgado et al., 2019)

Tabla 2: Reportes de flebótomos y su agente etiológico en Colombia. Tabla tomada de Salgado et al. (2019)

Flebótomo	Especie de <i>Leishmania</i>	Incriminación como vector según la OMS	Departamento
<i>Lu. antunesi</i>	<i>Leishmania spp.</i>	No	Meta
<i>Lu. cayennensi</i>	<i>L. infantum</i> <i>Leishmania spp.</i>	No	Sucre Córdoba
<i>Lu. evansi</i>	<i>L. braziliensis</i> <i>L. infantum</i>	No Si	Bolívar Sucre
<i>Lu. flaviscutellata</i>	<i>Leishmania spp.</i>	Si, para <i>L. amazonensis</i>	Meta
<i>Lu. gomezi</i>	<i>L. panamensis</i> <i>Leishmania spp.</i>	Si Si	Boyacá Córdoba Meta
<i>Lu. hartmanni</i>	<i>L. colombiensis</i> <i>Leishmania spp.</i>	Si Si	Santander Antioquia, Santander Tolima
<i>Lu. longiflocosa</i>	<i>L. guyanensis</i> <i>Leishmania spp.</i>	Si Si	Tolima Norte de Santander
<i>Lu. longipalpis</i>	<i>L. panamensis</i> <i>L. infantum</i> <i>Leishmania spp.</i>	Si Si Si	Cundinamarca Cundinamarca Santander
<i>Lu. panamensis</i>	<i>L. panamensis</i> <i>Leishmania spp.</i>	Si Si	Boyacá Meta
<i>Lu. shannoni</i>	<i>L. colombiensis</i>	Si	Santander
<i>Lu. spinicrassa</i>	<i>L. braziliensis</i>	Si	Antioquia, Meta Norte de Santander
<i>Lu. trapidoi</i>	<i>L. panamensis</i>	Si	Antioquia, Meta Nariño, Santander Tolima
<i>Lu. umbratillis</i>	<i>L. guyanensis</i>	Si	Amazonas Boyacá, Santander
<i>Lu. yuilli</i>	<i>L. panamensis</i>	Si	Boyacá
<i>Warileya rotundipennis</i>	<i>Leishmania spp.</i>	No	Risaralda

1.2.3 *Lutzomyia longiflocosa*

Lutzomyia longiflocosa (Osorno-Mesa, Morales, Osorno y Muñoz, 1970; (Diptera:Psychodidae) se ha reportado como posible vector de *Leishmania guyanensis* en el departamento de Tolima (Ferro. et al., 2011), de igual forma, se ha registrado como posible vector de *Leishmania braziliensis* y *Leishmania spp.*, en el departamento de Norte de Santander (Contreras et al., 2014; Rocío et al., 2011), además, se han encontrado individuos de *Lu. longiflocosa* en el municipio de Tello (Huila) en los meses de febrero, marzo, agosto y septiembre (Humberto, 2010; Neira et al., 1998); y se ha determinado la presencia de la especie en Campoalegre (Huila) en los meses de agosto, septiembre y octubre (Vargas, 2020).

1.2.4 Ciclo de vida

Los flebótomos se encuentran ampliamente distribuidos en el mundo, con una especial preferencia por las zonas húmedas y cálidas del planeta; además, se distribuyen en una gran variedad de ecosistemas (Killick-Kendrick, 1999). Tienen metamorfosis completa con cuatro fases de desarrollo: huevo, larva (cuatro estadios), pupa y adulto, (Maroli et al., 2013). Los estadios inmaduros a diferencia de los de la familia Culicidae no requieren de cuerpos de agua para completar su desarrollo, pero necesitan de un microhábitat rico en contenido orgánico y húmedo, con material orgánico en descomposición, como cuevas, raíces de árboles, refugios de animales y huecos de árboles (Halada et al., 2018). El ciclo de vida de los flebótomos presenta amplias variaciones de tiempo. Una vez la hembra halla ingerido sangre y completado la oviposición, la eclosión de los huevos tiene lugar entre 4-20 días, el periodo larval de 20-30 días, las pupas de 6-13 días y los adultos de 7-21 días (Cecílio et al., 2022) (Figura 6).

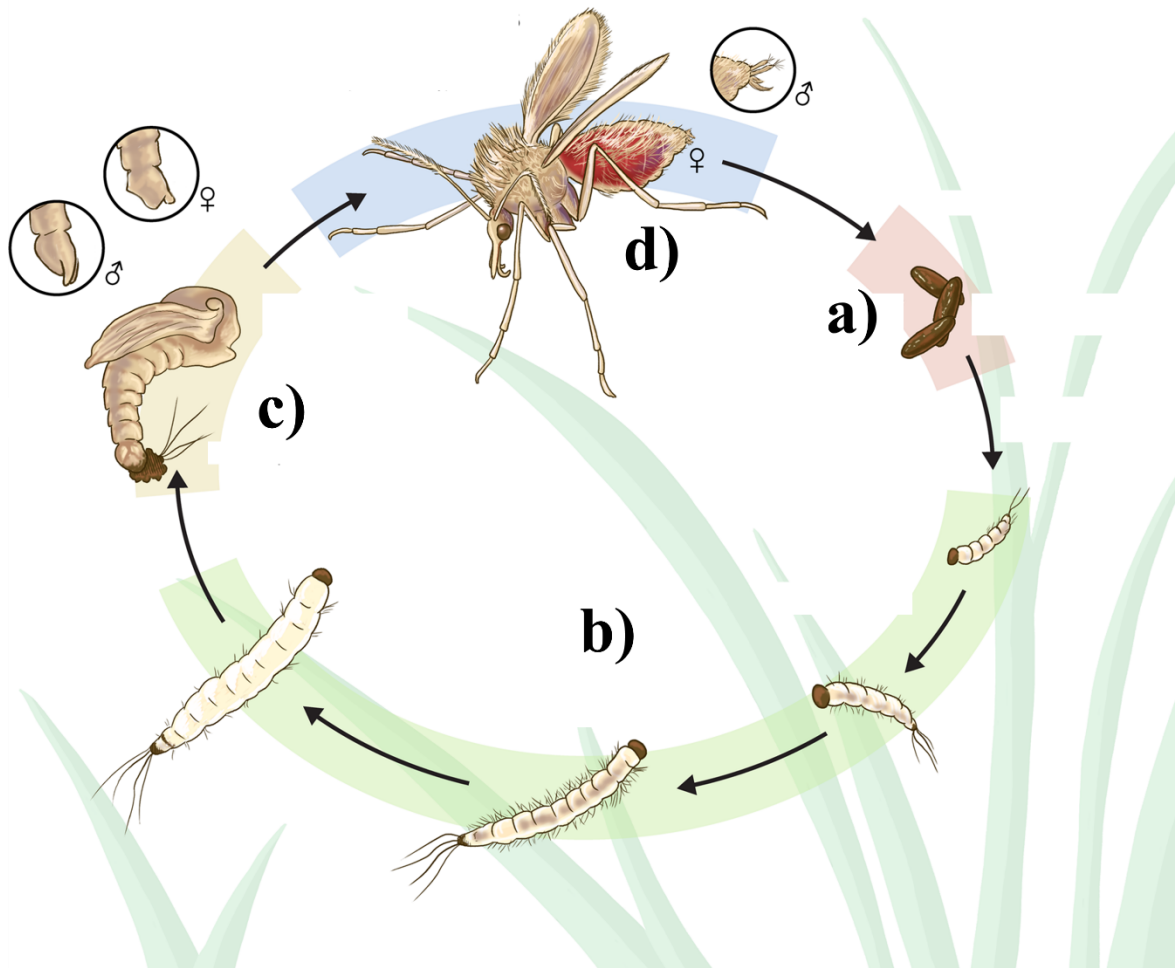


Figura 6: Esquema del ciclo de vida de *Lutzomyia*. a) huevo, b) larva, c) pupa, d) adulto. Esquema tomado y adaptado de Cecílio et al. (2022).

1.2.5 Morfología

1.2.5.1 Huevo

Los huevos de los flebótomos recién ovipositados son blancos, pero a medida que van madurando adquieren una coloración oscura, son brillantes, pequeños y ovalados (Figura 7). Llegan a medir entre 300 a 400 μm de largo y presentan unas ornamentaciones irregulares en la superficie. Además, suelen ser útiles para clasificar e identificar las especies porque los patrones pueden variar desde líneas irregulares, polígonos, elipses, ondas, hendiduras, anillos, montañas y entre otras estructuras (Feliciangeli et al., 1993).



Figura 7: Huevo de *Lutzomyia*. Imagen tomada y adaptada de Montes et al. (2017).

1.2.5.2 Larva

Las larvas maduras de los flebótomos se caracterizan por ser pequeñas de hasta 12 mm de longitud, de color blanquecino, con la cabeza oscura, adicionalmente presentan pseudopatas que utilizan para su locomoción (Figura 8). Están formadas por 12 segmentos, los cuales son: la cabeza, dos segmentos torácicos fusionados para formar el cefalotórax y nueve abdominales; a lo largo de todo su cuerpo presenta varias setas clavadas que se utilizan como estructuras de clasificación e identificación (Brazil & Brazil, 2018; Rutledge & Gupta, 2002).

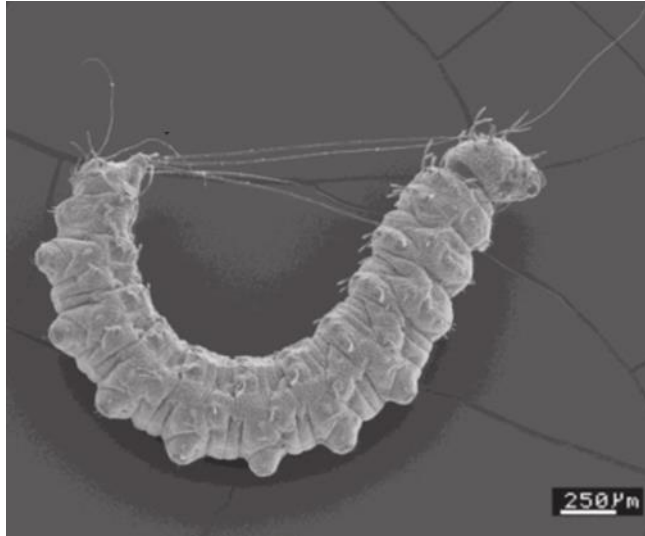


Figura 8: Larva de cuarto estadio de *Lutzomyia*. Imagen tomada de Rebollar-Tellez et al. (2010).

Los estadios larvales se pueden diferenciar con ayuda de algunas características morfológicas, las más visibles son: el primer estadio larval se reconoce por presentar un par de cerdas caudales en el último segmento abdominal; el segundo estadio larval presenta dos pares de cerdas caudales en el último segmento abdominal; el tercer estadio larval se caracteriza por tener una cápsula cefálica más grande; el cuarto estadio se reconoce por presentar una pigmentación oscura en la novena tergita (CIDEIM, 1994; Moncada et al., 2021).

1.2.5.3 Pupa

Las pupas de los flebótomos se adhieren al sustrato de forma erecta, suelen tener menos de 5 mm de longitud, tienen una coloración blanca, pero al madurar se tornan amarillas, además se caracterizan por mantener la última exuvia larval en los últimos segmentos (Galati et al., 2017; Young & Arias, 1991). Sumado a esto, a los días previos a emerger a adulto se puede apreciar los ojos y las alas, ya que se tornan de un color oscuro (Figura 9).



Figura 9: Pupa de *Lutzomyia*. Imagen tomada de Montes et al. (2017)

1.2.5.4 Adulto

Los adultos suelen medir menos de 5mm, presentan múltiples vellosidades a lo largo de su cuerpo, el color es grisáceo a marrón, además, tienen un aparato bucal tipo cortador-chupador (Figura 10). La cabeza es pequeña y los ojos son visiblemente oscuros, las antenas son largas y delgadas, se caracterizan por tener de 12 a 16 flagelómeros. Por otro lado, el tórax es jorobado, presenta alas grandes, de forma elíptica y con múltiples vellosidades; el abdomen tiene varios segmentos, además en el último segmento está situada la genitalia, uno de los órganos responsable en la copulación y oviposición (Rutledge & Gupta, 2002).

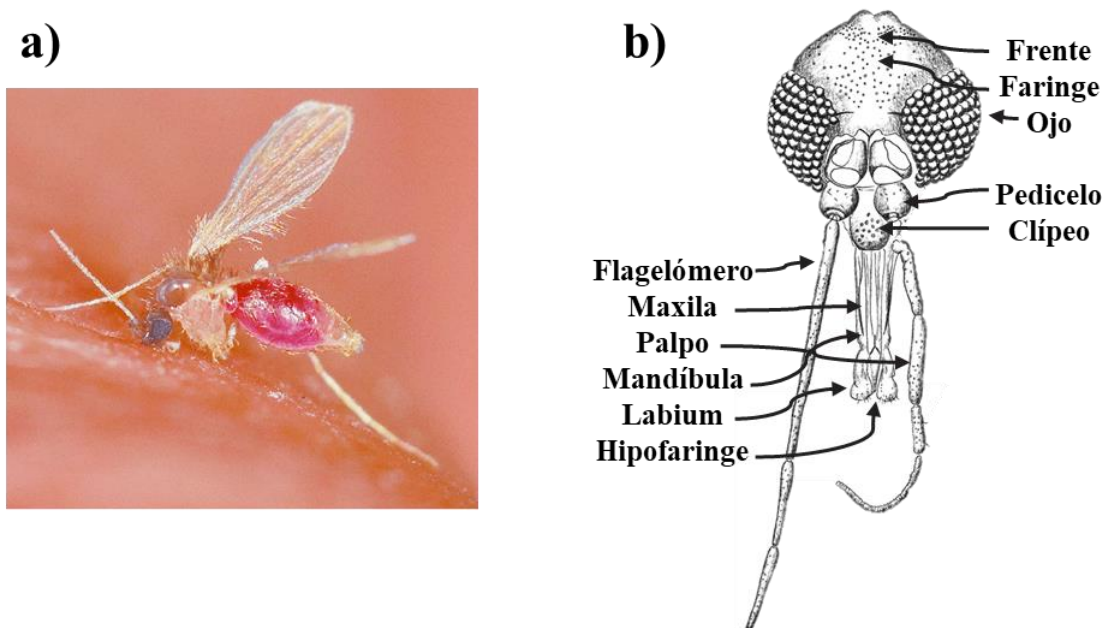


Figura 10: Apariencia general de un adulto de *Lutzomyia*. a) vista lateral de un adulto, b) detalle de la cabeza. Imagen del adulto obtenida de Santamaria et al. (2016).

1.3 Taxonomía

1.3.1 Clasificación taxonómica de Phlebotominae

A lo largo de los años la identificación taxonómica de los flebotomos ha sido objeto de constante revisión, ya que entre los miembros del grupo *verrucarum* se encuentra una fuerte semejanza morfológica. El grupo fue definido por Theodor en (1965), basándose en: cibario, dientes horizontales y verticales, espermatecas, ductos individuales, parámero simple, tufo basal, espinas en el estilo y una pequeña seta subterminal. Dentro del grupo *verrucarum* Theodor reconoció dos series con base en el número de espinas presentes sobre el estilo, cuatro para la serie *verrucarum* y tres para la serie *serrana* (Theodor, 1965).

Unos años más tarde Kreutzer et al. (1990), dividieron la serie *verrucarum* de acuerdo a la ubicación de las espinas, en este sistema la serie *townsendi* presenta tres espinas distales y una espina basal aislada, mientras tanto la serie *verrucarum* presenta dos espinas mediales pareadas y dos distales (Bejarano et al., 2003; Kreutzer et al., 1990), tal como se muestra en (Figura 11).

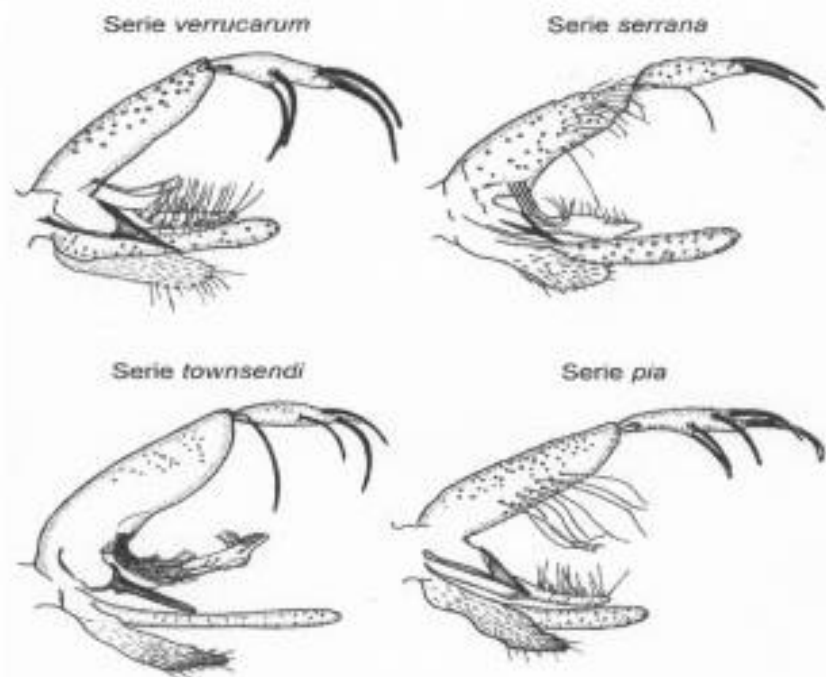


Figura 11: Esquema de la genitalia masculina de las especies de *Lutzomyia* del grupo *verrucarum*, series *verrucarum*, *serrana*, *townsendi* y *pia*. Imagen tomada de Bejarano et al. (2003).

Estas divisiones sirvieron como base para realizar los dos sistemas de clasificación más ampliamente utilizados en el mundo, el primero es la clasificación realizada por Young & Duncan (1994), la cual se basa en el ordenamiento de Lewis *et al.* (1977), este sistema de organización no tiene sustento filogenético, mientras tanto, el segundo sistema de

clasificación propuesto por Galati et al. (2015), se basa en un análisis filogenético entre los grupos de la subfamilia phlebotominae.

1.3.2 Clasificación taxonómica de *Lutzomyia longiflocosa* o *Pifanomyia longiflocosa*

Young & Duncan (1994), clasifican a la especie *Lutzomyia longiflocosa* en el subgénero *Lutzomyia*, grupo *verrucarum*, serie *townsendi* y especie *longiflocosa*; mientras tanto la clasificación realizada por Bates et al. (2015), ubica a el organismo en la especie *Pifanomyia longiflocosa* en el subgénero *Pifanomyia*, serie *townsendi* y especie *longiflocosa*.

Según la clasificación propuesta por Young & Duncan (1994), la identificación de la especie *Lutzomyia longiflocosa* se determina con ayuda de la genitalia masculina y la espermateca femenina (Figura 12).

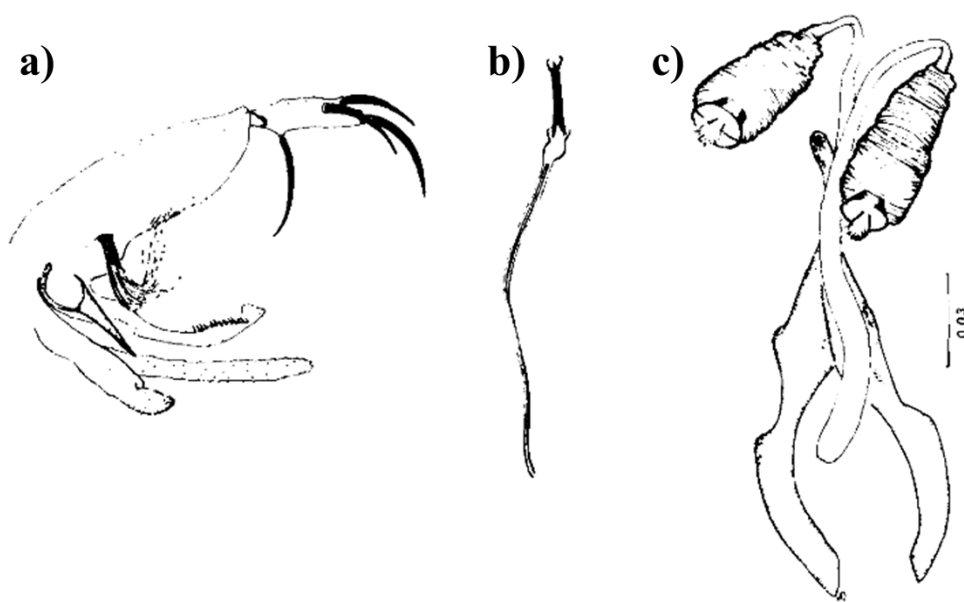


Figura 12: Esquema de la genitalia de *Lu. longiflocosa*, a) genitalia del macho, b) bomba y filamentos, c) espermateca. Imagen tomada y adaptada de Young & Duncan (1994)

1.4 Ecología o bionomía

Los parámetros biológicos permiten estudiar la biología de una especie como también su ecología, es decir, la interacción del organismo con el medio que lo rodea, una de los parámetros biológicos más ampliamente estudiados son las tablas de vida.

1.4.1 Tablas de vida

Son una herramienta fundamental porque ayudan a comprender la dinámica poblacional, la supervivencia, la reproducción, el desarrollo y la fecundidad de una especie (Carey, 1993); además, son una manera de representar de forma cualitativa y cuantitativa las principales características de una población (Rabinovich, 1982). Podría ser considerada como, una de las herramientas más importante para establecer parámetros sobre la capacidad vectorial de los insectos hematófagos.

Según Rabinovich, (1982), las tablas de vida se pueden clasificar en dos tipos:

1.4.1.1 Tabla de vida vertical

La tabla de vida vertical se realiza cuando no es posible hacer un seguimiento continuo al organismo de interés en todo su ciclo de vida, por lo tanto, se basa en una cohorte imaginaria a partir de la estructura de edades de la población observada en un momento dado. Sin embargo, esta metodología es útil porque permite estimar la mortalidad en las diferentes etapas de un organismo (Rabinovich, 1982).

La tabla de vida vertical siguiendo la metodología FIFO permite estimar el tiempo que pasa cada individuo en cada estadio y consiste en asumir una regla, la cual es: el primer individuo que ingrese a un estadio será el primer individuo que sale del mismo; esta metodología se ha usado de forma convencional por la comunidad científica (Fargo, 1986; Hernandez-Suárez et al., 2019). El presente modelo depende de supuestos característicos de los modelos Markovianos y utiliza estadística estocástica para la obtención de los Parámetros de Tablas de Vida LHP.

1.4.1.2 Tabla de vida horizontal

La tabla de vida horizontal se usa para determinar la reproducción y estimar parámetros poblacionales, por lo que se utiliza un grupo de individuos (cohorte) desde el nacimiento hasta la muerte.

1.4.2 Elementos principales de una tabla de vida

Los elementos principales de una tabla de vida o parámetros de tabla de vida, se pueden ver reflejados en (Tabla 3).

Tabla 3: Parámetros de una tabla de vida. Referencia tomada de Southwood & Henderson (2000)

Símbolo	Definición	Formula
X	Estructura de edad en intervalos de tiempo	x
a_x o n_x	Número de Individuos vivos al comienzo de la edad/ clase de edad x	n_x
S_x o l_x	Tasa de supervivencia, es la probabilidad de sobrevivir, de una determinada edad/clase de edad.	n_{x+1} / n_0
d_x	Mortalidad, número de individuos muertos por edad/clase de edad.	n_{x-1} / n_x
q_x o m_x	número de individuos muertos con edad clase/clase de edad x	d_x / n_{x-1}
F_x	Fecundidad, capacidad reproductiva de cada individuo y/o número de descendientes que puede producir en un determinado grupo de edad”, N°. de huevos eclosionados / N° huevos ovipositados	c_x / O_x

f_x	Fertilidad, capacidad del individuo de producir progenie, en particular es el N° huevos ovipositados / N° de huevos retenidos máximo	o_x / O_x
R_o	Tasa reproductiva neta o básica, Número esperado de descendientes por individuo, en todo su ciclo de vida. Cuantos descendientes produce un individuo al final de la cohorte.	$\sum L_x b_x$
T_G	Tiempo generacional, representa el tiempo promedio entre dos generaciones nuevas. Se toma desde que un huevo es ovipositado hasta convertirse en una hembra capaz de ovipositar huevos	$\frac{\sum l_x b_x X}{\sum l_x b_x}$
r	Tasa reproductiva, representa el incremento de la población	$\frac{\ln (R_o)}{T_G}$
λ	Tasa de tamaño poblacional, representa la tasa de crecimiento poblacional, es la proporción entre el tamaño de la población en un intervalo de tiempo con respecto al anterior intervalo de tiempo.	$\frac{\Delta n}{\Delta t}$
L_x	Longevidad promedio, representa la proporción de sobrevivientes a la mitad de cada intervalo de tiempo	$(n_x + n_{x+1}) / 2$
T_x	Supervivencia de la población total a la edad x, es el tiempo vivido de la población hasta la edad x.	$\sum (L_x)$
e_x	Expectativa de vida, es el promedio de tiempo vivido por un individuo desde la edad x.	T_x / n_x

Las fuerzas que actúan directamente sobre el crecimiento de una población son: mortalidad, natalidad, inmigración y emigración; cuando se interrelacionan las funciones específicas por edades de supervivencia y fecundidad, se pueden calcular otros parámetros poblacionales que sirven para caracterizar una población de organismos (Rabinovich, 1982)

1.4.3 Curva de supervivencia

Una curva de supervivencia se obtiene al graficar el logaritmo del número de supervivientes, es decir, los valores de la columna l_x frente al tiempo o la edad; el intervalo de tiempo se representará en el eje horizontal y la supervivencia en el eje vertical (Figura 13).

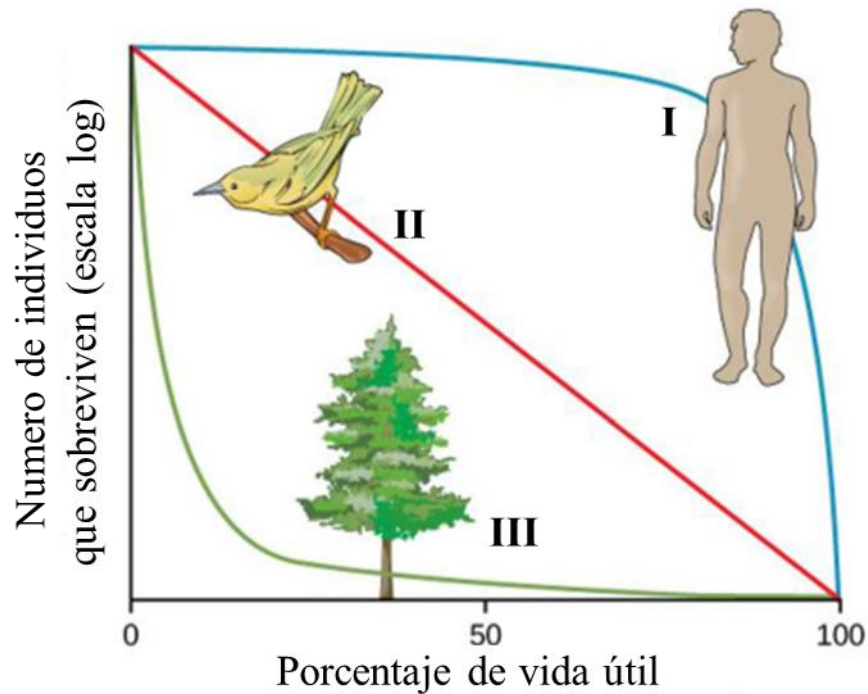


Figura 13: Esquema de los diferentes tipos de curva de supervivencia, a) humanos, b) aves, c) arboles. Imagen tomada y adaptada de Ricadat et al. (2020).

Las curvas tipo I representan poblaciones en la que la mayoría de las muertes ocurren hacia la edad final o máxima del individuo, mientras tanto, las curvas tipo II representan poblaciones con tasas de mortalidad constantes a todas las edades, por último las curvas tipo III se dan en poblaciones con altas tasas de mortalidad en las primeras etapas del individuo (Molles & Sher A., 2019).

1.4.4 Ciclo gonotrófico

El ciclo gonotrófico es un parámetro bionómico o ecológico importante, ampliamente estudiado en insectos hematófagos, este parámetro ecológico se define: gono, el periodo de tiempo entre la ingestión de sangre y la ovoposición; y trófico, el mecanismo de transferencia de energía o en este caso la obtención de minerales a través de la ingesta de sangre (Klowden & Briegel, 1994; Santos et al., 2002).

1.4.4.1 Ciclo gonotrófico de *Lutzomyia*

Aunque los estudios del ciclo gonotrófico se han centrado en la familia Culicidae comúnmente llamados mosquitos o zancudos, hay algunas aproximaciones en la subfamilia Phlebotominae (Moraes et al., 2018; Secundino et al., 2005).

Se han realizado varios estudios sobre la duración de la digestión de la sangre en diferentes especies de *Lutzomyia*, en una investigación realizada con *Lu. longipalpis* se evidenció que el tiempo de digestión de la sangre tomaba aproximadamente entre tres a cuatro días (Secundino et al., 2005). En otra investigación de *Lu. longipalpis* en condiciones de laboratorio, se halló que las múltiples ingestas de sangre podrían afectar la longevidad de las

hembras, además, descubrieron que las hembras realizaban una segunda ingesta de sangre al cabo de 11 días después de la primera (Moraes et al., 2018). Lo cual difiere de lo informado por Oliveira et al., 2017; en *Lutzomyia cruzi* donde el ciclo gonotrófico duró seis días cuando fue alimentado por perros y cinco días cuando fue alimentado con hámsteres, es decir tuvo una duración menor (Falcão de Oliveira et al., 2017). En otro trabajo realizado en el flebótomo *Lutzomyia neivai* encontraron que la duración del ciclo gonotrófico fue de cuatro días en condiciones de campo y de laboratorio (Casanova et al., 2009).

1.5 Antecedentes

En el Nuevo Mundo, los estudios sobre las tablas de vida de los flebótomos han permitido identificar patrones de crecimiento y mortalidad en diferentes especies, como *Lutzomyia longipalpis* y *Lutzomyia evansi*, que son importantes vectores de la leishmaniasis. En estos estudios se ha observado una alta mortalidad durante los primeros días de vida, seguida de una disminución en la tasa de mortalidad a medida que los flebótomos alcanzan la edad adulta. Además, se ha encontrado que la fecundidad y la supervivencia son más altas en las hembras que en los machos, lo que sugiere que la selección sexual puede estar influyendo en la evolución de estas especies (Almanza Rodriguez, 2008; Soares & Turco, 2003)

En el Viejo Mundo, los estudios sobre las tablas de vida de los flebótomos se han centrado principalmente en las especies del género *Phlebotomus*, que son vectores de diferentes enfermedades, como la leishmaniasis, la fiebre del Nilo Occidental y la fiebre del valle del Rift. En estos estudios se ha observado que la mortalidad de los flebótomos es alta durante las primeras etapas del ciclo de vida, especialmente durante la fase larvaria, y que la supervivencia y la fecundidad son más altas en las hembras que en los machos. Además, se ha encontrado que la temperatura y la humedad pueden influir en la tasa de crecimiento y mortalidad de estas especies, lo que sugiere que los cambios climáticos pueden tener un impacto significativo en la distribución y abundancia de los flebótomos (Harre et al., 2001; Ready & Croset, 1980)

2 Justificación

Dada la ubicación geográfica del departamento del Huila, que cuenta con una gran variedad de ecosistemas, múltiples pisos térmicos y numerosos nacimientos de agua, se presentan las condiciones idóneas para que la población huilense aproveche y use la tierra. De ahí que, en los últimos años, la deforestación en el departamento haya aumentado principalmente debido al crecimiento de la población rural, extensión de una gran diversidad de cultivos (principalmente el café), desplazamientos forzados, quema de árboles por grupos al margen de la ley, esparcimiento de cultivos ilícitos y ausencia del estado en la solución de problemas ambientales, son algunos de los problemas presentes en la región, entre otros. (Governor-of-Huila, 2014). La deforestación afecta los fenómenos naturales de la naturaleza como las especies y las interacciones de los seres vivos en ecosistemas aledaños, lo anterior se relaciona con el aumento de la deforestación en zonas tropicales y el aumento de los casos de LC (López et al., 2017). Las condiciones propicias para el desarrollo del huésped, del vector y del parásito son posiblemente la razón por la cual la dinámica de los flebótomos está

determinada por factores ambientales como la temperatura, la radiación solar, la precipitación y la humedad relativa (Rivas et al., 2014; Vásquez, 2011).

Adicionalmente el estudio de los flebotomos presenta múltiples vacíos de conocimiento, ya que los estadios inmaduros se desarrollan en microhábitats terrestres y su morfología ha sido estudiada en muy pocas especies, son organismos extremadamente sensibles a los cambios ambientales por lo que se dificulta su estudio, en su fase adulta pueden recorrer largas distancias lo que ha impedido aumentar el conocimiento de su dispersión, presentan una compleja dinámica e interacción entre poblaciones, tienen una amplia diversidad de especies, su clasificación sistemática es confusa al ser un grupo “críptico”, es decir posee especies que tienen una gran similitud morfológica; por lo cual se han propuesto diversos sistemas de clasificación taxonómica (Bates et al., 2015; Cabrera & Ferro, 2000; Casanova et al., 2005; Killick-Kendrick et al., 1984; Méndez, 2021; Rabinovich, 1982; Salomon, 2009; Vivero et al., 2015). En particular, se han llevado a cabo muy pocos estudios sobre la biología, comportamiento, parámetros poblacionales, morfología y otras especialidades de *Lu. longiflocosa* (Carvajal, 2008; Humberto, 2010; Méndez, 2021; Moncada et al., 2021; Neira et al., 1998; Rocío et al., 2011; Vargas, 2020). Neira et al, (1998), realizaron una primera estimación del ciclo de vida de *Lu. longiflocosa* en condiciones de laboratorio y sirvió como base para conocer los parámetros vida de la especie.

El conocimiento de los parámetros de vida de *Lu. longiflocosa* permitirá esclarecer más sobre la biología de la especie, permitiendo así a futuro realizar estudios de ciclo de vida larval bajo diferentes sustratos, investigaciones de eco-epidemiología, estudios en genética poblacional, ensayos de infección experimental que ayudarán a conocer su posible papel como vector, llevar a cabo pruebas de insecticidas y pruebas de control vectorial (Escovar, Bello, Morales, et al., 2004; Martínez et al., 2012; Melgarejo-Colmenares et al., 2019; Montoya-Lerma et al., 2003; Neira et al., 1998). No obstante, aunque existen estudios de la presencia y estacionalidad de *Lu. longiflocosa* en el departamento del Huila, se desconocen los parámetros de vida en condiciones de campo que influyen directamente en la capacidad vectorial de la especie; hasta la fecha, la OMS ha incriminado a la especie *Lu. longiflocosa* como vector debido a una investigación que sustenta la infección natural con *Leishmania spp*. Sin embargo, es importante señalar que se desconoce su infección experimental, lo cual es uno de los criterios propuestos por Kendrick en 1990 para poder incriminar a *Lu. longiflocosa* como vector; por lo tanto, conocer los parámetros biológicos de *Lu. longiflocosa* será fundamental para comprender el impacto que esta especie tiene en la salud pública, para poder incriminarla como vector de *Leishmania spp*, para elaborar modelos de predicción, prevención y control vectorial más eficientes ante futuros brotes de la enfermedad (Kendrick, 1990; Moncada et al., 2021).

La investigación de las tablas de vida de *Lu. longiflocosa* en condiciones de laboratorio y de semicampo puede proporcionar información valiosa sobre su biología y ecología, lo que a su vez puede ayudar a identificar las condiciones óptimas para su cría y mantenimiento en laboratorio. Además, la comparación de las tablas de vida obtenidas en condiciones de laboratorio y de campo puede proporcionar información importante sobre las diferencias entre los ambientes artificiales y naturales, lo que puede tener implicaciones significativas en

la capacidad vectorial y por ende en la transmisión de *Leishmania spp.* Por lo tanto, los estudios de tablas de vida son esenciales para una comprensión completa de la biología y ecología de *Lu. longiflocosa* y para el desarrollo de estrategias efectivas de control y prevención ante futuros brotes de la leishmaniasis

De estos antecedentes surge la pregunta de investigación, ¿Cuáles son las diferencias en las tablas de vida de *Lu. longiflocosa* en condiciones de semicampo y de laboratorio?

3. Objetivo general

Analizar las tablas de vida y el ciclo gonotrófico de *Lu. longiflocosa* en condiciones de laboratorio y de semicampo, en Campoalegre, Huila.

3.1 Objetivos específicos

- Comparar el ciclo de vida de *Lu. longiflocosa* en condiciones de laboratorio y de semicampo.
- Determinar las tablas de vida de *Lu. longiflocosa* en condiciones de laboratorio y de semicampo.
- Estimar el ciclo gonotrófico de *Lu. longiflocosa* en condiciones de semicampo y de laboratorio.

4 Metodología

4.1 Fase de campo

4.1.1 Área de estudio

La investigación se realizó en la vereda Venecia del municipio de Campoalegre, Huila, en la zona subandina del país, en las coordenadas 2°39'47"LN y 75°14'31"LW (Figura 14). Esta área presenta un clima templado con una temperatura promedio de 20°C y una precipitación anual de 1000 (mm) (Vargas, 2020).

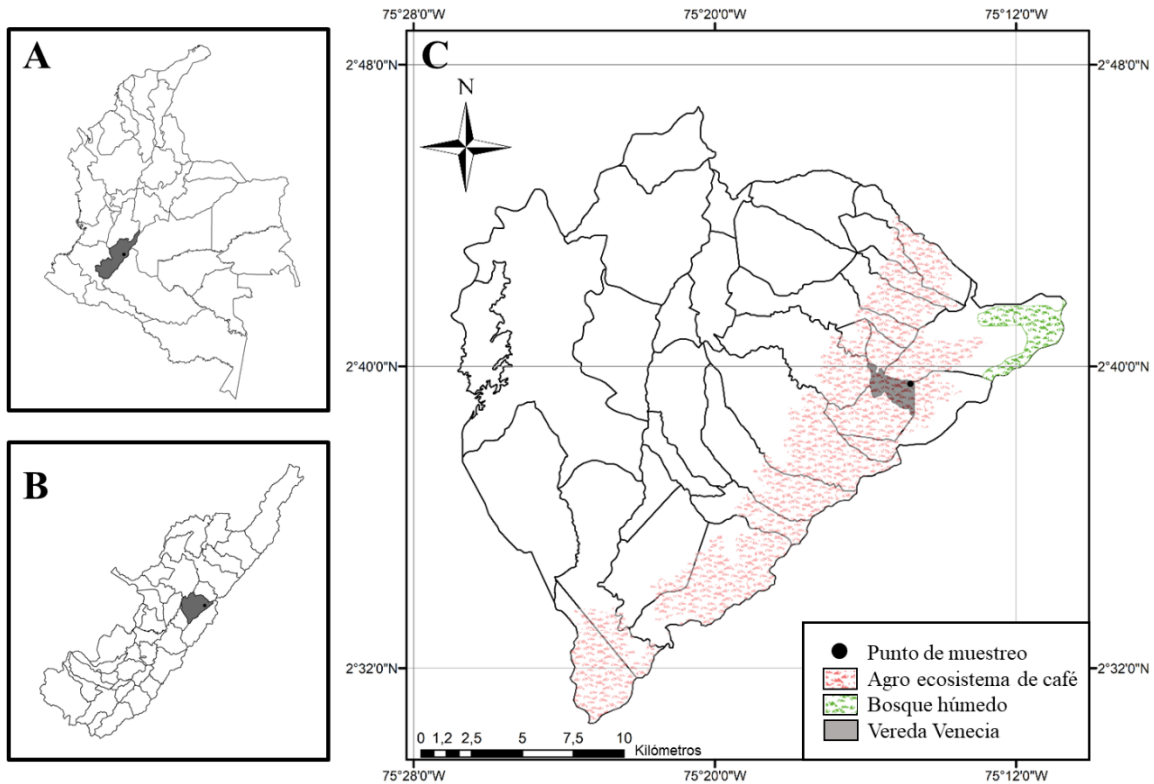


Figura 14: Área de estudio; A) Colombia y departamento del Huila, B) Departamento del Huila y municipio de Campoalegre, C) Municipio de Campoalegre, vereda Venecia y punto de muestreo.

4.1.2 Selección de puntos de muestreo

Se seleccionó un domicilio asociado a un área de bosque intervenido. La selección del punto de muestreo se llevó a cabo siguiendo los siguientes parámetros a) presencia de árboles con diámetro a la altura del pecho > 30 cm, b) árboles con corteza rugosa, c) capa de hojarasca sin descomponer > 5 cm, d) determinación previa de la presencia de flebotomos en la zona; siguiendo la metodología de Carvajal (2008).

4.1.3 Datos climatológicos

Una estación meteorológica portátil marca Davis Vantage Pro, fue colocada a 10 m del puesto de trabajo a una altura de 1,5 m del suelo (Figura 15). Esta estación tomó datos cada hora desde febrero del 2020 hasta febrero 2021 de las siguientes variables: temperatura, humedad relativa, precipitación, velocidad del viento y radiación solar; la temperatura y humedad del puesto de trabajo fue muestreada durante 24 horas por un datalogger®.



Figura 15: Estación meteorológica y sitio de trabajo en campo.

4.1.4 Toma de datos ciclo de vida semicampo

Se llevó a cabo en dos fases en el transcurso del año 2020 y 2021, la primera toma de datos denominado (Semicampo 1) fue realizado en la fase comprendida entre febrero a agosto del 2020, en el periodo de baja precipitación; de igual modo, la segunda fase (Semicampo 2) se llevó a cabo entre agosto del 2020 a febrero del 2021 en el periodo de alta precipitación; cada muestreo tuvo una duración de siete meses (Tabla 4). Se escogieron los meses de febrero y agosto porque son los que presentan una mayor abundancia de *Lu. longiflocosa* en Campoalegre, Huila (Carvajal, 2008; Vargas, 2020).

Tabla 4: Cronograma de obtención del ciclo de vida de *Lu. longiflocosa* en las diferentes fases muestreadas.

Fase		Semicampo 1	Semicampo 2	Laboratorio
Año o Años		2020	2020 y 2021	2021
Mes de colecta		Febrero	Agosto	Agosto
Meses	1	Febrero	Agosto	Agosto
	2	Marzo	Septiembre	Septiembre
	3	Abril	Octubre	Octubre
	4	Mayo	Noviembre	Noviembre
	5	Junio	Diciembre	Diciembre
	6	Julio	Enero	Enero
	7	Agosto	Febrero	Febrero
Duración		7 meses	7 meses	7 meses
Tamaño de la cohorte (hembras F0)		100	100	100

Se tomaron dos cohortes cada una de 100 hembras parentales F0, para estudiar el ciclo de vida en condiciones de semicampo en cada una de las fases previamente establecidos Semicampo 1 y Semicampo 2.

4.1.5 Toma de muestra

La recolección de flebótomos se llevó a cabo siguiendo la metodología propuesta por Morales. et al. (2005), mediante la utilización de una trampa Shannon entre las 18:00h-24:00h suspendida a una distancia de 50 cm del suelo y sujeta a árboles aledaños. Los flebótomos que se posaron en la trampa se recolectaron con ayuda de aspiradores manuales y estos fueron trasladados a una jaula para flebótomos de tamaño 20cm x 20cm x 20cm, la misma noche de la captura se alimentaron las hembras con la sangre de un hámster anestesiado con pentotal sódico.

4.1.6 Ciclo de vida condiciones de semicampo

Por cada muestreo se utilizó una cohorte de 100 hembras previamente alimentadas de forma individual, después, fueron transferidas a un recipiente de cría con fondo de yeso dental tipo II con ayuda de un aspirador bucal. Para la alimentación se les suministró agua y una solución azucarada al 50% en torundas de algodón colocadas en la parte superior del recipiente de cría. Cada vaso de cría fue marcado con un código, estos vasos se llevaron a neveras de icopor de 40 L rectangulares (40cmx60cmx40cm), que fueron puestas en un puesto de trabajo con dimensiones 3x3x3m, con humedad relativa de 70-90%, y fotoperiodo en condiciones naturales, tal como se muestra en la (Figura 16). La colecta dirigida al laboratorio fue transportada a los laboratorios de la Universidad de la Salle.



Figura 16: Puesto de trabajo. A) vista externa del sitio de trabajo, B) neveras de icopor con vasos de cría. C) neveras de icopor tapadas con malla de plástico y suspendidas con cuerda fina.

A todos los vasos de cría se les hizo un seguimiento individualizado usando un estereoscopio óptico marca Carl Zeiss, con ayuda del objetivo 40x, luego, se tomaron los datos diarios de los rasgos de vida desde la alimentación de las hembras parentales hasta la muerte de los

individuos de la generación F1. Las hembras muertas fueron transferidas a viales de vidrio con etanol al 70%, usando la metodología de Neira et al. (1998).

4.1.7 Ciclo gonotrófico

Se recolectaron, alimentaron y posteriormente se individualizaron 100 hembras en condiciones de semicampo y de laboratorio; luego se seleccionaron 30 hembras al azar para el análisis de los datos. Se registraron las variables, fecha de ovoposición, fecha de muerte, el número de huevos ovipositados y el número de huevos retenidos (Anexo 11.6). Lo anterior describe el procedimiento que se utilizó para estudiar el ciclo gonotrófico de las hembras parentales recolectadas en campo, luego se intentó repetir el procedimiento para determinar la cantidad de ciclos gonotrófico de *Lu. longiflocosa*.

4.2 Fase de laboratorio

La fase de laboratorio se llevó a cabo en los laboratorios de entomología de la Universidad de la Salle sede Candelaria, Bogotá D.C. Colombia.

4.2.1 Toma de datos ciclo de vida laboratorio

La toma de datos en condiciones de laboratorio se realizó en un periodo de 7 meses desde agosto 2021 hasta febrero de 2022 (Tabla 4).

Se utilizó una cohorte de 100 hembras, además se registró la temperatura y la humedad relativa del ambiente utilizando un datalogger®, programado, para recolectar datos cada hora.

4.2.2 Ciclo de vida condiciones de laboratorio

Para el ciclo de vida se siguió la metodología descrita previamente en el apartado 4.1.6 con las siguientes modificaciones, los adultos fueron alimentados al llegar al laboratorio, las condiciones de temperatura fueron 19-22°C, de humedad relativa (HR) 83-99% y fotoperiodo de 12hL:12hD, tal como se muestra en la (Figura 17).



Figura 17: Insectario A) vista externa del insectario, B) nevera de icopor con vasos de cría, C) jaula para contención de flebótomos.

Se utilizó el procedimiento descrito previamente en el apartado 3.1.5 para el estudio del ciclo de vida en condiciones de laboratorio siguiendo la metodología propuesta por Neira et al. (1998).

4.2.3 Criterios para diferenciar los estadios larvales

Las diferentes características morfológicas de huevo, larva (cuatro estadios), pupa y adulto son generales para todas las especies del género *Lutzomyia*, por lo cual, se utilizaron los criterios determinados por INS, (2002) para diferenciarlos. Además, los estadios larvales se diferenciaron con ayuda de los siguientes criterios: el primero posee un par de setas caudales en el último segmento abdominal, el segundo presenta dos pares de setas caudales en dicho segmento, el tercero posee un mayor desarrollo de las estructuras morfológicas de la cabeza y el cuarto tiene un esclerito oscuro en el último segmento abdominal (CIDEIM, 1994; Young & Arias, 1991).

4.2.4 Identificación de adultos *Lu. longiflocosa*

Los adultos transferidos a viales de vidrio fueron aclarados siguiendo la metodología descrita por Maroli et al. (1997) luego las hembras parentales fueron transferidas a crisoles de porcelana individualmente, luego se agregaron 3 ml de hidróxido de potasio (KOH) al 10%, se calentaron a 200 °C, posteriormente se descartó el KOH con etanol al 70%, se añadió 1 ml de fenol saturado se dejaron en reposo durante 24h y por último se identificaron con ayuda de la clave taxonómica de Young & Duncan, (1994), se hizo un énfasis en la espermateca y el cibario de los especímenes recolectados (Figura 18).

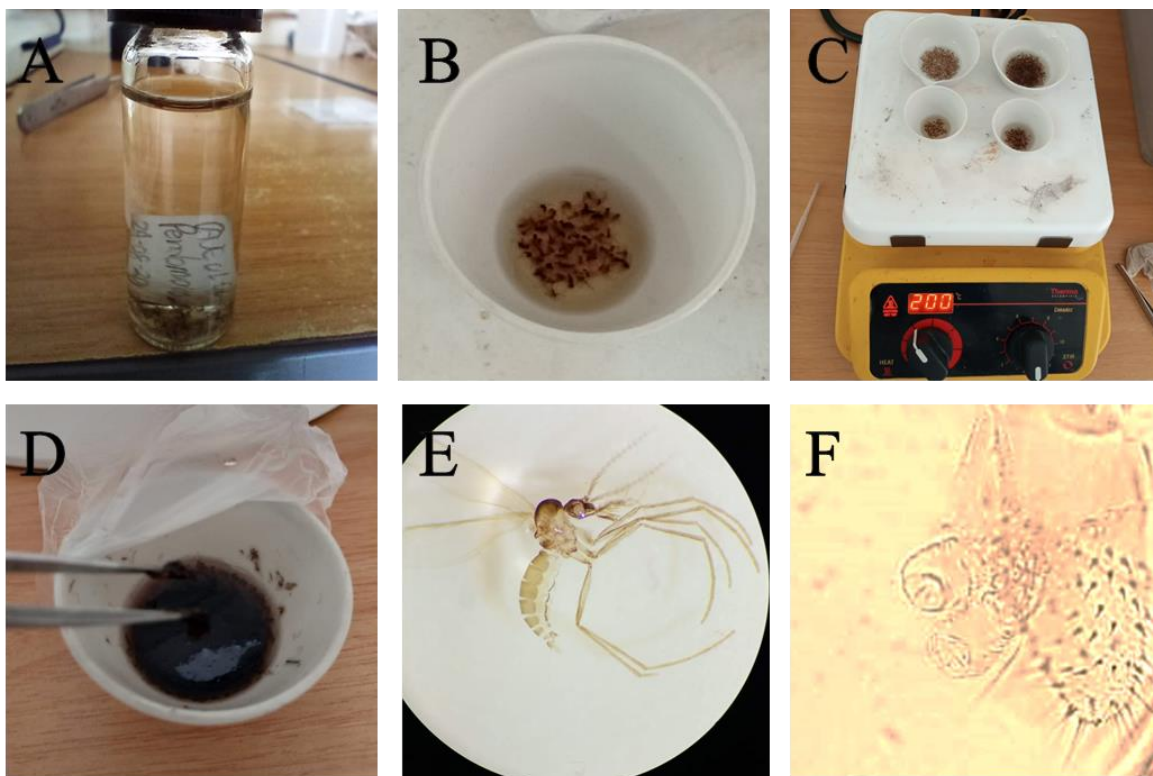


Figura 18: Procedimiento de aclaración química de flebótomos para su identificación taxonómica. A) hembra parental en vial de vidrio con etanol e información de colecta, B) transferencia del flebótomo a crisol de porcelana, C) adición de KOH y calentamiento, D) adición de fenol y reposo durante 24h, E) apariencia del flebótomo hembra bajo estereoscopio, F) espermateca de una hembra de *Lu. longiflocosa* bajo un lente de 40x en microscopio.

4.3 Diseño experimental

4.3.1 Jaulas

Jaulas cubicas de 20 cm³ fabricadas con tela de algodón blanco, suspendida dentro de un marco de acero de 25 cm unido mediante cuerdas a sus ocho esquinas para el mantenimiento de los flebótomos adultos.

4.3.2 Recipientes de cría y neveras de icopor

Se mantuvieron las hembras parentales previamente ingurgitadas y los estadios inmaduros en recipientes de cría que consistían en vasos de plástico de 500 ml. En el fondo de los recipientes se agregó una capa húmeda de yeso de París y agua destilada en una proporción de 1:2. La parte superior del recipiente era cubierta con muselina y se sujetaba a los lados con unas bandas de caucho. La muselina tenía un orificio para permitir la entrada del aspirador, el orificio se tapó con una torunda pequeña de algodón. Los vasos de cría se examinaron cada día, se eliminaban las larvas muertas y se registraban las variables del ciclo de vida.

Para almacenar los recipientes de cría, se utilizaron neveras de icopor rectangulares de 40 L (medidas 40 cm X 60 cm X 40 cm), separados por cartón para organizarlos. Luego, se cubrió la parte superior de la nevera con una malla de plástico y se aseguró con una banda de caucho para evitar la depredación de los flebótomos por parte de otros insectos. Esta medida se tomó para proteger a los flebótomos y evitar cualquier posible interferencia externa.

4.3.3 Alimentación de larvas

La comida para larvas se realizó según la metodología de Young et al. (1981), con la siguiente modificación: se cambiaron las heces y purina de conejo por estiércol de bovino seco y purina de perro, el alimento se almacenó en un recipiente de plástico durante tres meses adicionalmente se agitaba cada dos semanas con el propósito de acelerar la fermentación de la comida. Las larvas fueron alimentadas día de por medio y la cantidad de alimento dependió del número de larvas y del estadio en el que se encontraban y por último la presencia hongos por exceso de comida fue eliminada con ayuda de unas pinzas entomológicas.

4.3.4 Transferencia de los flebótomos emergidos de la F1

Con el propósito de registrar su longevidad, los adultos que emergieron de la F1 eran transferidos a un nuevo recipiente de cría con ayuda de un aspirador bucal.

4.3.4 Alimentación de adultos

Los adultos se alimentaban con una solución de sacarosa al 50%, y para la ingesta de sangre las hembras con un hámster anestesiado con pentotal sódico, ketamina (100 mg/ kg del peso del animal y zoletil (40 mg / cada kg del peso del animal) (Flecknell & Díaz, 1996).

4.4 Análisis estadístico

3.4.1 Software estadísticos

Se utilizó “R” 4.0.3 con “SPSS statistics” 25 para realizar los análisis estadísticos respectivos y el software “GraphPad Prism” 5 para realizar las gráficas.

4.4.2 Condiciones ambientales

Para determinar si los datos de la temperatura y humedad relativa tenían una distribución normal se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk.

4.5 Análisis de datos

4.5.1 Ciclo de vida:

Debido a la baja tolerancia de la especie a los cambios ambientales, su vulnerabilidad a la manipulación, no se realizaron tablas de vida horizontales, por lo tanto, se realizaron tablas de vida verticales. De las tres cohortes de 100 hembras de la F0, en las fases muestreadas (Semicampo 1, Semicampo 2 y para los ensayos en laboratorio respectivamente. Luego se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk con el objetivo de determinar la normalidad de los datos. Para comparar diferencias entre el tiempo de duración, el número de individuos y la tasa de mortalidad por cada estadio y fase muestreada (Semicampo 1, Semicampo 2 y Laboratorio) se utilizó ANOVA unifactorial. Luego se determinó el tamaño longitudinal de cada estadio con ayuda del software “ImageJ”, para ello se muestro un total de 30 individuos por cada estadio (Anexo 11.5). Posteriormente se determinaron las características descriptivas del ciclo de vida (Tabla 4).

Las variables que se registraron en el ciclo de vida fueron: fecha del seguimiento diario, número de individuos vivos por estadio, mortalidad por estadio, número de huevos retenidos-ovipositados-eclosionados, número de individuos por estadio, número de individuos hembra-macho, fecha de muerte y observaciones. Los formatos seguimiento ciclo de vida y seguimiento longevidad de adultos se pueden observar en el (Anexo 11.3 & Anexo 11.4) respectivamente.

4.5.2 Atributos del desarrollo

Los atributos del desarrollo son índices que permiten ver de forma general las características de la población, por lo cual, se siguieron los criterios establecidos por Reisen et al. (1979), se determinaron los atributos del desarrollo utilizando la información de la cantidad de individuos por estadio para cada uno de los periodos (Tabla 5).

Tabla 5: Definición de los atributos del desarrollo

Atributo del desarrollo	Definición
Eclosión	N.º de larvas / N.º de huevos.

Productividad	N.º de adultos / N.º de larvas.
Pupación	N.º de pupas / N.º de larvas.
Emergencia de adulto	N.º adultos / N.º pupas.

4.5.3 Parámetros de las tablas de vida, LHP

Se desarrollaron las siguientes metodologías dada la extrema vulnerabilidad del grupo de estudio:

4.5.3.1. Metodología FIFO

La tabla de vida vertical siguiendo la metodología FIFO permite estimar el tiempo que pasa cada individuo en cada estadio y consiste en asumir una regla, la cual es: el primer individuo que ingrese a un estadio será el primer individuo que sale del mismo; esta metodología se ha usado de forma convencional por la comunidad científica, (Fargo, 1986; Hernandez-Suárez et al., 2019), no obstante, el supuesto FIFO da por hecho una condición estricta que no siempre se presenta en la naturaleza.

Para determinar los parámetros de las tablas de vida se siguió los criterios establecidos por Southwood & Henderson, (2000), (Tabla 3). Luego se realizó un ANOVA unidireccional y se determinó las diferencias entre las varianzas de las tasas de mortalidad en los diferentes periodos muestreados. Más tarde, se realizó un MANOVA y se determinó la relación entre las tasas de mortalidad con las variables climáticas de temperatura, precipitación y humedad relativa por estadio para cada una de las fases muestreadas, cabe resaltar que en el laboratorio no se tuvo en cuenta la variable precipitación.

4.5.3.2 Metodología MPM

El modelo MPM se basó en una matriz vectorial (U) de las probabilidades de pasar de un estadio a otro y una matriz vectorial (F) de la probabilidad reproductiva por estadio. Además, se determinan las probabilidades de pasar del estadio (G), probabilidades de morir en el estadio (R), Probabilidades de que un individuo permanezca en el estadio (P) y las probabilidades de generar descendencia (f) (Figura 19).

$$G_i = \frac{\text{Número de "graduaciones" observadas en la fase } i}{\text{Número de observaciones total en la fase } i}$$

$$R_i = \frac{\text{Número de muertes observadas en la fase } i}{\text{Número de observaciones total en la fase } i}$$

$$P_i = 1 - R_i - G_i$$

$$f_i = \frac{\text{Total de descendencia producida por individuos en la fase } i}{\text{Número de observaciones total en la fase } i}$$

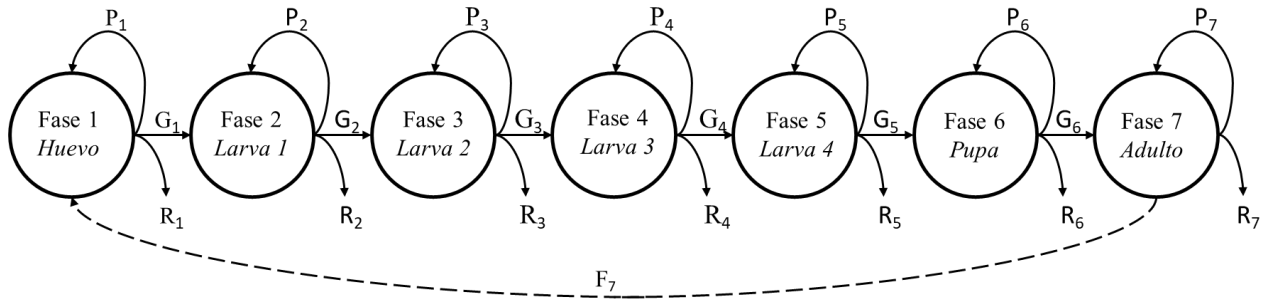


Figura 19: Esquema MPM del ciclo de vida de *Lutzmoyia*.

Luego se determinó los LHP (Tabla 6); siguiendo las ecuaciones propuestas por Hernández-Suarez (2011). Donde:

Tabla 6: Parámetros de una tabla de vida siguiendo la metodología MPM.

Símbolo	Definición	Fórmula
λ :	Tasa de crecimiento de la población por unidad de tiempo, se calcula como valor de eigen de la matriz	$\lambda = n(t)$
r	Tasa de crecimiento finito de la población	$e^r = \lambda$
f	Fecundidad, # de huevos ovipositados totales sobre el # de hembras parentales	O_x/h_x
R_0	Tasa reproductiva neta.	$1 \sum FNe_1$
μ_1 :	Edad promedio de los padres cuando se produce la descendencia.	$R_0^{-1} 1 \sum FNUNe_1 + c$
\bar{T}	Tiempo promedio para que la población aumente el R_0	$\log R_0 / \log \lambda$
L	Longevidad o promedio de vida.	$1 \sum Ne_1$

4.5.4 Ciclo gonotrófico

Se determinaron los días del ciclo gonotrófico para cada periodo. Después se realizó un ANOVA unifactorial para determinar diferencias entre los periodos. Luego se estudió la fecundidad y la fertilidad de la F0, siguiendo la metodología propuesta por (Escovar, Bello, Morales, et al., 2004), para cada uno de los periodos estudiados. Posteriormente, se realizaron ANOVAS unifactoriales para determinar diferencias en el porcentaje de fertilidad y fecundidad en las diferentes fases muestreadas.

5. Resultados

5.1 Condiciones ambientales y de laboratorio

5.1.1 Condiciones ambientales

El diagrama Ombrotérmico nos evidenció como se comportó la precipitación y la temperatura promedio de los meses estudiados en Campoalegre, Huila (Figura 20).

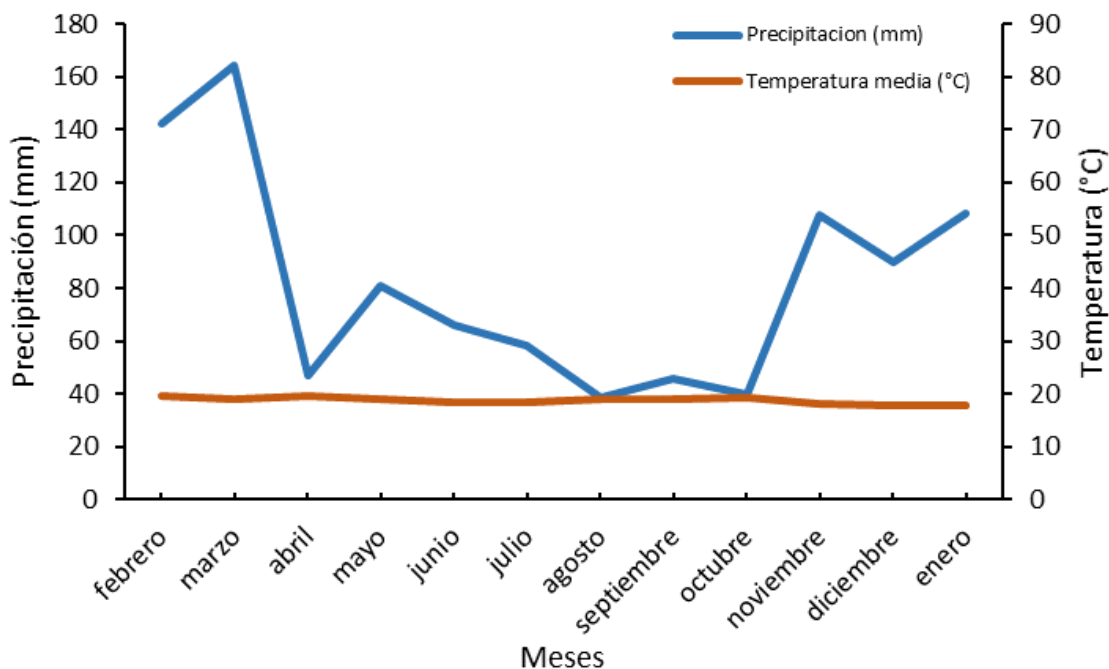


Figura 20: Ombrotérmico desde febrero 2020 hasta enero 2021 de la vereda Venecia, Campoalegre, Huila, Colombia.

La temperatura promedio osciló entre 17-20 °C y el mes de febrero de 2020 presentó la temperatura más alta con un valor de 20,59 °C y enero de 2021 la temperatura más baja con 17,95°C. Además, el valor más alto de la precipitación se presentó en marzo del 2020 con un valor de 164 mm/hora y el más bajo en octubre del mismo año con un valor de 39 mm/hora (Figura 20). Lo anterior, indica un posible modelo de precipitación unimodal con un periodo de lluvias muy fuertes de noviembre a marzo y una temporada seca de lluvias moderadas de abril a octubre (Latupapua et al., 2018), (Anexo 11.1).

5.1.2 Condiciones de laboratorio

La temperatura en las diferentes fases de muestreo se mantuvo estable entre los 17-20 °C (Figura 21). Semicampo 2, presentó las temperaturas más bajas y Semicampo 1 se registraron las temperaturas más altas. Asimismo, la temperatura presentó una distribución normal con un $P > 0,05$ en las fases de muestreo.

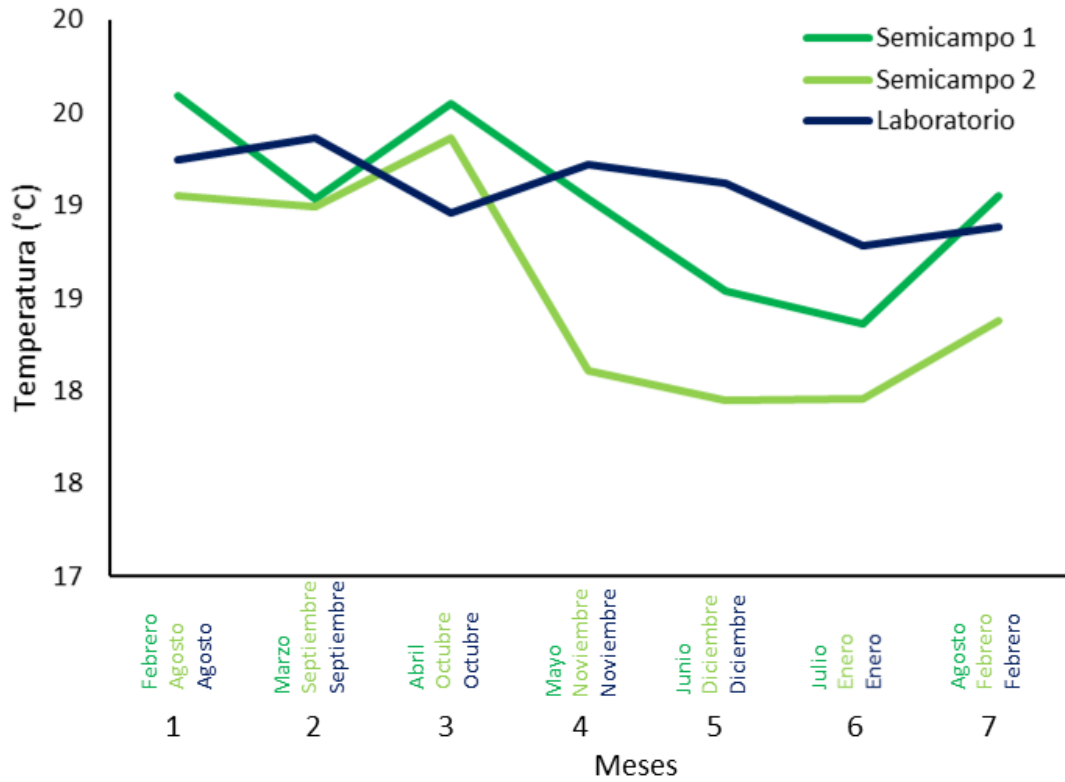


Figura 21: Temperatura media en las diferentes fases Tabla 4.

La HR se mantuvo alta en los diferentes periodos entre los 80-99% (Figura 22). Sin embargo, el periodo Semicampo 2 en los meses de agosto, septiembre y octubre presentó un porcentaje bajo de HR con un valor de 80% y los meses de noviembre, diciembre y enero un valor alto de HR entre 92-94%, a comparación del periodo Semicampo 1 cuyos valores de HR se mantuvieron entre 80-90%. Además, la HR en las diferentes fases de muestreo presento una distribución normal con un $P > 0,05$.

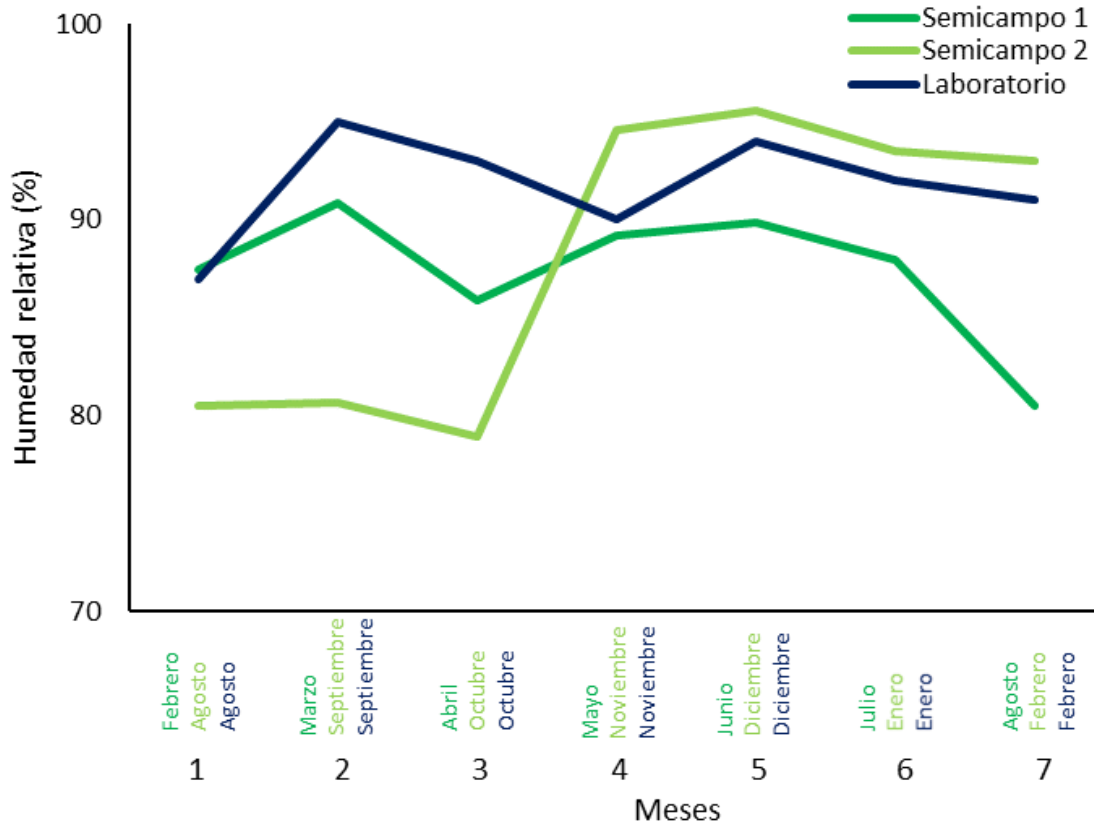


Figura 22: Humedad relativa media en las diferentes fases Tabla 4.

La precipitación en las fases de semicampo tuvo valores entre 38-164 mm/h (Figura 23). Se puede observar que en el periodo Semicampo 1 en los meses de febrero y marzo se obtuvieron las precipitaciones más altas con valores de 142 y 164 mm/h respectivamente, a comparación del periodo Semicampo 2 en donde los meses de agosto, septiembre y octubre se obtuvieron las precipitaciones más bajas con valores de 38, 46 y 40 mm/h respectivamente. Además, la precipitación en las diferentes fases de muestreo presentó una distribución normal con un $P > 0,05$.



Figura 23: Precipitación en las diferentes fases Tabla 4.

5.2 Ciclo de vida de *Lu. longiflocosa*

5.2.1 Fases del ciclo de vida de *Lu. longiflocosa*.

5.2.1.1 Huevo

Los huevos son de color negro oscuro, tienen forma elíptica, además presentan sobre el corion ornamentaciones poligonales irregulares y tienen un tamaño de 335 μm (Tabla 7) y (Figura 24 a). Las hembras necesitan de por lo menos una ingesta de sangre completa para que se desarrollen los huevos y el tiempo de incubación dura en promedio de 8-16 días. En promedio, cada hembra oviposita 19 huevos sobre el sustrato húmedo del yeso y retiene en su abdomen 12 huevos en promedio. Aproximadamente el 90% de las hembras mueren dentro de las primeras 24 horas después de la oviposición (Anexo 11.2).

5.2.1.2 Larva

Las larvas son vermiformes (forma de gusano) (Figura 24 b), la locomoción fue lenta y pausada en ocasiones se quedaron inmóviles y solo se movían para buscar forraje. Las larvas en el estadio 1 presentaron una coloración beige claro, una longitud promedio de 2 mm, además la cápsula de la cabeza fue más oscura que el resto del cuerpo y al igual que otras especies de *Lutzomyia* presentaron un par de setas caudales en el último segmento abdominal. La larva 2 se caracterizó por tener una longitud de 3,3 mm, coloración clara y dos pares de setas caudales. La larva 3 se caracterizó por tener una longitud de 4 mm, además se evidenció la comida que ha ingerido a lo largo del abdomen y las estructuras morfológicas como la

cabeza y las pseudopatas fueron más robustas y definidas. La larva 4 presentó una longitud de 4,1 mm, adicionalmente se observó las setas a lo largo de su cuerpo bien definidas, cabe resaltar que el último segmento abdominal se tornó de un color café oscuro porque el esclerito dorsal adquiere quitina.

5.2.1.3 Pupa

Las pupas fueron inmóviles, no se alimentaron y estuvieron adheridas al sustrato por el noveno segmento abdominal mediante un pegamento generado en el estadio larval 4 y la exuvia (Figura 24 c). La longitud de la larva 4 se mantuvo constante, sin embargo, se observó un ensanchamiento en la cabeza. Posteriormente, la pupa recién formada presentó una coloración beige blanquecina que se oscureció a medida que maduró. Durante este proceso, se evidenció la formación bien definida de características morfológicas de los adultos, tales como las alas, los ojos y la cabeza.

5.2.1.4 Adulto

Los adultos de *Lu. longiflocosa* midieron en promedio 4 mm de largo (Figura 24 d), presentan un leve dimorfismo sexual marcado porque los machos midieron en promedio 3.8 mm y las hembras 4,2 mm. Tienen múltiples vellosidades en todo su cuerpo, pero son más numerosas en el tórax, tienen un color entre beige y marrón. Los ojos son oscuros y las alas tienen forma de “v”, característica de los individuos del género *Lutzomyia*.

Tabla 7: Longitud de los estadios en *Lu. longiflocosa*.

Estadístico	Huevo	Larva 1	Larva 2	Larva 3	Larva 4	Pupa	Adulto
	mm						
Mínimo	0,312	1,6	2,8	3,6	3,8	4	3,6
Mediana	0,332	1,9	3,1	3,8	4	4,1	4,1
Promedio	0,335	2	3,3	4	4,1	4,1	4,2
Máximo	0,349	2,3	3,4	4,1	4,5	4,5	4,8
SD	0,012	0,2	0,4	0,3	0,3	0,3	0,9

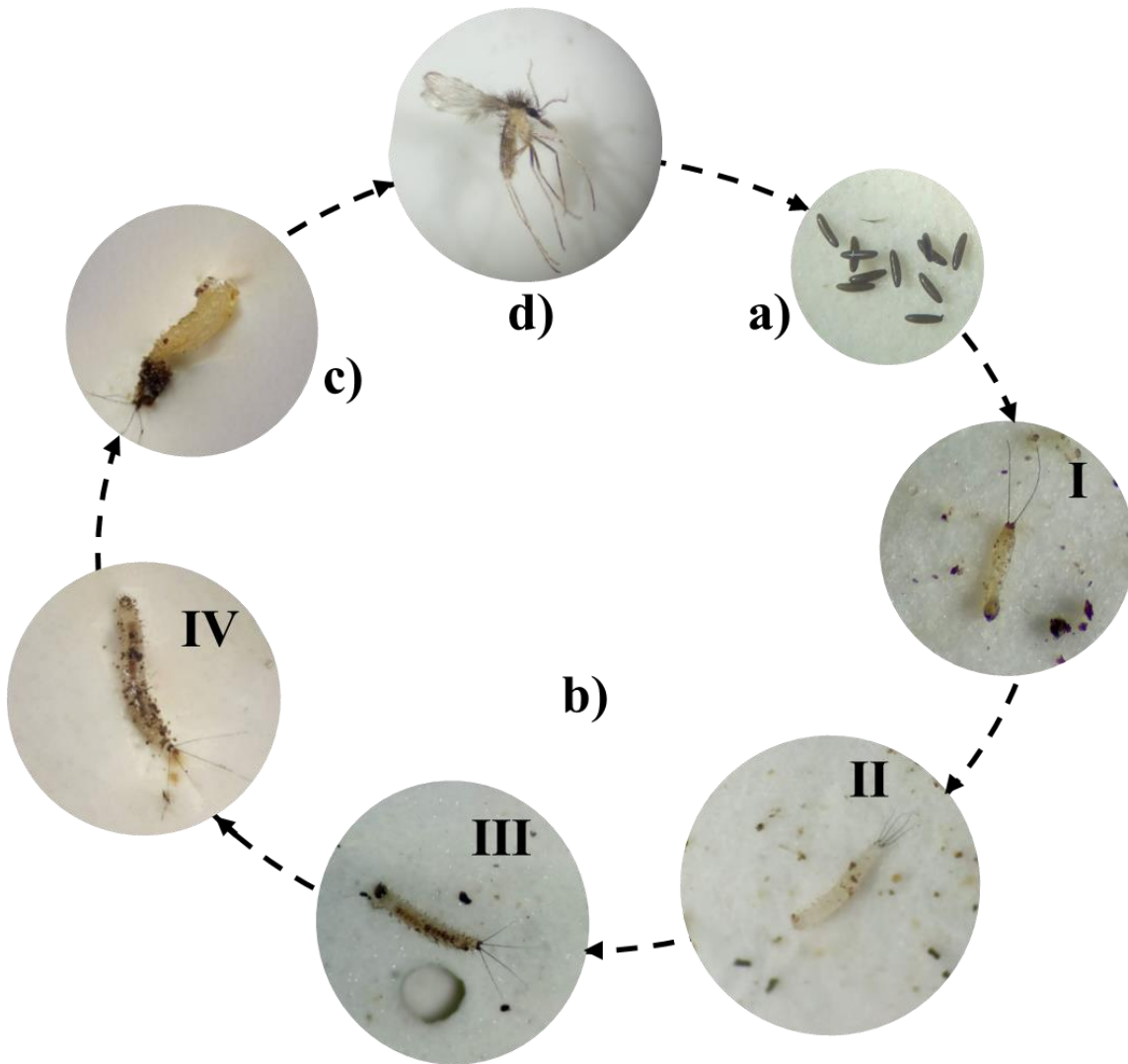


Figura 24: Ciclo de vida de *Lu. longiflocosa*, a) huevo, b) larva “4 instares”, c) pupa, d) adulto.

5.2.2 Promedio ponderado del periodo del ciclo de vida

Los datos de la duración del ciclo de vida por estadios y por fase muestreada (semicampo 1, semicampo 2 y laboratorio) presentan una distribución normal con un $P > 0,05$, los ANOVAS unifactoriales del tiempo de duración de cada periodo fueron de $P > 0,05$ por consiguiente, se acepta la hipótesis nula y se determina que no hay diferencias estadísticamente significativas en la duración del ciclo de vida en las diferentes fases (Figura 25).

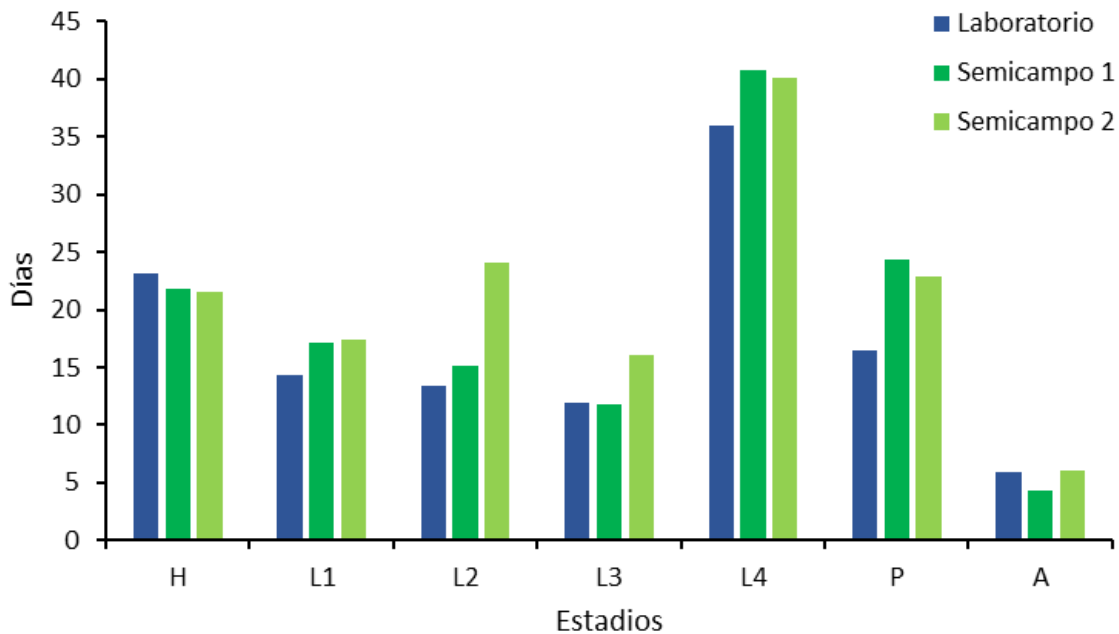


Figura 25: Promedio ponderado del periodo de ciclo de vida de *Lu. longiflocosa* por estadios pre-reproductivos y reproductivos en las diferentes fases. H: Huevo, L1: Larva 1, L2: Larva 2, L3: Larva 3, L4: Larva 4, P: Pupa, A: Adulto.

Los estadios presentaron diferentes tiempos de desarrollo, los cuales son: la duración promedio del estadio huevo fue de 22 días, con un rango entre 16 - 32 días. El estadio larval 1 tuvo una duración promedio de 16 días con rango entre 4 - 39 días. La del estadio larval 2 fue de 17 días con rango entre 5 - 37 días, no obstante, el periodo semicampo 2 la duración fue mayor de 25 días. La duración media del estadio larval 3 fue de 13 días con rango entre 5 - 50 días, sin embargo, la longevidad promedio de la fase semicampo 2 de 16 fue la más alta. La duración promedio del estadio larval 4 fue la más larga a comparación de los otros estadios y duró 38 días con rango entre 14 - 71 días, por el contrario, el laboratorio fue menos longevo con un valor promedio de 36 días. La duración promedio de la pupa fue de 21 días, con rango entre 10 - 44 días, pese a que en el laboratorio la duración promedio fue la más baja con un valor promedio de 17 días. El tiempo de duración del adulto en comparación de los otros estadios fue el más corto y presentó una duración de 5 días con un rango entre 1 - 33 días. Además, los machos vivieron menos con valores promedio de 5 días a comparación de las hembras cuya longevidad se posicionó en un valor de 7 días. El periodo de laboratorio tuvo de manera general la menor duración en los estadios larvales y el estadio de pupa, a comparación de los periodos de semicampo 1 y 2, lo anterior se puede observar detalladamente en el (Anexo 11.2).

5.2.3 Atributos de desarrollo.

Los diversos atributos de desarrollo (Tabla 5) permitieron entender las características de los parámetros de tablas de vida de *Lu. longiflocosa* (Tabla 8). Sin embargo, no se encontraron diferencias comparando los atributos de desarrollo entre las diferentes fases $P > 0,05$, por lo

tanto, se acepta la hipótesis nula. Por otra parte, el porcentaje de eclosión en la fase semicampo 2 fue el valor más alto de 77%, sin embargo, la productividad y la pupación fueron las más bajas con valores de 35% y 36% respectivamente. Semicampo 1 presentó la más alta productividad y pupación de 73% y 77% respectivamente. La fase de laboratorio presentó los valores más bajos de eclosión, productividad y pupación de 50%, 40% y 41% respectivamente. Por último, la emergencia adulta se mantuvo constante en todas las fases.

Tabla 8: Atributos de desarrollo de *Lu. longiflocosa*

Atributo	Laboratorio	Semicampo 1	Semicampo 2
Eclosión %	0,50	0,64	0,77
Productividad %	0,40	0,73	0,35
Pupación %	0,41	0,77	0,36
Emergencia adulto %	0,97	0,94	0,97

5.3 Tablas de vida de *Lu. longiflocosa*

5.3.1 Metodología FIFO

En los análisis de los parámetros de las tablas de vida, utilizando ANOVA unifactorial para días promedio vs número de individuos a_x o n_x y tasa de mortalidad q_x respectivamente, se encontró que los valores fueron $P > 0,05$, por lo cual, no hay diferencias estadísticamente significativas en los días promedio vs los parámetros a_x y q_x en las diferentes fases estudiadas. Lo anterior se puede ver detallado en (Tabla 9).

Tabla 9: Parámetros de tablas de vida de *Lu. longiflocosa* metodología FIFO.

Estadio	Días promedio			a_x			l_x			d_x			q_x			L_x			T_x			e_x		
	Lab	S1	S2	Lab	S1	S2	Lab	S1	S2	Lab	S1	S2	Lab	S1	S2	Lab	S1	S2	Lab	S1	S2	Lab	S1	S2
H	23,1	21,8	21,5	708	645	490	1,00	1,00	1,00	356	229	114	0,503	0,355	0,233	530	531	433	1522	2471	1417	2,15	3,83	2,89
L (I)	14,4	17,2	17,4	352	416	376	0,50	0,64	0,77	156	21	154	0,220	0,033	0,314	274	406	299	992	1940	984	2,82	4,66	2,62
L (II)	13,4	15,1	24	196	395	222	0,28	0,61	0,45	20	30	59	0,028	0,047	0,120	186	380	193	718	1535	685	3,66	3,88	3,09
L (III)	11,9	11,8	16	176	365	163	0,25	0,57	0,33	19	16	16	0,027	0,025	0,033	167	357	155	532	1155	492,5	3,02	3,16	3,02
L (IV)	36	40,7	40,1	157	349	147	0,22	0,54	0,30	11	28	13	0,016	0,043	0,027	152	335	141	365,5	797,5	337,5	2,33	2,29	2,3
P	16,5	24,3	22,9	146	321	134	0,21	0,50	0,27	5	19	4	0,007	0,029	0,008	144	312	132	214	462,5	197	1,47	1,44	1,47
A	5,96	4,29	6,04	141	302	130	0,20	0,47	0,27	141	302	130	1,000	1,000	1,000	70,5	151	65	70,5	151	65	0,5	0,5	0,5

Significado de las abreviaturas (Tabla 3).

Por otra parte, la tasa de mortalidad más alta se encontró en el estadio huevo en laboratorio con un valor de q_x : 0,5, mientras que en la fase semicampo 2 en los estadios huevo, larva 1 y larva 2 los valores altos de mortalidad fueron de q_x : 0,2, 0,3, 0,1 respectivamente; a comparación de la fase semicampo 1 cuyo valor más alto de mortalidad al igual que en el laboratorio fue en el estadio huevo con un valor de q_x : 0,3.

La supervivencia más alta se presentó en la larva 1 de la fase semicampo 2 con un valor de l_x : 0,7, no obstante, la supervivencia en semicampo 1 mantuvo valores altos y constantes en los diferentes estadios, lo cual se encuentra relacionado con los datos de expectativa de vida para la fase semicampo 1 porque presentó los valores más altos.

Los adultos eclosionados de la generación F1, morían al cabo de 1-5 días, y las hembras al cabo de unas horas de ser alimentadas, por consiguiente, no se pudieron registrar los datos de fertilidad y fecundidad de la F1 pero si de la F0 o generación parental.

5.3.1.1 Curva de supervivencia

La curva de supervivencia obtenida fue una curva tipo III, la tasa de supervivencia decrece sustancialmente en huevos y larva hasta llegar al estadio larval 2 en un rango entre $l_x:0,28-0,61$. En el laboratorio se obtuvo la tasa de supervivencia más baja en la fase semicampo 1 se presentó la tasa de supervivencia más alta (Figura 26 a). En la (Figura 26 b); se pueden evidenciar dos momentos críticos en la supervivencia: entre las semanas 4 y 8 en los estadios larvales 1 y 2; por otro lado, entre las semanas 16 y 27 en donde los flebotomos empiezan a emerger a adultos y a morir paulatinamente terminando así su ciclo de vida.

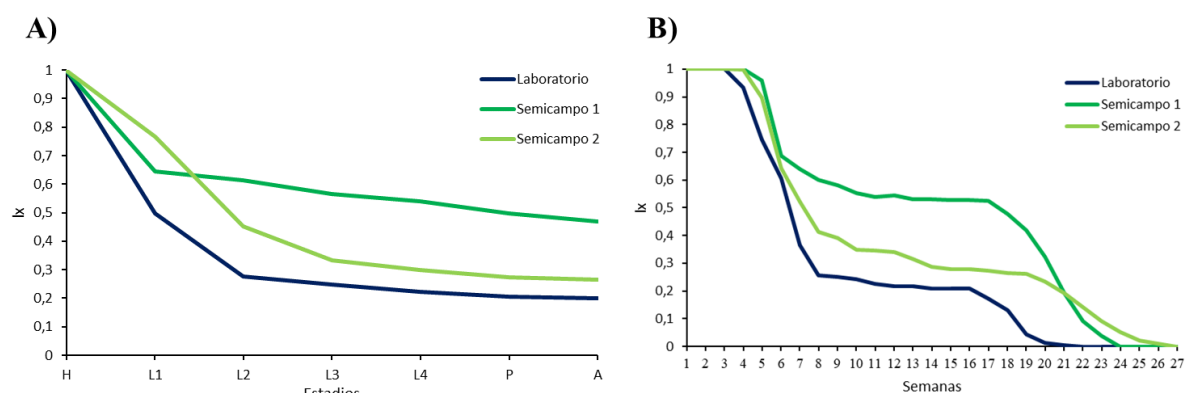


Figura 26: Curva de supervivencia de *Lu. longiflocosa* en las diferentes fases. A) Curva de supervivencia por estadio, H: Huevo, L1: Larva 1, L2: Larva 2, L3: Larva 3, L4: Larva 4, P: Pupa, A: Adulto; B) Curva de supervivencia por semana.

5.3.1.2 Tasa de mortalidad

Las tasas de mortalidad más altas para todos los periodos se encontraron en el estadio huevo, larva 1 y larva 2 los valores fueron más altos entre $q_x:0,3-0,5$. Por otra parte, las tasas de mortalidad más bajas se encontraron en los estadios larva 3, larva 4 y pupa con valores de $q_x < 0,15$ (Figura 27).

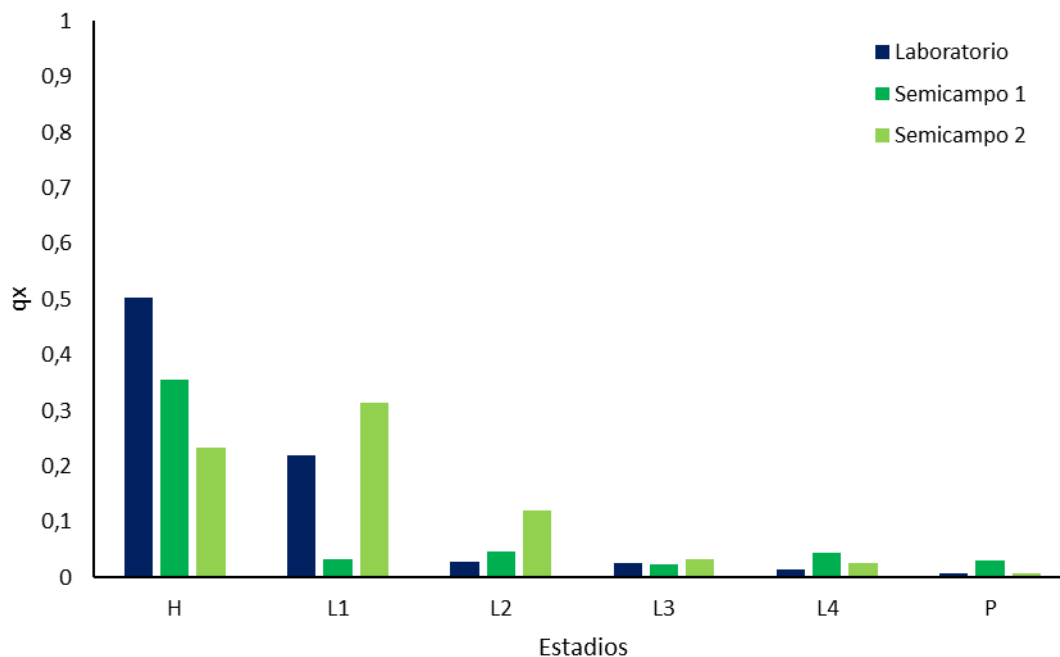


Figura 27: Tasa de mortalidad de *Lu. longiflocosa* en los diferentes periodos por estadio. H: Huevo, L1: Larva 1, L2: Larva 2, L3: Larva 3, L4: Larva 4, P: Pupa, A: Adulto.

Al realizar el ANOVA, no se encontraron diferencias en las tasas de mortalidad de los distintos estadios en los periodos muestreados, con $P > 0,05$. Sin embargo, se puede observar una leve diferencia en las tasas de mortalidad del periodo semicampo 1 a comparación del periodo semicampo 2, ya que larva 1 y larva 2 para semicampo 1 fue de $q_x: 0,03$ y $0,04$ respectivamente, mientras que para semicampo 2 se obtuvieron valores de $q_x: 0,31-0,12$ respectivamente (Figura 27).

Las tasas de mortalidad para los periodos estudiados no se relacionaron con ninguna de las condiciones climáticas. Las pruebas de MANOVA para determinar la relación entre las tasas de mortalidad y las condiciones climáticas por mes (temperatura, precipitación y humedad relativa) en los diferentes periodos, no fueron significativas $P > 0,05$. No obstante, se puede evidenciar que en semicampo 1 se presentaron las tasas más bajas de mortalidad y las mayores tasas de supervivencia (Figura 26 y Figura 27). Este muestreo se llevó a cabo en la temporada seca entre los meses de febrero-agosto de 2020.

5.3.1.3 Expectativa de vida

La expectativa de vida por estadio varía ligeramente en los estadios huevo, larva 1 y larva 2. Por otra parte, si se suman los promedios del tiempo de desarrollo de cada uno de los periodos para periodo semicampo 1 fue de 162,43 días, el de semicampo 2 fue de 159,63 días, y el de laboratorio fue de 98,70 días. La expectativa de vida de *Lu. longiflocosa* de un huevo recién ovipositado fue de 12,7, 10,1 y 7,5 días para los periodos semicampo 1, semicampo 2 y laboratorio respectivamente. Además, el periodo que mostró una disminución drástica de la expectativa de vida a lo largo de las semanas fue el de laboratorio, por otra parte, el periodo semicampo 1 tuvo la mejor expectativa de vida desde la semana 1 hasta la semana 10, no

obstante, después de la semana 10 los valores de expectativa más altos fueron los del periodo semicampo 2 (Figura 28).

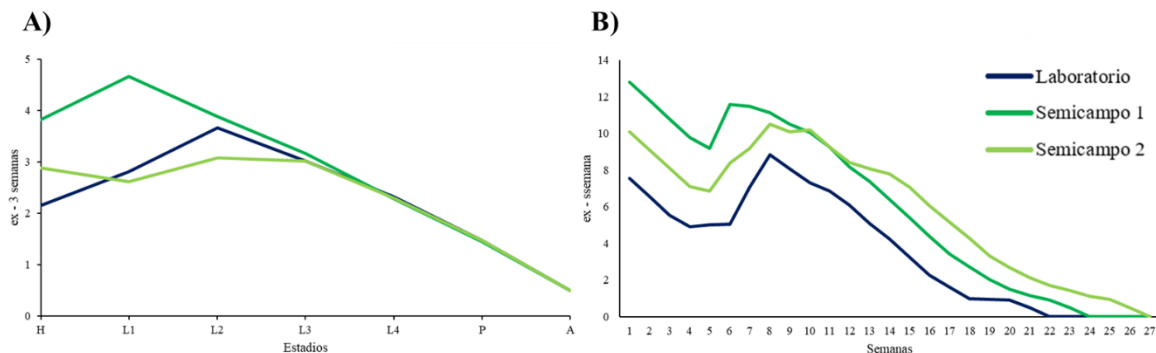


Figura 28: Curva de expectativa de vida de *Lu. longiflocosa* en los diferentes periodos. A) Curva de expectativa de vida por estadio. H: Huevo, L1: Larva 1, L2: Larva 2, L3: Larva 3, L4: Larva 4, P: Pupa, A: Adulto; B) Curva de expectativa de vida por semana. - Laboratorio, - Semicampo 1, - Semicampo 2

5.3.2 Metodología MPM

La tabla de vida de *Lu. longiflocosa* metodología MPM mostró valores diferentes para el número reproductivo básico o R_0 , el valor más alto fue el de semicampo 1 con un valor de 10,03, seguido por el laboratorio de 4,7 y por último semicampo 2 con un valor de 4,3. Además el \bar{T} nos indica que aproximadamente se necesitan entre 17-19 semanas para que se complete una generación de *Lu. longiflocosa* ya sea en las condiciones de semicampo como de laboratorio. Por otro lado, el valor de fertilidad más bajo se encontró en semicampo 2 con un valor de 16 seguido de semicampo 1 con un valor de 21 y por último el valor más alto se encontró en el laboratorio con un valor de 23 (Tabla 10).

Tabla 10: Parámetros de tablas de vida de *Lu. longiflocosa* metodología MPM.

Periodo	Parámetro						
	λ	r^*	R_0	μ_1	f	\bar{T}	L
Laboratorio	1,09	2,98	4,7	83,34	23,6	17,09	7,98
Semicampo 1	1,12	3,09	10,03	209,74	21,42	18,95	14,29
Semicampo 2	1,07	2,93	4,3	88,54	16,33	19,70	10,6

5.4 Ciclo gonotrófico

5.4.1 Ciclo gonotrófico

Solamente se pudo determinar un ciclo gonotrófico, ya que las hembras morían rápidamente después de su primera ovipostura. Además, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la duración del ciclo gonotrófico $P > 0,05$. El valor más alto correspondió a la fase de laboratorio con un valor de 11,77 días, seguido de semicampo 2 con un valor promedio de 10,53 días y la fase más baja se encontró en semicampo 1 con un valor de 8,80

días (Figura 29), (anexo 11.7). Los valores previamente reportados se encuentran relacionados con los datos de eclosión (Tabla 7), ya que mayor cantidad de días del ciclo gonotrófico, el porcentaje de eclosión fue menor. Los adultos de la F0 retuvieron en promedio un rango entre 10 – 14 huevos, la oviposición se encontró en un rango promedio entre 17 – 20 huevos, y la eclosión se halló en un rango promedio entre 10-12 huevos.

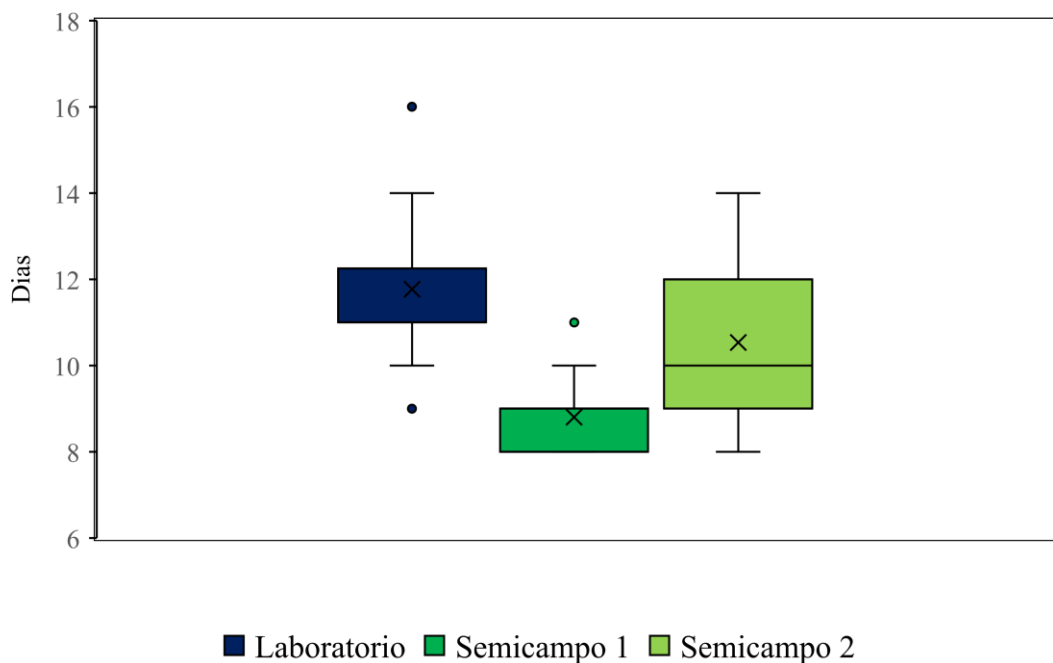


Figura 29: Boxplot del primer ciclo gonotrófico en las diferentes fases.

5.4.2 Fertilidad y fecundidad del ciclo gonotrófico

Los huevos retenidos por hembra, en las diferentes fases estuvo entre 10-14 huevos, en semicampo 2 se presentó la mayor cantidad de huevos retenidos con un valor de 14, seguido de semicampo 1 con 12 y por último la fase de laboratorio con 11 (Anexo 11.7). La cantidad de huevos ovipositados en *Lu longiflocosa* varía ampliamente, los valores se encuentran entre 2-48 huevos por hembra, sin embargo, en la fase de semicampo 1 se obtuvo la mayor cantidad de huevos ovipositados con un valor de 20 huevos por hembra. No hay diferencias en el porcentaje de fertilidad y fecundidad (Tabla 3), en las fases muestreadas el nivel de significancia para todas las fases fue de $P > 0,05$. Sin embargo, la fase semicampo 1 presentó el índice promedio mayor de fertilidad con un valor de 0,62, seguido de la fase de laboratorio con un valor de 0,46 y por último la fase de semicampo 2 con un valor de 0,34. Por otra parte, la fecundidad más alta se encontró en la fase de semicampo 2 con un valor de 0,73 seguido de la fase semicampo 1 con un valor de 0,58 y por último la fase de laboratorio con un valor de 0,50 (Figura 30).

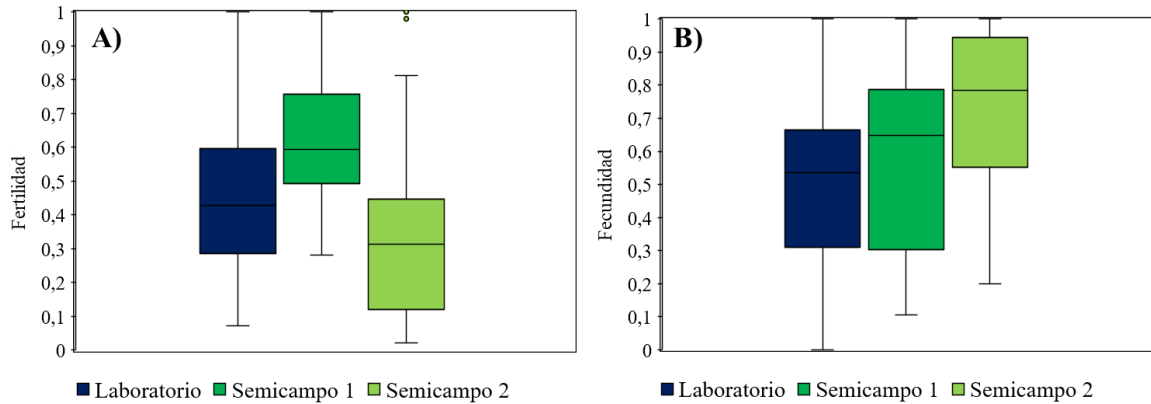


Figura 30: Boxplot comparativo de la fertilidad y fecundidad de las fases en el primer ciclo gonotrófico. A) Fertilidad, B) Fecundidad.

6. Discusión

La duración promedio del ciclo de vida de *Lu. longiflocosa* se encontró en un rango de 121 – 148 días, a comparación de lo reportado en estudios previos, donde la duración del ciclo de vida en condiciones de laboratorio para las especies *Lu. longipalpis*, *Lu. evansi*, *Lu. cruciata*, *Lu. ovallesi*, *Lu. diabólica*, *Lu. shannoni*, *Lu. spinicrassa*, *Lu. torvida* y *Lu. longiflocosa*, fueron de 40, 40, 52, 62, 70, 72, 89, 96.8 y 93.8 días respectivamente (Cabrera & Ferro, 2000; Cabrera et al., 1999; Escovar, Bello, Morales, et al., 2004; Ferro. et al., 1998; Killick-Kendrick et al., 1977; Lawyer, 1984; Mann R. & Kaufman, 2010; Martínez et al., 2012; Montes et al., 2017; Neira et al., 1998). Los valores mostrados por *Lu. spinicrassa*, *Lu. torvida* y *Lu. longiflocosa* presentaron la mayor similitud en la duración del ciclo de vida con respecto al presente experimento en *Lu. longiflocosa* (Figura 25). Lo anterior se debe posiblemente a que las condiciones ambientales eran similares, como lo es la humedad relativa de 85- 90% y la temperatura de 20-25°C; además, las especies pertenecen a la serie *townsendi* y por la cercanía filogenética también tienen fisiologías similares.

Pese a que las variaciones leves de temperatura, precipitación y humedad relativa encontradas en Campoalegre, Huila (Figura 20-23), no están directamente relacionadas con la tasa de mortalidad $P > 0,05$; pueden estar influyendo en los parámetros de vida de la especie de manera indirecta o en su defecto puede que otras variables no contempladas en esta investigación condicionen el ciclo de vida de *Lu. longiflocosa*, ya que los valores de atributos de desarrollo en *Lu. longiflocosa* (Tabla 8), fueron diferentes en las fases muestreadas. Es posible que las condiciones de la fase de semicampo 1 fueron más favorables para la aptitud biológica o fitness de la especie porque se llevó a cabo en un periodo seco, como se observó en los diferentes valores obtenidos 73%, 77% y 94% para productividad, pupación y emergencia de adultos respectivamente (Begon et al., 2005). Estos datos están de acuerdo con lo reportado por Vargas (2020), quien halló la mayor abundancia de adultos de *Lu. longiflocosa* de 81,3PGw en el mes de agosto del año 2019 en Campoalegre, Huila.

Aunque se ha observado en otras especies de insectos que pueden crecer más a bajas temperaturas, en el caso de *Lu. cruciata* y *Lu. spinicrassa*, se caracterizan por presentar

múltiples ornamentaciones poligonales en la superficie de sus huevos, los cuales pueden llegar a medir entre 300-350 μm . (Castillo et al., 2015; Escovar, Bello, & Moncada, 2004), similar a los encuentros en el presente trabajo donde *Lu. longiflocosa* obtuvo una longitud promedio de 335 μm (Figura 24 a). Por otra parte, teniendo en cuenta lo mencionado por Castillo et al., (2015), *Lu. diabolica* tiene una longitud máxima en los cuatro estadios de 1, 1,6 , 2,4, 3,6 mm respectivamente; además, las características morfológicas se asemejan a lo encontrado en los estadios larvales 1 – 4 en *Lu. longiflocosa* donde la longitud promedio fue de 2, 3,3, 4 y 4,1mm (Figura 24 b). Según lo reportado por el investigador Méndez, (2021) *Lu. longiflocosa* en su cuarto estadio larval tiene una cabeza ovoide con antenas cortas, múltiples setas a lo largo de su cuerpo y una estructura quitinizada en el último segmento abdominal; lo anterior se encuentra relacionado con la morfología en el estadio larval 4 (Figura 24 b). La pupa de *Lu. cruciata* tiene forma elíptica es inmóvil, tiene una longitud de 1,8 mm y se observa la formación de la cabeza, los ojos y la antena del adulto (Castillo et al., 2015), se asemeja a la estructura encontrada en *Lu. longiflocosa* (Figura 24 c), sin embargo, la longitud promedio fue de 4,1. Por otra parte, los adultos presentan un leve dimorfismo sexual porque la longitud del macho es de 3,8 mm y de la hembra de 4,2 mm (Figura 24 d). Sin embargo, se cree que las diferentes condiciones ambientales y recursos pueden influir en la longitud en las especies de *Lutzomyia*.

La extrema sensibilidad de los flebotomos hacen que sean organismos de difícil manipulación para la realización de investigaciones científicas, por lo tanto, son pocos los estudios que se han llevado a cabo sobre el ciclo de vida; ente las especies más estudiadas por su versatilidad y facilidad de manipulación se encuentran *Phlebotomus papatasi* y *Lutzomyia longipalpis* (Volf & Volfova, 2011). De hecho, del género *Lutzomyia* el primer reporte del ciclo de vida fue realizado en *Lu. longipalpis* (Killick-Kendrick et al., 1977), también hay otros reportes del ciclo de vida realizados en condiciones de laboratorio, para *Lu. torvida*, *Lu. longiflocosa* (Neira et al., 1998), *Lu. diabolica* (Lawyer, 1984), *Lutzomyia spinicrassa*, *Lu. quasitownsendi*, *Lu. youngi* (Cabrera & Ferro, 2000), *Lu. spinicrassa* (Escovar, Bello, Morales, et al., 2004), *Lu. evansi* (Martínez et al., 2012), *Lu. shannoni* (Ferro. et al., 1998; Mann R. & Kaufman, 2010), *Lu. ovallesi* (Cabrera et al., 1999), *Lu. cruciata* (Castillo et al., 2015)

En este estudio el estadio pre-reproductivo con mayor tiempo de duración fue la larva 4 en las fases semicampo 1, semicampo 2 y laboratorio con valores de 41, 40 y 36 días respectivamente. En contraste el estadio más corto fue la larva 3 con valores de 12, 16 y 12 días respectivamente (Tabla 9), lo cual, coincide con lo reportado por (Escovar et al, 2004 & Neira, et al, 1994) en *Lu. spinicrassa* y *Lu. longiflocosa* respectivamente. El estadio más duradero en *Lu. spinicrassa* fue la larva 4 de 20,79 días y el estadio menos longevo fue larva 3 de 8,94 días; mientras tanto el estudio en *Lu. longiflocosa* en condiciones de laboratorio el estadio más largo fue el estadio larval 4 con un valor de 30,7 días, sin embargo, el estadio más corto fue la larva 2 de 9,12 días; por lo tanto se cree que las condiciones del laboratorio de 23 – 25°C y humedad relativa estable de 90% pudieron haber alterado la duración de los estadios pre-reproductivos. La duración en la larva 4 se puede atribuir a que en esta fase la

larva necesita acumular una gran cantidad de minerales para transformarse a pupa y luego a adulto.

Dada la causa desconocida de la mortalidad temprana de los adultos en *Lu. longiflocosa* (Tabla 9), se estimó la tasa reproductiva neta o R_0 teórico siguiendo la tabla de vida MPM (Tabla 10), el valor más alto fue obtenido en la fase semicampo 1 de 10,03, indica que aproximadamente cada individuo será remplazado por diez individuos en la siguiente generación, a comparación de la fase semicampo 2 cuyo valor fue de 4,3 y la fase laboratorio de 4,7. Adicionalmente el \bar{T} determinó que el tiempo que tarda en producirse una nueva generación está entre 17-19 semanas. No obstante los valores de estos modelos son estimaciones que se basan en probabilidades estocásticas y ayudan a determinar el modelo ideal de una población (Caswell, 2001) sin embargo, desconocen la influencia de factores externos naturales que afectan la aptitud de la especie, tales como migración, depredación, respuesta a estímulos ambientales y entre otros.

La curva de supervivencia en las diferentes fases fue una curva tipo III (Figura 26 a y b). Similar a la reportada por (Escovar, Bello, & Moncada, 2004; Montes et al., 2017). En el laboratorio la curva de supervivencia decrece sustancialmente hasta el estadio larval 2 de I_x de 1, 0,45 y 0,28 respectivamente. Datos similares fueron encontrados por Escovar, Bello & Moncada, (2004), con *Lu. spinicrassa* en laboratorio en el cual la supervivencia promedio en los estadios huevo, larva 1 y larva 2 fue de 0,9, 0,5 y 0,25% respectivamente.

Por otra parte, Neira, et al, (1998), con *Lu. longiflocosa* determinaron los mayores porcentajes de mortalidad en los estadios huevo y larva 4 de 17,3 y 7,25% respectivamente. En este caso el único valor que coincide en los dos grupos fue el de la mortalidad hallada en el estadio huevo (Figura 27), en las diferentes fases muestreadas semicampo 1, semicampo 2 y laboratorio con valores de 35, 23 y 50% respectivamente. Se cree que el estadio huevo es el que presenta la mayor mortalidad por dificultades en la fecundidad relacionada con: condiciones de estrés en las hembras parentales, la fuente sanguínea de la cual se obtiene la sangre y la cantidad ingerida, los tiempos de duración en la maduración de los huevos, la disponibilidad de recursos en el ambiente (Moraes et al., 2018; Sant-Anna et al., 2010; Souza et al., 1995). Además, los altos índices de mortalidad en los estadios larvales 1 y 2 se cree que se encuentran relacionados con la vulnerabilidad de los organismos en esta fase frente a depredadores naturales como hongos, ácaros y bacterias oportunistas (Escovar, Bello, & Moncada, 2004)

La duración del ciclo de vida fue mayor en semicampo 2 (condiciones de lluvias) y la menor en laboratorio, lo anterior se encuentra estrechamente relacionado con los valores de expectativa de vida (Figura 28 b). Debido a que la expectativa de vida más alta fue la de semicampo 2 con un valor de 27 semanas, seguido de semicampo 1 de 24 semanas y el laboratorio de 21 semanas. Las diferencias en la expectativa de vida pueden atribuirse a las condiciones abióticas porque se han reportado variaciones en la dinámica poblacional de rezago de flebotomos frente a cambios ambientales de temperatura, precipitación y humedad relativa (Cheghabalaki et al., 2019; Vargas, 2020; Ximenes et al., 2006). Adicionalmente, los valores de expectativa de vida por semana a comparación por estadio en la fase semicampo

2 fueron diferentes (Figura 28), porque de huevo a larva 1 hay una disminución de 3 – 2,5 meses y por semanas de la semana 1 – 4 hubo una disminución y un aumento de la semana 4 – 8. Lo anterior se debe a que los datos por estadio se rigen por las duraciones de los estadios que varían en cantidad de días promedio, a comparación de la expectativa de vida que es más precisa por ser una medida uniforme en unidad de tiempo (Tabla 9).

Neira, *et al* (1998), reportaron que la duración del ciclo gonotrófico fue mayor que la longevidad de la F1, ya que la longevidad promedio informada por los de los investigadores fue de siete días mientras que la obtenida en este trabajo fue de cinco días. Sin embargo, la duración del ciclo gonotrófico reportada por los investigadores fue de 7,5 días y se asemeja a la duración encontrada en semicampo 1 que fue de 8,8 días; pero los valores del ciclo gonotrófico para semicampo 2 y laboratorio fueron superiores de 10,5 y 11,7 días respectivamente, el nivel de similitud se puede atribuir a las condiciones de los muestreos porque pese a que los investigadores muestrearon en otra área geográfica los individuos fueron recolectados en febrero y marzo del año 1997 en un periodo seco, justamente la captura semicampo 1 fue muestreada en el mes de febrero del año 2020.

En promedio una hembra de *Lutzomyia spp.* puede llegar ovipositar entre 30 a 70 huevos por ciclo gonotrófico bajo unas condiciones de humedad y temperatura óptimas con presencia de materia orgánica (Cecílio et al., 2022). Lo cual, no se encuentra asociado con lo encontrado en *Lu. longiflocosa* porque en promedio cada hembra oviposita 12 huevos, además en promedio un 29% del total de los huevos por hembra son retenidos, por consiguiente, en promedio un 71% de los huevos son ovipositados, sin embargo, de los huevos ovipositados en promedio solamente un 55% logra eclosionar; lo anterior se encuentra asociado con los índices de fertilidad de 0,34-62 y fecundidad de 0,50-0,73 (Figura 30). Además (Lawyer, 1984) halló que los estadios huevo y larva 1 de *Lu. diabólica* pueden llegar a reducir su actividad metabólica (diapausa), si las condiciones ambientales son desfavorables.

Lu. longiflocosa se considera como el posible vector principal de la mayoría de las epidemias de (LC) (causadas por *L. braziliensis* y *L. guyanensis*), en la región subandina de Colombia, entre 1.100 y 2.400 m.s.n.m. (Morales et al., 2004; Pardo, 2006). En el departamento del Huila han sido reportadas las especies de *Leishmania*: *L. panamensis*, *L. braziliensis*, *L. guyanensis*, *L. infantum* (Salgado et al., 2019). Lo precedente indica la posible asociación de *Lu. longiflocosa* con el parásito, el cual es uno de los pasos para lograr la incriminación de la especie de *Lutzomyia* como vector de *Leishmania*, En consecuencia, es importante obtener información del comportamiento de este flebótomo para entender la dinámica de transmisión de la leishmaniasis en la zona. En ese sentido, es importante profundizar en el papel que tienen las condiciones ambientales, como temperatura, humedad relativa, intensidad lumínica y otras; y en factores sociales como el uso de las tierras entre otros factores, en los parámetros poblacionales, la mortalidad temprana de los adultos, la duración del ciclo gonotrófico, si hay o no diapausa como se ha informado en otras latitudes o la reducción del metabolismo de los huevos frente a condiciones climáticas adversas.

Un posible sesgo de esta investigación es que se desconoce la fuente alimenticia que utiliza la especie *Lu. longiflocosa* en su hábitat natural. Por lo tanto, es importante llevar a cabo un

estudio para comprender cómo la fertilidad y fecundidad de las hembras se ven afectadas por diferentes fuentes de alimentación. En otras palabras, muchas especies de *Lutzomyia* prefieren alimentarse de aves “ornitofilia”, por lo que es crucial investigar las preferencias alimenticias y como esto puede llegar a afectar el ciclo de vida de los flebótomos.

7. Conclusiones

El desarrollo del presente trabajo permitió establecer las siguientes conclusiones:

- No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros de las tablas de vida en las fases muestreadas, no obstante semicampo 1 (condiciones de sequía), presentó los mejores valores de supervivencia, atributos de desarrollo, fertilidad y R_0 teórico indicándonos que la especie tuvo una mejor aptitud biológica en esta fase, frente a las condiciones climáticas muestreadas también se encuentra relacionado con la mayor abundancia de la especie en los meses de julio-agosto en Campoalegre.
- Los parámetros de tablas de vida obtenidos para *Lu. longiflocosa* en laboratorio permiten inferir que las condiciones estables de laboratorio permiten al menos su colonización temporal. Es posible que para el establecimiento definitivo se necesiten algunas condiciones que no se están teniendo en cuenta, por lo tanto, es importante revisar este aspecto para poder determinar el papel que juega la especie en la transmisión de *Leishmania* en la región.
- El estadio larval 4 presentó la mayor duración y el adulto tuvo la menor duración, sin embargo, se desconoce la prematura mortalidad de los adultos eclosionados en los diversos periodos muestreados.
- La tabla de vida MPM, es una novedosa metodología, sencilla y práctica que permite estimar características de una especie como supervivencia, tiempos de desarrollo y fertilidad; en organismos que se dificulte la obtención de las tablas de vida ya sea por su vulnerabilidad a los cambios ambientales, o la compleja diferenciación de estadios.
- Este estudio sirve como base para aportar al conocimiento de los flebótomos, en especial de la especie *Lu. longiflcosa*, con el objetivo de determinar a futuro la capacidad vectorial de la especie, comprobar su implicación en la transmisión de *Leishmania spp*, y conocer su importancia en temas de salud pública.

8. Recomendaciones

- Se hace un llamado a seguir investigando los aspectos biológicos de la especie, porque se podría obtener valiosa información que aportaría a los estudios de prevención, predicción y control vectorial de los flebótomos
- Se sugiere hacer un estudio de tablas de vida de *Lu. longiflocosa* frente a diversas condiciones de temperatura, precipitación y humedad relativa en condiciones de laboratorio, con el propósito de determinar la posible diapausa de algunos de los estadios de la especie también su aptitud o respuesta frente a diversos escenarios del cambio climático.
- Se propone investigar el papel que cumple *Lu. longiflocosa* en la transmisión de *Leishmania spp*, en Campoalegre, Huila.

- Se sugiere investigar las causas de la temprana mortalidad de los adultos al cabo de unos días de eclosionar, porque dados los valores de duración del ciclo gonotrófico se estima que la longevidad de los adultos es mayor, además conocer la causa de la mortalidad ayudara a conocer más sobre la capacidad vectorial del organismo en condiciones naturales.
- Se recomienda usar la metodología tablas de vida MPM en organismos de difícil investigación o manipulación, ya que la técnica presenta una aproximación a los parámetros de tablas de vida.

9. Componente ético

En los últimos años se han creado diferentes normas que aseguran el bienestar y la protección de los animales, proponiendo normas que revisen, regulen y definan el trato de los investigadores hacia los animales en las investigaciones científicas (David Favre, 2016).

En Colombia la resolución 8430 de 1993 del ministerio de salud en los artículos 2, 4, 87, 88, 90, 91 y 92; establece la normatividad para la investigación en salud con el uso de animales (Ministerio de salud de Colombia, 1993). De acuerdo con los principios éticos establecidos en la norma y en cumplimiento de ellos el componente ético de esta investigación fue aprobado por el comité de ética de la Universidad de la Salle mediante el acta 35 del 2019, por lo cual la investigación se desarrolló conforme a los siguientes criterios:

- Se habilitó un "bioterio" para permitir el crecimiento, desarrollo, reproducción y comportamiento de los animales, garantizando su cuidado y bienestar. Debido a que no todas las especies de insectos hematofagos se alimentan de alimentadores artificiales y porque los flebótomos son de difícil colonización, se optó por utilizar hamsters que se ha comprobado que los flebótomos se alimentan adecuadamente de ellos.
- Se realizaron ensayos en animales para comprender principios fundamentales biológicos y desarrollar medios u alternativas para garantizar el bienestar de los mismos.
- Se procuró usar el menor número de animales para el proyecto.

10. Bibliografía

- Almanza Rodriguez, C. J. (2008). *Estudio del ciclo biológico del vector de Leishmaniasis Visceral Lutzomyia evansi (Nuñez-Tovar, 1924)(Diptera psychodidae) bajo condiciones de laboratorio.* (Biólogo), Universidad de sucre, Sincelejo.
- Alvar, J., Aparicio, P., Aseffa, A., Den Boer, M., Cañavate, C., Dedet, J. P., . . . Moreno, J. (2008). The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. *Clin Microbiol Rev*, 21(2), 334-359, table of contents. doi:10.1128/cmr.00061-07
- Amato, V., Tuon, F., Bacha, H., Neto, V., & Nicodemo, A. (2008). Mucosal leishmaniasis: Current scenario and prospects for treatment. *Acta Trop*, 105(1), 1-9. doi:<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2007.08.003>
- Bates, P., Depaquit, J., Galati, E., Kamhawi, S., Maroli, M., McDowell, M., . . . Warburg, A. (2015). Recent advances in phlebotomine sand fly research related to leishmaniasis control. *Parasites & Vectors*, 8(1), 131. doi:10.1186/s13071-015-0712-x
- Begon, M., Townsend, C., & Harper, J. (2005). *Ecology: From Individuals to Ecosystems* (Vol. 51).

- Bejarano, E., & Estrada, L. (2016). Family psychodidae. *Zootaxa*, 4122, 187. doi:10.11646/zootaxa.4122.1.20
- Bejarano, E., Rojas, W., Uribe, S., & Vélez, I. (2003). Sistemática de especies de *Lutzomyia* del grupo verrucarum Theodor, 1965 (Diptera: Psychodiadae). *Biomedica*, 23(1), 87-102. doi:10.7705/biomedica.v23i1.1200
- Brazil, R., & Brazil, B. (2018). Bionomy: Biology of Neotropical Phlebotomine Sand Flies. In E. Rangel & J. Shaw (Eds.), *Brazilian Sand Flies : Biology, Taxonomy, Medical Importance and Control* (pp. 299-318). Cham: Springer International Publishing.
- Cabrera, O., & Ferro, C. (2000). Ciclo de vida de *Lutzomyia spinicrassa*, *L. quasitownsendi* y *L. youngi*, especies del grupo Verrucarum (Diptera: Psychodidae). *Actualidades Biológicas*, 22(73).
- Cabrera, O., Neira, M., Bello, F., & Ferro, C. (1999). Ciclo de vida y colonización de *Lutzomyia ovallesi* (Diptera: Psychodidae), vector de Leishmania spp. en América Latina. *Biomedica*, 19(3), 223-229. doi:10.7705/biomedica.v19i3.1026
- Carey, J. R. (1993). *Applied demography for biologists: with special emphasis on insects*: Oxford University Press.
- Carvajal, L. (2008). *Factores bióticos y abióticos que definen parcialmente la abundancia de Lutzomyia longiflocosa, vector de leishmaniasis cutánea en el municipio de Tello, Huila*. (Biología), Pontificia Universidad Javeriana.
- Casanova, Costa, A., & Delsio, N. (2005). Dispersal pattern of the sand fly *Lutzomyia neivai* (Diptera : Psychodidae) in a cutaneous leishmaniasis endemic rural area in Southeastern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100, 719-724. doi:10.1590/S0074-02762005000700006
- Casanova, Natal, D., & Santos, F. (2009). Survival, population size, and gonotrophic cycle duration of *Nyssomyia neivai* (Diptera: Psychodidae) at an endemic area of American cutaneous leishmaniasis in southeastern Brazil. *J Med Entomol*, 46(1), 42-50. doi:10.1603/033.046.0106
- Castillo, A., Serrano-Domínguez, A., Mikery, O., & Pérez, J. (2015). Life history of the sand fly vector *Lutzomyia cruciata* in laboratory conditions. *Medical and veterinary entomology*, 29. doi:10.1111/mve.12127
- Caswell, H. (2001). *Matrix population models*. MA, USA.
- Cecílio, P., Cordeiro-da-Silva, A., & Oliveira, F. (2022). Sand flies: Basic information on the vectors of leishmaniasis and their interactions with Leishmania parasites. *Communications Biology*, 5(1), 305. doi:10.1038/s42003-022-03240-z
- Cheghabalaki, Z., Yarahmadi, D., Karampoor, M., & Shamsipour, A. (2019). Spatial Dynamics of a Phlebotomine Sand Flies Population in Response to Climatic Conditions in Bushehr Province of Iran. *Annals of Global Health*, 85. doi:10.5334/aogh.30
- CIDEIM. (1994). *Manual de entomología médica para investigadores de América Latina*: CIDEIM.
- Contreras, M., Vélez, I., Porter, C., & Uribe, S. (2014). Lista actualizada de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) de la región cafetera colombiana. *Biomedica*, 34(3), 483-498. doi:10.7705/biomedica.v34i3.2121
- David Favre. (2016). An International Treaty for Animal Welfare. In *Animal Law and Welfare - International Perspectives* (pp. 87-106).
- Desjeux, P. (2004a). Leishmaniasis. *Nat Rev Microbiol*, 2(9), 692. doi:10.1038/nrmicro981
- Desjeux, P. (2004b). Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 27(5), 305-318. doi:10.1016/j.cimid.2004.03.004

- Escovar, J., Bello, B., & Moncada, L. (2004). *Biología reproductiva de Lutzomyia Spinicrassa (Diptera: Psychodidae) vector de Leishmania braziliensis, bajo condiciones de laboratorio*. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C.
- Escovar, J., Bello, F., Morales, A., Moncada, L., & Cárdenas, E. (2004). Life tables and reproductive parameters of *Lutzomyia spinicrassa* (Diptera: Psychodidae) under laboratory conditions *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99, 603-607.
- Falcão de Oliveira, E., Oshiro, E. T., Fernandes, W. S., Murat, P. G., de Medeiros, M. J., Souza, A. I., . . . Galati, E. A. (2017). Experimental infection and transmission of *Leishmania* by *Lutzomyia cruzi* (Diptera: Psychodidae): Aspects of the ecology of parasite-vector interactions. *PLoS Negl Trop Dis*, 11(2), e0005401. doi:10.1371/journal.pntd.0005401
- Fargo, W. (1986). Estimation of life stage development times based on cohort data. *Southwest Entomol*, 11, 89-94.
- Feliciangeli, M. D., Castejon, O. C., & Limongi, J. (1993). Egg surface ultrastructure of eight New World phlebotomine sand fly species (Diptera: Psychodidae). *J Med Entomol*, 30(4), 651-656. doi:10.1093/jmedent/30.4.651
- Ferro, Fuya, P., Pérez, L., Lugo, S., & Gonzáles, C. (2011). *Valoración de la ecoepidemiología de la leishmaniasis en Colombia a partir de la distribución espacial y ecológica de los insectos vectores*. Paper presented at the XX Congreso Latinoamericano de Parasitología, Bogotá.
- Ferro., Cárdenas, E., Corredor, D., Morales, A., & Munstermann, L. (1998). Life Cycle and Fecundity Analysis of *Lutzomyia shannoni* (Dyar) (Diptera: Psychodidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93, 195-199.
- Ferro., Marín, D., Góngora, R., Carrasquilla, M., Trujillo, J. E., Rueda, N. K., . . . Ocampo, C. B. (2011). Phlebotomine vector ecology in the domestic transmission of American cutaneous leishmaniasis in Chaparral, Colombia. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 85(5), 847-856. doi:10.4269/ajtmh.2011.10-0560
- Flecknell, P. A., & Díaz, S. A. (1996). Anestesia de animales de laboratorio: introducción práctica para investigadores y técnicos. In: Acribia, Editorial, S.A.
- Galati, E., Ovallos, F., P, L., Léger, N., & Depaquit, J. (2017). An illustrated guide for characters and terminology used in descriptions of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae). *Parasite*, 24. doi:10.1051/parasite/2017027
- González, Osorio, C., & Talamás, P. (2017). Leishmaniosis. *Academia Mexicana de Ciencias*, 60, 38-41.
- González, Rebollar-Téllez, E. A., Ibáñez-Bernal, S., Becker-Fausser, I., Martínez-Meyer, E., Peterson, A. T., & Sánchez-Cordero, V. (2011). Current knowledge of *Leishmania* vectors in Mexico: how geographic distributions of species relate to transmission areas. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 85(5), 839-846. doi:10.4269/ajtmh.2011.10-0452
- Goto, H., & Lindoso, J. (2010). Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 8(4), 419-433. doi:10.1586/eri.10.19
- Governor-of-Huila. (2014). *Climate change plan Huila 2050: preparing for climate change*. USAID Retrieved from https://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PA00KBX5.pdf
- Griensven, J., & Diro, E. (2012). Visceral leishmaniasis. *Infect Dis Clin North Am*, 26(2), 309-322. doi:10.1016/j.idc.2012.03.005
- Guerin, P., Olliaro, P., Sundar, S., Boelaert, M., Croft, S. L., Desjeux, P., . . . Bryceson, A. (2002). Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. *Lancet Infect Dis*, 2(8), 494-501. doi:10.1016/s1473-3099(02)00347-x
- Güran, M. (2018). An Overview of Leishmaniasis: Historic to Future Perspectives. In.

- Halada, P., Hlavackova, K., Dvorak, V., & Volf, P. (2018). Identification of immature stages of phlebotomine sand flies using MALDI-TOF MS and mapping of mass spectra during sand fly life cycle. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, *93*, 47-56. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2017.12.005>
- Harre, J., Dorsey, K., Armstrong, K., Burge, J., & Kinnamon, K. (2001). Comparative fecundity and survival rates of *Phlebotomus papatasi* sandflies membrane fed on blood from eight mammal species. *Medical and veterinary entomology*, *15*, 189-196. doi:10.1046/j.1365-2915.2001.00278.x
- Hernández-Suarez, C. (2011). A note on the generation time. *Oikos*, *120*, 159-160. doi:10.2307/40984090
- Hernandez-Suárez, C., Medone, P., Castillo-Chavez, C., & Rabinovich, J. (2019). Building matrix population models when individuals are non-identifiable. *Journal of Theoretical Biology*, *460*, 13-17. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2018.10.014>
- Herrera, G., Teherán, A., Pradilla, I., Vera, M., & Ramírez, J. (2018). Geospatial-temporal distribution of Tegumentary Leishmaniasis in Colombia (2007-2016). *PLoS Negl Trop Dis*, *12*(4), e0006419. doi:10.1371/journal.pntd.0006419
- Humberto, D. (2010). *Dinámica de la abundancia relativa e infección natural de Lutzomyia longiflocosa (Diptera: Psychodidae) en un foco epidémico de Leishmania en Chaparral, Tolima*. (Maestría en ciencias biológicas), Universidad del Tolima, Ibagué.
- INS. (2002). *Manuel de procedimientos de identificación de vectores de leishmaniosis y enfermedad de carrión*. Lima Peru
- Kendrick, R. (1990). Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Med Vet Entomol*, *4*(1), 1-24. doi:10.1111/j.1365-2915.1990.tb00255.x
- Killick-Kendrick, R. (1999). The biology and control of phlebotomine sand flies. *Clin Dermatol*, *17*(3), 279-289. doi:10.1016/s0738-081x(99)00046-2
- Killick-Kendrick, R., Leaney, A. J., & Ready, P. D. (1977). The establishment, maintenance and productivity of a laboratory colony of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *J Med Entomol*, *13*(4-5), 429-440. doi:10.1093/jmedent/13.4-5.429
- Killick-Kendrick, R., Rioux, J. A., Bailly, M., Guy, M. W., Wilkes, T. J., Guy, F. M., . . . et al. (1984). Ecology of leishmaniasis in the south of France. 20. Dispersal of *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921 as a factor in the spread of visceral leishmaniasis in the Cévennes. *Ann Parasitol Hum Comp*, *59*(6), 555-572.
- Klowden, M. J., & Briegel, H. (1994). Mosquito gonotrophic cycle and multiple feeding potential: contrasts between *Anopheles* and *Aedes* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol*, *31*(4), 618-622. doi:10.1093/jmedent/31.4.618
- Kreutzer, R., Palau, M., Morales, A., Ferro, C., Feliciangeli, D., & Young, D. (1990). Genetic relationships among phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in the verrucarum species group. *J Med Entomol*, *27*(1), 1-8. doi:10.1093/jmedent/27.1.1
- Latupapua, H., Latupapua, A., Wahab, A., & Alaydrus, M. (2018). Wireless Sensor Network Design for Earthquake's and Landslide's Early Warnings. *Indonesian Journal of Electrical Engineering and Computer Science*, *11*, 437-445. doi:10.11591/ijeecs.v11.i2.pp437-445
- Lawyer, P. (1984). *Biology and colonization of the sand fly Lutzomyia diabolica (Hall) (Diptera: Psychodidae) with notes on its potential relationship to human cutaneous leishmaniasis in Texas, USA*.
- Lopes, A., Souto-Pradrón, T., Dias, F., Gomes, M., Rodrigues, G., Zimmermann, L., . . . Vermelho, A. (2010). Trypanosomatids: Odd Organisms, Devastating Diseases. *The Open Parasitology Journal*, *4*. doi:10.2174/1874421401004010030

- López, L., Román, J., & Cardona, J. (2017). Factores de riesgo para leishmaniasis cutánea: Revisión sistemática de estudios de casos y controles. *Archivos de Medicina*, 13(4).
- Mann, Frasca, K., Scherrer, S., Henao-Martínez, A., Newman, S., Ramanan, P., & Suarez, J. (2021). A Review of Leishmaniasis: Current Knowledge and Future Directions. *Curr Trop Med Rep*, 8(2), 121-132. doi:10.1007/s40475-021-00232-7
- Mann R., & Kaufman, P. (2010). Colonization of *Lutzomyia shannoni* (Diptera: Psychodidae) utilizing an artificial blood feeding technique. *Journal of Vector Ecology*, 35(2), 286-294. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2010.00084.x>
- Maroli, M., Feliciangeli, M., & Arias, J. (1997). *Métodos de captura, conservación y montaje de los flebótomos (Diptera: Psychodidae)*. Washington D.C.
- Maroli, M., Feliciangeli, M. D., Bichaud, L., Charrel, R. N., & Gradoni, L. (2013). Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. *Med Vet Entomol*, 27(2), 123-147. doi:10.1111/j.1365-2915.2012.01034.x
- Martínez, C., Almanza, C., & Bejarano, E. (2012). Estimación del tiempo de desarrollo de *Lutzomyia evansi* bajo condiciones experimentales *Revista Salud Uninorte*, 28, 201-208.
- Melgarejo-Colmenares, J. K., López, R., & Cabrera-Quintero, O. L. (2019). Desarrollo embrionario de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae), bajo condiciones de laboratorio. *Intropica*, 14(2), 195-199. doi:10.21676/23897864.3150
- Méndez, S. (2021). Descripción del cuarto estadio larval de *Pintomyia longiflocosa* e implicaciones taxonómicas en el subgénero *Pifanomyia*. In: Universidad de los Andes.
- Ministerio de salud de Colombia. (1993). *resolucion numero 8430*. Por lo cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud.
- Minsalud. (2018). *Plan estrategico de leishmaniasis 2018 - 2022*. Colombia
- Mokni, M. (2019). Cutaneous leishmaniasis. *Ann Dermatol Venereol*, 146(3), 232-246. doi:10.1016/j.annder.2019.02.002
- Molles, M. C., & Sher A. (2019). *Ecology : concepts and applications*.
- Moncada, L., Quiñones, M., & Adler, P. (2021). *Introducción al estudio de insectos de interés en salud pública*. Bogotá D.C.: Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia.
- Montes, Rebolgar-Téllez, E., Piermarini, P., & Ibáñez-Bernal, S. (2017). Descriptions of the Immature Stages of *Lutzomyia (Tricholateralis) cruciata* (Coquillett) (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). *Neotropical Entomology*, 46(1), 66-85. doi:10.1007/s13744-016-0439-1
- Montoya-Lerma, J., Cadena H Fau - Oviedo, M., Oviedo M Fau - Ready, P. D., Ready Pd Fau - Barazarte, R., Barazarte R Fau - Travi, B. L., Travi Bl Fau - Lane, R. P., & Lane, R. P. (2003). Comparative vectorial efficiency of *Lutzomyia evansi* and *Lutzomyia longipalpis* for transmitting *Leishmania chagasi*. *Acta Tropical*.
- Moraes, C. S., Aguiar-Martins, K., Costa, S. G., Bates, P. A., Dillon, R. J., & Genta, F. A. (2018). Second Blood Meal by Female *Lutzomyia longipalpis*: Enhancement by Oviposition and Its Effects on Digestion, Longevity, and Leishmania Infection. *BioMed Research International*, 2018. doi:10.1155/2018/2472508
- Morales A., Bello, F., & Cárdenas, E. (2005). Establecimiento, mantenimiento y productividad de una colonia de laboratorio de *Lutzomyia spinicrassa* Morales, Osorno-Mesa, Osorno y Hoyos, 1969 (Diptera: Psychodidae) en Colombia. *Revista Ciencias de la Salud*, 3.
- Morales, D., Castaño, C., Lozano, E., & Vallejo, H. (2004). Descripción de la epidemia de leishmaniasis cutánea en Chaparral y San Antonio, Tolima, 2003 y 2004 (semana 24). *Inf Quin Epidemiol Nac*, 9, 180.
- Neira, M., Díaz, A., Bello, F., & Ferro, C. (1998). 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. *Biomedica*, 18(4), 251-255. doi:10.7705/biomedica.v18i4.994
- Oryan, A., & Akbari, M. (2016). Worldwide risk factors in leishmaniasis. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(10), 925-932. doi:<https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.06.021>
- Oviedo-Sarmiento, O., Castro, M., Lerma, Y., Bernal, L., Navarro, A., & Alexander, N. (2021). Data management plan for a community-level study of the hidden burden of cutaneous leishmaniasis in Colombia. *BMC Res Notes*, 14(1), 213. doi:10.1186/s13104-021-05618-4
- Pardo, R. H. (2006). *The ecology and control of cutaneous leishmaniasis in the sub-Andean region of south west Colombia*. London School of Hygiene Tropical Medicine, London.
- Pardo, R. H., Santamaría, E., & Cabrera, O. L. (2017). Entering and exiting behaviour of the phlebotomine sand fly *Lutzomyia longiflocosa* (Diptera: Psychodidae) in rural houses of the sub-Andean region of Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 112(1), 19-30. doi:10.1590/0074-02760160265
- Pigott, D., Bhatt, S., Golding, N., Duda, K., Battle, K., Brady, O., . . . Hay, S. (2014). Global distribution maps of the leishmaniasis. *Elife*, 3. doi:10.7554/eLife.02851
- Piscopo, T. V., & Mallia Azzopardi, C. (2007). Leishmaniasis. *Postgraduate medical journal*, 83(976), 649-657. doi:10.1136/pgmj.2006.047340corr1
- Rabinovich, J. E. (1982). *Introducción a la ecología de poblaciones animales*. Mexico.
- Ramírez, J., Hernández, C., León, C., Ayala, M., Flórez, C., & González, C. (2016). Taxonomy, diversity, temporal and geographical distribution of Cutaneous Leishmaniasis in Colombia: A retrospective study. *Scientific Reports*, 6(1), 28266. doi:10.1038/srep28266
- Ready, P. D., & Croset, H. (1980). Diapause and laboratory breeding of *Phlebotomus perniciosus* Newstead and *Phlebotomus ariasi* Tonnoir (Diptera: Psychodidae) from southern France. *Bulletin of Entomological Research*, 70(3).
- Rebollar-Tellez, E., Castillo, A., & Ibañez-Bernal, S. (2010). Ecología química de Phlebotominae (Diptera: Psychodidae). In (pp. 120-140).
- Reisen, W. K., Siddiqui, T. F., Aslam, Y., & Malik, G. M. (1979). Geographic Variation Among the Life Table Characteristics of *Culex tritaeniorhynchus* from Asia. *Annals of the Entomological Society of America*, 72(5), 700-709. doi:10.1093/aesa/72.5.700
- Reithinger, R., Dujardin, J. C., Louzir, H., Pirmez, C., Alexander, B., & Brooker, S. (2007). Cutaneous leishmaniasis. *Lancet Infect Dis*, 7(9), 581-596. doi:10.1016/s1473-3099(07)70209-8
- Ricadat, É., Gaille, M., Aranedo, M., Todd, N., Guillermain, C., Kaakai, S., . . . Rera, M. (2020). Ethical and social implications of approaching death prediction in humans - When the biology of ageing meets existential issues. *BMC Medical Ethics*. doi:10.1186/s12910-020-00502-5
- Rivas, G., Sousa, N., Peixoto, A., & Bruno, R. (2014). Effects of temperature and photoperiod on daily activity rhythms of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *Parasites & Vectors*, 7, 278. doi:10.1186/1756-3305-7-278
- Rocío, C., Guitierrez, R., Cabrera, O., Santamaría, E., Parada, H., Mendoza, F., & C., Á. (2011). *Lutzomyia longiflocosa* (Psychodidae, Phlebotominae) infectado naturalmente con *Leishmania* spp. en una región endémica de leishmaniasis tegumentaria americana. Paper presented at the XX Congreso Latinoamericano de Parasitología.
- Rutledge, L. C., & Gupta, R. K. (2002). Moth flies and sand flies (Psychodidae). In G. Mullen & L. Durden (Eds.), *Medical and veterinary entomology* (pp. 147-161). San Diego: Academic Press.
- Salgado, J., Hernández, C., & Ovalle, C. (2019). Distribución geográfica de las especies de *Leishmania* en Colombia, 1985-2017. *Biomedica*, 39(2), 278-290. doi:10.7705/biomedica.v39i3.4312
- Salomon, O. (2009). Vectores de leishmaniasis en las américas *Gaz. Méd. Bahia*, 79.

- Sant-Anna, M., Nascimento, A., Alexander, B., Dilger, E., Cavalcante, R., Diaz-Albiter, H., . . . Dillon, R. (2010). Chicken blood provides a suitable meal for the sand fly *Lutzomyia longipalpis* and does not inhibit *Leishmania* development in the gut. *Parasites & Vectors*, 3(1), 3. doi:10.1186/1756-3305-3-3
- Santamaría, E., Cabrera, O., Avendaño, J., & Pardo, R. (2016). Leg loss in *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) due to pyrethroid exposure: Toxic effect or defense by autotomy? *Journal of Vector Borne Diseases*, 53, 317-326.
- Santos, R. L. C. D., Forattini, O. P., & Burattini, M. N. (2002). Laboratory and Field Observations on Duration of Gonotrophic Cycle of *Anopheles albipennis* s.l. (Diptera: Culicidae) in Southeastern Brazil. *Journal of medical entomology*, 39(6), 926-930. doi:10.1603/0022-2585-39.6.926
- Secundino, N. F. C., Eger-Mangrich, I., Braga, E. M., Santoro, M. M., & Pimenta, P. F. P. (2005). *Lutzomyia longipalpis* Peritrophic Matrix: Formation, Structure, and Chemical Composition. *Journal of medical entomology*, 42(6), 928-938. doi:10.1093/jmedent/42.6.928
- Soares, R. P., & Turco, S. J. (2003). *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): a review. *An Acad Bras Cienc*, 75(3), 301-330. doi:10.1590/s0001-37652003000300005
- Southwood, T., & Henderson, P. (2000). *Ecological Methods*: Wiley.
- Souza, N., Andrade-Coelho, C., Barbosa, A., Vilela, M., Rangel, E., & Deane, M. (1995). The influence of sugars and amino acids on the blood-feeding behaviour, oviposition and longevity of laboratory colony of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 90(6), 751-757. doi:10.1590/s0074-02761995000600017
- Strazzulla, A., Cocuzza, S., Pinzone, M. R., Postorino, M. C., Cosentino, S., Serra, A., . . . Nunnari, G. (2013). Mucosal leishmaniasis: an underestimated presentation of a neglected disease. *Biomed Res Int*, 2013, 805108. doi:10.1155/2013/805108
- Theodor, O. (1965). On the classification of American Phlebotominae. *J Med Entomol*, 2(2), 171-197. doi:10.1093/jmedent/2.2.171
- Torres, E., Quintanilla, M., Ruiz, J., & Arenas, R. (2017). Leishmaniasis: a review. *F1000Research*, 6, 750-750. doi:10.12688/f1000research.11120.1
- Vargas, J. (2020). *Aproximación a la variación estacional de la densidad de Lutzomyia longiflocosa en un área endémica para leishmaniasis cutánea en el Huila y su relación con factores climáticos*. (Biología), Universidad de la Salle, Ciencia unisalle. Retrieved from <https://ciencia.lasalle.edu.co/biologia/95/>
- Vásquez, A. (2011). *Variación estacional de la abundancia y la infección con leishmania spp. en flebotomos de un área rural de Villavicencio, Meta*. (Maestría en salud e infecciones el el tropico), Universidad Nacional de Colombia, Retrieved from <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/8503>
- Vivero, R. J., Torres-Gutierrez, C., Bejarano, E. E., Peña, H. C., Estrada, L. G., Florez, F., . . . Muskus, C. E. (2015). Study on natural breeding sites of sand flies (Diptera: Phlebotominae) in areas of *Leishmania* transmission in Colombia. *Parasites & Vectors*, 8, 116-116. doi:10.1186/s13071-015-0711-y
- Volf, P., & Volfova, V. (2011). Establishment and maintenance of sand fly colonies. *J Vector Ecol*, 36 Suppl 1, S1-9. doi:10.1111/j.1948-7134.2011.00106.x
- WHO. (2021). *Global leishmaniasis surveillance: 2021, assessing the impact of the COVID-19 pandemic*.
- Wilhelm, T. (2019). Visceral leishmaniasis. *Chirurg*, 90(10), 833-837. doi:10.1007/s00104-019-0994-1

- Ximenes, M., Castellón, E., De-Souza, M., Menezes, A., Queiroz, J., Silva, V., & Jerônimo, S. (2006). Effect of Abiotic Factors on Seasonal Population Dynamics of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) in Northeastern Brazil. *Journal of medical entomology*, 43(5), 990-995. doi:10.1093/jmedent/43.5.990
- Young, D., & Arias, J. (1991). Phlebotomine sandflies in the Americas. *Pan American Health Organization, Technical paper*, 32-26.
- Young, D., & Duncan, M. (1994). Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in México, West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Memories of the American Entomological Institute*, Gainesville, Florida, USA. 881.
- Young, D., Perkins, P., & Endris, R. (1981). A Larval Diet for Rearing Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae)1. *Journal of medical entomology*, 18(5), 446-446. doi:10.1093/jmedent/18.5.446
- Zambrano, C., Ayala, M., Fuya, O., Barraza, O., & Rodríguez, G. (2016). Cartagena: nuevo foco de leishmaniasis visceral urbana en Colombia. *Ciencia en Desarrollo*, 7, 83-91.
- Zea, D., Prager, M., Figueroa, R., & Miranda, M. (2009). Complicación mucosa de la leishmaniasis cutánea *Biomedica*, 29, 9-10.

11. Anexos



11.1 Promedio de la temperatura (°C) y la humedad (HR) en semicampo 1, semicampo 2 y laboratorio.

Ciclo	Variable	Meses						
		1	2	3	4	5	6	7
Semicampo 1	Temperatura (°C)	19,59	19,04	19,55	19,03	18,54	18,36	19,05
Semicampo 2	Temperatura (°C)	19,05	18,99	19,37	18,11	17,95	17,96	18,38
Laboratorio	Temperatura (°C)	19,25	19,36	18,96	19,22	19,12	18,78	18,88
Semicampo 1	Humedad relativa (HR)	87,48	90,86	85,87	89,19	89,88	87,96	80,47
Semicampo 2	Humedad relativa (HR)	80,47	80,66	78,91	94,55	95,62	93,48	93,01
Laboratorio	Humedad relativa (HR)	85,24	99,12	94,62	83,82	96,42	94,32	92,56



11.2 Descriptivos del ciclo de vida de *Lutzomyia longiflocosa* metodología FIFO.

Duracion del ciclo de vida en dias												
Ciclos	Laboratorio				Semicampo 1				Semicampo 2			
Estadio	N°. Individuos	Promedio duracion de estadio	Min/Max	Desviacion estandar "S"	N°. Individuos	Promedio duracion de estadio	Min/Max	Desviacion estandar "S"	N°. Individuos	Promedio duracion de estadio	Min/Max	Desviacion estandar "S"
H	708	23,14	18-36	3,62	645	21,85	14-40	3,91	490	21,53	16-32	3,27
L1	352	14,37	4-29	5,16	416	17,16	3-25	3,25	376	17,39	5-39	4,66
L2	196	13,39	5-21	3,46	395	15,08	8-22	2,38	222	24,05	12-37	5,98
L3	176	11,90	5-23	3,15	365	11,77	3-27	3,57	163	16,04	5-50	8,71
L4	157	36,01	15-52	6,67	349	40,75	25-59	7,06	147	40,12	14-71	8,17
P	146	16,52	10-28	2,99	321	24,29	16-44	4,33	134	22,88	12-31	2,58
A	141	5,96	1-23	3,50	302	4,29	1-33	2,99	130	6,04	1-16	3,03



11.3 Formato seguimiento ciclo de vida

	Modelacion de la dinamica polacional de <i>Lutzomyia longiflocosa</i> (Diptera: Psychodidae) en Campoalegre, Huila, y su poyeccion en diferentes escenarios del cambio climatico.										
Formato de campo: Seguimiento al ciclo de vida de <i>L. longiflocosa</i>											
Hembra N. _____ Se adicionó macho (SI/NO): _____ Fecha de captura y alimentación sanguínea: _____ Condicion: _____ Especie: _____ Fecha identificación taxonómica: _____ N. de huevos retenidos: _____											
Fecha	Viva	Muerta	N. huevos depositados	N. Larvas I	N. Larvas II	N. Larvas III	N. Larvas IV	N. Pupas	Nº Hembras F:1	Nº Machos F:1	Observaciones



11.4 Formato seguimiento longevidad adultos F1

	Modelacion de la dinamica polacional de <i>Lutzomyia longiflocosa</i> (Diptera: Psychodidae) en Campoalegre, Huila, y su poyeccion en diferentes escenarios del cambio climatico.							
	Formato de campo: Seguimiento de la longevidad de los adultos F:1 en el ciclo de vida de <i>Lutzomyia longiflocosa</i>							
N° Hembra parental	Fecha emergencia de adulto F:1	Adulto No.	hembra	macho	Fecha de muerte	Especie	Fecha confirmacion especie	Observaciones

11.5 Formato seguimiento longitud de los estadios

	Modelacion de la dinamica polacional de <i>Lutzomyia longiflocosa</i> (Diptera: Psychodidae) en Campoalegre, Huila, y su poyeccion en diferentes escenarios del cambio climatico.		
Formato de laboratorio:longitud de los estadios de <i>Lutzomyia longiflocosa</i>			
N° de vaso	N° de individuo	Estadio	Longitud promedio (mm)

11.6 Formato seguimiento ciclo gonotrófico

	Modelacion de la dinamica polacional de Lutzomyia longiflocosa (Diptera: Psychodidae) en Campoalegre, Huila, y su poyeccion en diferentes escenarios del cambio climatico.							
	Formato de campo: Seguimiento del ciclo gonotrofico en hembras de <i>Lutzomyia longiflocosa</i> individualizadas							
Repetición	# de alimentación:			Fecha de muerte	Especie	Fecha confirmacion especie	Numero de huevos retenidos	Observaciones
	Fecha de alimentacion	Fecha de oviposicion	Numero de huevos ovipositados					

11.7 Promedio del ciclo gonotrófico en las diferentes fases de *Lutzomyia longiflocosa*.

Fases	Ciclo gonotrófico F0													Fertilidad %	Fecundidad %
	Días			Huevos retenidos			Huevos ovipositados			Huevos eclosionados					
	Promedio	Min-max	S	Promedio	Min-max	S	Promedio	Min-max	S	Promedio	Min-max	S			
Laboratorio	11,77	9-16	1,977169	10,97	0-42	10,62	19,26667	3-42	10,21	10,60	0-24	7,29	0,46	0,50	
Semicampo 1	8,80	8-11	0,714384	11,90	0-32	8,83	19,7	9-32	5,86	11,37	2-26	6,99	0,62	0,58	
Semicampo 2	10,53	8-14	1,47936	14,10	0-48	13,20	16,53333	1-48	12,87	12,30	1-44	11,52	0,34	0,73	