

Evaluación en laboratorio y campo de semioquímicos como atrayentes en una población de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz y Neiva) (Diptera:Psychodidae) de la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca, Colombia

PAULA XIMENA PAREJA LOAIZA

**Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina
Infecciones y Salud en el Trópico**

Bogotá, D.C. 2010

Evaluación en laboratorio y campo de semioquímicos como atrayentes en una población de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz y Neiva) (Diptera:Psychodidae) de la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca, Colombia

Paula Ximena Pareja Loaiza

Cod.598193

**Trabajo de grado presentado para optar al título de
Magíster en Infecciones y Salud en el Trópico**

Director

Dr.rer.nat. Jorge Alberto Molina

Martha Lucia Quiñones P. M.Sc., PhD

Codirectora

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina

Infecciones y Salud en el Trópico

Bogotá, D.C. 2010

Evaluación en laboratorio y campo de semioquímicos como atrayentes en una población de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz y Neiva) (Diptera:Psychodidae) de la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca, Colombia

Para optimizar las capturas de *Lutzomyia longipalpis* en un área con antecedentes de leishmaniasis visceral se evaluó en laboratorio y campo el efecto atrayente de semioquímicos sobre la población de esta especie en El Callejón, Ricaurte, Cundinamarca. En laboratorio se evaluó la respuesta individualmente de 60-80 hembras vírgenes F1 en un olfatómetro de una vía con decisión doble en "Y" a diferentes concentraciones de las feromonas sintéticas (S)-9-methylgermacrene-B y (1S,3S,7R)-3-methyl- α -hymachelene y las cairomonas ácido láctico, ácido butírico, amonio, 1-octen-3-ol y dióxido de carbono. En campo se evaluaron trampas CDC cebadas con las sustancias 5% (S)-9-methylgermacrene-B, 0,01% 1-octen-3-ol, dióxido de carbono y la mezcla de 1,0% ácido láctico, 0,1% ácido butírico y 10% amonio (1:1:1) durante 16 días consecutivos usando la metodología de cuadrados latinos. En laboratorio *L. longipalpis* fue atraída en mayor porcentaje a: 1,0% ácido láctico, 0,1% ácido butírico, 10% amonio, 1,0% 1-octen-3-ol, 800 ppm de dióxido de carbono y a la mezcla. Las feromonas mostraron ser significativamente atractivas al 2,5% para (1S,3S,7R)-3-methyl- α -hymachelene y al 3,75% para (S)-9-methylgermacrene-B. En campo se capturaron 1.075 hembras/trampas/noche (h/t/n) en CDC cebadas con 5% (S)-9-methylgermacrene-B, 27,1 h/t/n con CO₂, 11,5 h/t/n con 0,01% 1-octen-3-ol y 3,8 h/t/n con mezcla. En todos los casos *L. longipalpis* fue la especie más abundante. Se estableció que la feromona sintética (S)-9-methylgermacrene-B al 5% ejerce un fuerte poder de atracción sobre *L. longipalpis* comparada con los otros semioquímicos evaluados y se discute su utilización como posible método de control en la zona.

Palabras Calves: *Lutzomyia longipalpis* , Olfatometro, Semioquímicos, Feromonas, Cairomonas

Attraction of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera:Psychodidae) from El Callejón (Ricaurte-Cundinamarca-Colombia) to semiochemicals under laboratory and field conditions.

To improve the captures of *Lutzomyia longipalpis* from El Callejón (Ricaurte-Cundinamarca-Colombia) the attraction to different semiochemicals under laboratory and field conditions were tested. In the laboratory 60 to 80 virgin females F1 were individually tested in a double choice “Y”-shaped olfactometer. Different concentrations of the synthetic pheromones (S)-9-methylgermacrene-B and (1S,3S,7R)-3-methyl- α -hymachelene and also the kairomones lactic acid, butyric acid, ammonium, 1-octen-3-ol and carbon dioxide were tested. In the field, CDC miniature light traps baited with 5% (S)-9-methyl-germacrene-B, 0.01% 1-octen-3-ol, carbon dioxide and a mixture (1:1:1) of kairomones (1.0% lactic acid, 0.1% butyric acid and 10% ammonium) were tested for 16 consecutive days using the latin square methodology. With the olfactometer females were attracted to 1.0% lactic acid, 0.1% butyric acid, 10% ammonium, 1.0% 1-octen-3-ol, 800 ppm of carbon dioxide and the mixture of kairomones. Both synthetic pheromones attracted significantly more females at 2.5% for (1S,3S,7R)-3-methyl- α -hymachelene and 3.75% for (S)-9-methylgermacrene-B. CDC light traps baited with 5% (S)-9-methylgermacrene-B captured 1075 females/trap/night (f/t/n), 27.1 f/t/n in traps baited with CO₂, 11.5 f/t/n with 0.01% 1-octen-3-ol and 3.8 f/t/n with the mixture. *L. longipalpis* was the most abundant species in all CDC traps, regardless of the semiochemical used. The results show that *L. longipalpis* was strongly attracted to the synthetic pheromone (S)-9-methylgermacrene-B. The applicability of the pheromone as a control method in El Callejón is discussed.

Palabras Calves: *Lutzomyia longipalpis*, Olfactometer, Semiochemicals, Pheromones, Kairomones

Nota de aceptación.

Jurado

Jurado

Bogotá, Noviembre 2010

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Nacional de Salud, Subdirección de Investigación por el apoyo logístico y económico para el desarrollo de este proyecto.

Al Destacamento Naval de Investigaciones Médicas (NMRCD), Lima, Perú, por su apoyo económico, en el suministro del olfatómetro y las feromonas evaluadas.

A la Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina, Maestría en infecciones y salud en el trópico, por haber contribuido en mi formación académica.

Al Dr. Jorge Alberto Molina, de la Universidad de los Andes, Centro de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical (CIMPAT), por su orientación y apoyo incondicional en la ejecución del presente proyecto.

A Martha Liliana Ahumada Franco, del Instituto Nacional de Salud, Laboratorio de Entomología, Grupo de Investigación por su apoyo permanente en la creación y desarrollo del presente trabajo.

Al la Doctora Martha Lucia Quiñones Directora de la Maestría en infecciones y salud en el trópico, haberme apoyado en el desarrollo de la maestría.

A Marco Fidel Suarez del Instituto Nacional de Salud, Laboratorio de Entomología, Grupo de Investigación, por su valioso apoyo en el trabajo de campo y laboratorio.

A Olga Lucia Cabrera del Instituto Nacional de Salud, Laboratorio de Entomología, Grupo de Investigación, por la confirmación taxonómica de los ejemplares recolectados durante la fase de campo.

A los habitantes del la vereda El Callejón, Ricaurte, Cundinamarca por permitirme entrar en sus hogares y muy especialmente a la Señora Zulma Góngora, madre comunitaria del Hogar Infantil del ICBF por sus múltiples atenciones y cuidados.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN

1. INTRODUCCIÓN	14
1.1 Las sensilias cuticulares	16
1.2 Detección del estímulo químico	17
1.3 Comunicación química	19
1.4 Las feromonas	19
1.4.1 Glándulas secretoras de feromona	20
1.4.2 Tipos de feromonas	20
1.4.3. Feromonas sexuales en <i>L. longipalpis</i>	20
1.4.3.1 Homosesquiterpeno (C ₁₆ H ₂₆); PM 218	21
1.4.3.2 Diterpeno (C ₂₀ H ₃₂); PM 272	22
1.5 Kairomonas en <i>Lutzomyia</i>	22
1.5.1 Las Kairomonas	22
1.6 Kairomonas frecuentemente evaluadas	23
1.6.1 Dióxido de carbono (CO ₂)	23
1.6.2 Octenol (1-octen-3-ol)	24
1.6.3 Ácido láctico (C ₃ H ₆ O ₃)	25
1.6.4 Amonio (NH ₄ ⁺)	26
1.6.5 Ácido butírico (C ₄ H ₈ O ₂)	27
1.7 Uso de los semioquímicos en trampas para el control de insectos	27
2. JUSTIFICACIÓN	30
3. HIPÓTESIS	31
4. OBJETIVOS	33
4.1 Objetivo general	33
4.2 Objetivos específicos	33
5. MATERIALES Y MÉTODOS	34
5.1 Obtención y cría del material entomológico	34
5.2 Bioensayos en Laboratorio	35
5.2.1 Experimento 1: Evaluación de las feromonas sintéticas (S)-9-methylgermacrene-B y (1S,3S,7R)-3-methyl- α -himachalene sobre <i>Lutzomyia longipalpis</i>	38

5.2.2 Experimento 2: Evaluación de las caironomas ácido láctico, ácido butírico, amonio, octenol y dióxido de carbono	38
5.2.3 Experimento 3: Evaluación de la mezcla de (ácido láctico al 0,1%, ácido butírico al 1,0% y amonio al 10%)	39
5.3 Bioensayos en campo	39
5.3.1 Área de estudio	39
5.3.2 Experimento 4: Evaluación en campo de los semioquímicos (S)-9-methyl-germacrene-B al 5%, dióxido de carbono, octenol al 0,01% y la mezcla en la vereda El Callejón	40
5.4 Análisis estadístico de los resultados	42
6. RESULTADOS	43
6.1 Bioensayos en laboratorio	44
6.1.1 Experimento 1	44
6.1.2 Experimento 2 y 3	44
6.2 Bioensayos en campo	45
6.2.1 Experimento 4	45
6.2.1.1 Tratamiento 1	46
6.2.1.2 Tratamiento 2	50
6.2.1.3 Tratamiento 3:	53
6.2.1.4 Tratamiento 4:	56
6.2.2. Efecto de las variables ambientales	61
7. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	63
7.1 Evaluación en laboratorio de las feromonas sintéticas (S)-9-methylgermacrene-B y (1S,3S,7R)-3-methyl- α -himachalene	63
7.2 Evaluación en laboratorio de las caironomas dióxido de carbono, ácido láctico, ácido butírico, amonio y octenol individualmente y en mezcla	65
7.3 Evaluación en campo de los semioquímicos (S)-9-methylgermacrene-B, dióxido de carbono y octenol individualmente y la mezcla de ácido láctico, ácido butírico y amonio	68
7.3.1 Tratamiento 1: Trampas CDC cebadas con 60 μ l de feromona sintética (S)-9-methylgermacrene-B al 5%	69
7.3.2 Tratamiento 2: Trampas CDC cebadas con 700 g/noche de hielo seco para liberación de dióxido de carbono	70

7.3.3 Tratamiento 3: Trampas CDC cebadas con 60 µl de octenol al 0,01%	71
7.3.4 Tratamiento 4: Trampas CDC cebadas con la mezcla de 60 µl de ácido láctico al 1,0%, de ácido butírico al 0,1% y de amonio al 10%	72
7.4 Variables ambientales	73
8 CONCLUSIONES	74
9 RECOMENDACIONES	76
10. CITAS BIBLIOFIGURAS	77

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de una sensilia	16
Figura 2. Tipos de sensilias	17
Figura 3. Modelo hipotético de la detección del olor	19
Figura 4. Pupa hembra y macho de <i>L. longipalpis</i>	35
Figura 5. Esquema del procedimiento para el desarrollo de los bioensayos de laboratorio	37
Figura 6. Ubicación geografía de la vereda El Callejón (Cundinamarca-Colombia)	39
Figura 7. Dispensador para el CO ₂	41
Figura 8. Dispensador para los tratamientos 1,3 y 4	41
Figura 9. Promedio de hembras y machos de <i>L. longipalpis</i> capturados con 16 trampas CDC cebadas con la feromona sintética (S)-9-methylgermacrene-B al 5% y trampas CDC sin cebar durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca	49
Figura 10. Promedio de hembras y machos de <i>L. longipalpis</i> capturados con 16 trampas CDC cebadas con CO ₂ y trampas CDC sin cebar durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca	52
Figura 11. Promedio de hembras y machos de <i>L. longipalpis</i> capturados con 16 trampas CDC cebadas con octenol y trampas CDC sin cebar durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca	55

Figura 12. Promedio total de hembras y machos de *L. longipalpis* sumados y capturados con 16 trampas CDC cebadas con la mezcla de semioquímicos y con trampas sin cebar durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca **58**

Figura 13. Promedio total de machos y hembras sumados de *L. longipalpis* capturados con trampas CDC cebadas con cada uno de los semioquímicos evaluados durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca **59**

Figura 14. Promedio total de hembras y machos sumados de *L. longipalpis* capturados con las trampas CDC controles parejas de las trampas cebadas con cada uno de los semioquímicos evaluados durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca **60**

Figura 15 Promedio del total de *L. longipalpis* capturados en las dos casas muestreadas con 32 trampas CDC cebadas con la feromona sintética 9MGB, durante 16 noches de muestreo con relación a la temperatura y la humedad relativa registradas durante la noche en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca **62**

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1.** Número de hembras de *L. longipalpis* atraídas y no atraídas por las feromonas evaluadas a diferentes concentraciones. **43**
- Tabla 2.** Número de hembras de *L. longipalpis* atraídas y no atraídas por las caironomas evaluadas a diferentes concentraciones. **44**
- Tabla 3.** Comparaciones de los tratamientos y sus controles entre la casa 1 (C1) y la casa 2 (C2). **45**
- Tabla 4.** Total de ejemplares por especie del género *Lutzomyia* capturados con 4 pares de trampas CDC con tratamiento y sus respectivos controles durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca. **46**
- Tabla 5.** Total de ejemplares por especie del género *Lutzomyia* capturados con 4 pares de trampas CDC cebadas con (S)-9-methylgermacrene-B al 5% y sus respectivos controles durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca. **47**
- Tabla 6.** Total de ejemplares de *L. longipalpis* capturados con 16 trampas CDC cebadas con la feromona sintética (S)-9-methylgermacrene-B al 5% y trampas CDC sin cebar durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca. **48**
- Tabla 7.** Total de ejemplares por especie del género *Lutzomyia* capturados con 4 pares de trampas CDC cebadas con CO₂ y sus respectivos controles durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca. **50**
- Tabla 8.** Número total de ejemplares de *L. longipalpis* capturados con 16 trampas CDC cebadas con 700 g/noche de hielo seco (CO₂) y trampas CDC sin cebar durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca. **51**

Tabla 9. Total de ejemplares por especie del género *Lutzomyia* capturados con 4 pares de trampas CDC cebadas con 1-octen-3-ol al 0,01% y sus respectivos controles durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca. **53**

Tabla 10. Número total de ejemplares de *L. longipalpis* capturados con 16 trampas CDC cebadas con 1-octen-3-ol al 0,01% y trampas CDC sin cebar durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca. **54**

Tabla 11. Total de ejemplares por especie del género *Lutzomyia* capturados con 4 pares de trampas CDC cebadas con la mezcla de semioquímicos y sus respectivos controles durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca. **56**

Tabla 12. Número total de ejemplares de *L. longipalpis* capturados con 16 trampas CDC cebadas con la mezcla de semioquímicos y trampas CDC sin cebar durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca. **57**

1. INTRODUCCIÓN

La leishmaniasis visceral (LV) es una enfermedad endémica de 61 países que puede ser mortal en ausencia de tratamiento. Su incidencia anual es de cerca de 500.000 casos de los cuales el 90% se presenta en Bangladesh, India, Nepal y Brasil. Mundialmente, dos especies de parásitos, *Leishmania donovani* y *Leishmania infantum* son los agentes etiológicos responsables de esta enfermedad. En el Nuevo Mundo, *Leishmania infantum* (OIE, 2004) tiene como vector principal a *Lutzomyia longipalpis* (Lutz y Neiva 1912) (Diptera: Psychodidae) especie que está presente en las áreas tropicales desde el sur de México hasta el norte de Argentina (González *et al.*, 2006). En el Viejo Mundo particularmente en el sur de Europa en países como España, Francia e Italia *L. infantum* es el agente etiológico más importante transmitido por la picadura de *Phlebotomus ariasi* y *P. perniciosus* y en Asia específicamente en la India *L. donovani* es transmitida por la picadura de *P. argentipes* (OMS, 1996).

Esta enfermedad afecta principalmente a la población infantil menor de 5 años y a adultos inmunosuprimidos. Es endémica en algunos países de Centro y Suramérica, donde se notifican por lo menos 200.000 casos al año (OMS, 2006). En Colombia la LV es endémica en la Costa Caribe y en el valle alto y medio del río Magdalena y sus afluentes (González *et al.*, 2006). Entre el 2003 y el 2010 (semana epidemiológica 41 para este último año) se notificaron 507 casos y 68 de estos se registraron en el foco ubicado en el valle del Magdalena medio que incluye a los departamentos de Tolima, Huila, Cundinamarca y Santander (Fuente SIVIGILA, Grupo ETV SVCSP INS).

En Colombia los vectores reconocidos de LV son *L. longipalpis* y *Lutzomyia evansi* (Nuñez-Tovar, 1924) (Ferro *et al.*, 1995). En la Costa Caribe en los departamentos de Córdoba, Sucre y Bolívar, *L. evansi* es considerado como un vector primario de esta enfermedad. Mientras que a lo largo del valle alto y medio del río Magdalena *L. longipalpis* es considerado el vector principal de *L. infantum* (González *et al.*, 2006).

La vereda El Callejón, perteneciente al municipio de Ricaurte – Cundinamarca, hace parte del foco endémico del valle alto del río Magdalena. Entre 1986 y 1995 se estudio la dinámica de la transmisión de la LV en esta comunidad donde la prevalencia de contacto

en humanos evaluada mediante una prueba de intradermorreacción de Montenegro o leishmanina era de 51,2% (Corredor *et al.*, 1989). Estos estudios incluyeron la descripción de la composición y el comportamiento de los vectores y la caracterización de los potenciales reservorios del parásito causante de esta enfermedad (Ferro *et al.*, 1995, Morrison *et al.*, 1993; 1995a, b).

Con respecto al vector, Ferro *et al.* (1995) entre 1990 y 1993 capturaron en esta vereda un total de 263.094 ejemplares del género *Lutzomyia* en marraneras, casas y sitios de reposo natural, empleando diferentes métodos como aspirador bucal, trampas Disney y trampas pegantes. Las especies capturadas en orden de abundancia fueron *L. longipalpis* (86,1%), *L. trinidadensis* (Newstead) (11,0%), *L. cayennensis* (Floch y Abonnenc) (2,72%) y *L. atroclavata* (Knab) (0,14%) seguidas en menor porcentaje de *L. gomezi* (Nitzulescu), *L. dubitans* (Sherlock), *L. ovallesi* (Ortiz), *L. punctigeniculata* (Floch y Abonnenc), *L. pilosa* (Damasceno y Causey), *L. rangeli* (Ortiz), *L. carpenteri* (Fairchild y Hertig) y *L. olmeca bicolor* Fairchild y Theodor.

El comportamiento de picadura de *L. longipalpis* señaló que esta especie tenía un patrón de actividad nocturna altamente variable pero con mayores tasas de picadura entre 18:30 y las 23:30 horas. Además, se determinó un ciclo bimodal anual de abundancia con un pico pequeño entre octubre y noviembre y uno largo entre abril y mayo y una asociación significativa entre la abundancia de las hembras de esta especie, la humedad relativa y la lluvia (Morrison *et al.* 1995a; b).

Adicionalmente, en los trabajos realizados por Morrison *et al.* (1993) se identificaron mediante un test de precipitinas las fuentes de alimentación sanguínea para *L. longipalpis*, encontrando que las vacas y los cerdos fueron los hospederos preferidos por esta especie. Los resultados también sugirieron que *L. longipalpis* era una especie oportunista y poco antropofílica.

L. longipalpis es un complejo de especies hermanas (Arrivillaga *et al.* (2003), *L. longipalpis sensu stricto* (especie A, poblaciones de Brasil), *Lutzomyia* n. sp. (especies C1, poblaciones de Colombia), *Lutzomyia* n. sp. (especies C2, en parte poblaciones de Venezuela, Estado Lara El Paso) y *Lutzomyia* n. sp. (especie D, poblaciones de América

Central), las cuales se pueden reconocer por presentar fenotipos diferentes (número de manchas tergaes en el macho), sonidos de cortejo diferentes (Arrivillaga *et al.*, 2009) y especificidad de las feromonas sexuales emitidas por los machos (Spiegel *et al.*, 2005).

1.1 Las sensilias cuticulares

Los principales órganos sensoriales encargados de la detección de los semioquímicos en *Lutzomyia* son las sensilias estas son proyecciones cuticulares de origen ectodérmico que están formadas básicamente por tres elementos estructurales: células sensoriales, células accesorias y estructura cuticular (De-Freitas-Fernandes *et al.*, 2008) (Figura 1).

A pesar de presentar una morfología básica simple, las sensilias de *Lutzomyia* tienen una compleja estructura y función, presentando modificaciones para percibir estímulos luminosos, térmicos, químicos y mecánicos así como variaciones en la humedad relativa (Spiegel *et al.*, 2000). Se han descrito diferentes tipos de sensilias las cuales pueden estar presentes en ojos, antenas, partes bucales, superficie general del cuerpo, patas, cibarium y terminalia. Morfológicamente las sensilias son clasificadas como: sensilias tricoideas, quéticas, basicónicas y celocónicas (Spiegel *et al.*, 2000) (Figura 2).

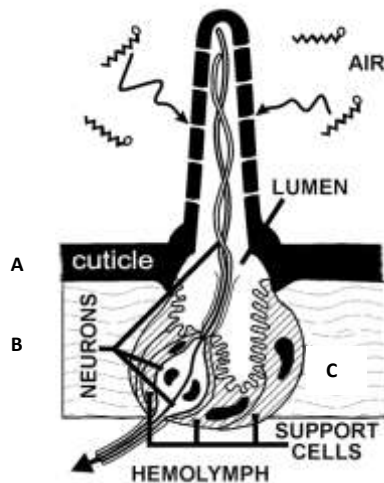


Figura 1. Esquema de una sensilia cuticular olfativa. Se observan los tres elementos estructurales. **A)** estructura cuticular porosa. **B)** neuronas quimiorreceptoras y **C)** células accesorias o de soporte (Vogt, 2005).

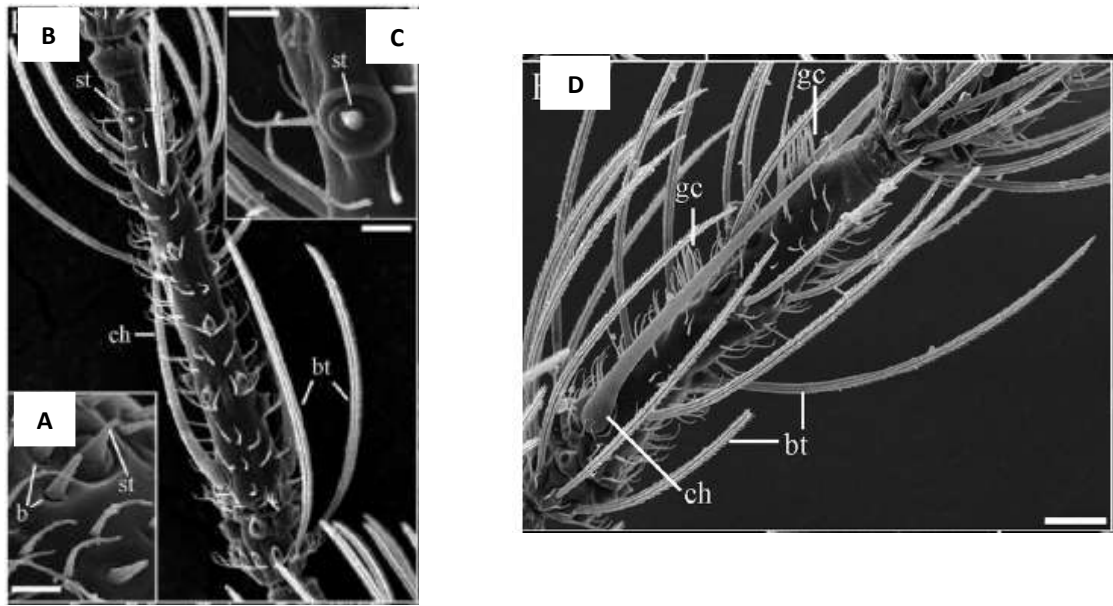


Figura 2. Tipos de sensilias en *Lutzomyia longipalpis*. (A) Flagelómero IX de antena de macho. (st) tricoidea roma, (b) basiconica. Escala 21,3 μm . (B) (st) tricoidea, (ch) chetica, (bt) tricoidea. Escala 144 μm . (C) (st) tricoidea corta. Escala 35 μm . (D) Flagelómero XIII de antena de hembra de *L. longipalpis*. (ch) chetica, (bt) tricoidea, (gc) coeloconica. Escala= 123 μm (De-Freitas-Fernandes *et al.*, 2008).

1.2 Detección del estímulo químico

Los insectos presentan dos sistemas quimio-sensoriales: el olfato y el gusto. El olfato puede ser definido como la detección de quimio-estimulantes volátiles y el gusto como la detección de compuestos quimio-estimulantes no volátiles. No obstante, la definición más apropiada está relacionada con la neuroanatomía del sistema. Las sensilias gustativas presentan un poro único en su superficie y son llamadas receptores químicos de contacto. Sus neuronas están diseñadas para percibir nutrientes, agua y sal, y están ubicadas en cualquier parte del cuerpo (Vogt, 2005).

Por otro lado las sensilias olfativas a pesar de tener una morfología variada y presentar una única o doble pared cuticular, se caracterizan por la presencia de poros múltiples (Figura 1) y estar restringidas a la cabeza (principalmente antenas y palpos). Son tradicionalmente clasificadas por su morfología externa, y su respuesta fisiológica a los olores específicos (Kalinova *et al.*, 2001). Sin embargo, tras el fenotipo morfológico y

fisiológico existen diversos genes especializados que expresan proteínas utilizadas para detectar y procesar los olores en las sensillas cuticulares (Vogt *et al.*, 2003).

La bioquímica de detección del olor involucra por lo menos tres tipos de estas proteínas: las receptoras de olor (Olfactory Receptor Proteins-ORs), las proteínas ligadoras de olor (Odorant Binding Proteins-OBPs) y las enzimas degradadoras de olor (Odor Degrading Enzymes-ODEs). Este proceso comienza con la entrada de los olores a las sensillas olfativas por los poros y canales cuticulares al lumen acuoso de las sensillas, donde se encuentran presentes las OBPs que ayudan al transporte y a la presentación de las moléculas de olor a las ORs localizadas en la membrana de las dendritas. Como resultado de esta interacción se produce la activación de la cascada de señalización vía inositol trifosfato (IP3), produciéndose la apertura de los canales de Na⁺/K⁺ y la depolarización local. Este evento produce un cambio en el potencial de la célula neuronal y la señal eléctrica es transmitida al sistema nervioso central por medio de potenciales de acción. Esta información integrada con la proveniente de otros sistemas sensoriales es la que genera las respuestas fisiológicas y comportamentales. Un factor importante para la respuesta de sensibilidad de la célula neuronal es el resultado de enzimas que degradan el olor (ODEs), que eliminan moléculas de olor no ligadas a los ORs. Otras proteínas que parecen estar involucradas como desestabilizadores del complejo OBP y las moléculas de olor, son las proteínas de membrana sensorial de neurona (Sensory Neuron Membrane Proteins-SNMP) (Figura 3) (Xu *et al.*, 2005; Vogt *et al.*, 2003; Vogt, 2005).

Las neuronas receptoras de olor varían en especificidad, sensibilidad y dinámica de respuesta al olor. Existe una gran familia de receptores de olor y una familia de receptores gustativos descritos en *Drosophila* y en *Anopheles gambiae* (Hill *et al.*, 2002). Un único olor puede ser detectado por diferentes receptores (Kajiya *et al.*, 2001).

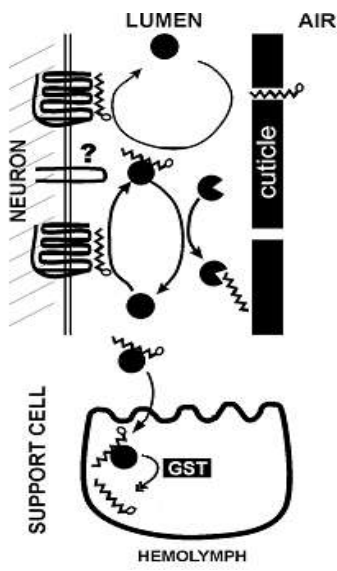
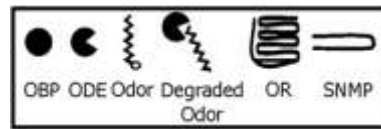


Figura 3. Modelo hipotético de la detección del olor. Las moléculas de olor hidrofóbicas entran al lumen acuoso por los poros de la cutícula. Las OBPs transportan y presentan el olor a las ORs localizadas en la membrana neuronal. Las ODEs en el lumen de la sensilia degradan las moléculas de olor. Las células soporte del citoplasma contienen enzimas como la glutatión-S-transferasa (GST) las cuales también pueden actuar como inactivadoras de las moléculas de olor. Interacciones entre las OBPs y las moléculas de olor y la función de las SNMP aún no son claras (Vogt *et al.*, 2003).



1.3 Comunicación química

En insectos la comunicación química está mediada por compuestos volátiles denominados semioquímicos que comprenden sustancias que favorecen las interacciones interespecíficas denominadas aleloquímicos y sustancias que facilitan la comunicación intraespecífica denominadas feromonas. Dentro de los aleloquímicos encontramos las cairomonas que son sustancias químicas favorables al receptor pero no al emisor (Dicke y Sabelis, 1988; Takken y Knols, 1999). Ejemplos de cairomonas son el CO₂ y el ácido láctico las cuales son productos de las reacciones metabólicas de los hospederos y que los insectos hematófagos se han especializado en detectar para localizar su fuente de alimento (Gibson y Torr, 1999). Adicionalmente, existen otras sustancias como las feromonas que actúan como mediadores químicos en la comunicación entre individuos de la misma especie con miras a la reproducción, agregación, alarma y ovoposición, entre otros (Kelly y Dye, 1997).

1.4 Las feromonas

Son sustancias secretadas por un individuo que provocan en el receptor de la misma especie una reacción específica comportamental (Dicke y Sabelis, 1988). Las feromonas son producidas por glándulas exocrinas y liberadas al exterior por medio de conductos (Noirot y Quenedey, 1974). La distancia a través de la cual las feromonas transmiten su

mensaje depende de la volatilidad del compuesto, su estabilidad en el aire, la velocidad de difusión, la eficiencia del receptor y las corrientes de aire (Spiegel *et al.*, 2005).

1.4.1. Glándulas secretoras de feromonas

En general las glándulas secretoras en los insectos están divididas en tres clases, glándulas de clase 1, 2 y 3. Las glándulas de feromonas en insectos normalmente pertenecen a las clases 1 o 3. Las glándulas de clase 1 no poseen un depósito de la feromona y liberan las sustancias después de la síntesis a la superficie y las de clase 3 poseen un depósito de la feromona y la secreción pasa a través de un canal cuticular después de la síntesis (Noirot y Quenedey, 1974).

El control de la liberación de las feromonas involucra la regulación de dos factores la síntesis y la dispersión. Cuando la glándula no está asociada a un depósito, la síntesis frecuentemente es seguida directamente por la dispersión. Mientras que cuando existe un depósito de la feromona ésta puede ser almacenada y la síntesis y la dispersión pueden ser posteriores (Noirot y Quenedey, 1974).

1.4.2 Tipos de feromonas

Las feromonas más importantes pueden ser clasificadas como sexuales, de agregación, dispersión, alarma, reclutamiento y oviposición. Las feromonas sexuales son utilizadas para atraer el sexo opuesto en el apareamiento y pueden ser producidas por el macho o la hembra, o por ambos. En algunos casos las feromonas sexuales no son suficientes y se requiere de otros olores para lograr el apareamiento (Spiegel *et al.*, 2005).

1.4.3 Feromonas sexuales en *L. longipalpis*

La producción y liberación de la feromona sexual de los machos de *L. longipalpis* se realiza por glándulas exodérmicas, asociadas a poros cuticulares que por medio de conductos permiten el transporte de la feromona de la glándula a la superficie cuticular para ser liberada. Mangabeira, (1969) describe dos formas morfológicamente distintas de machos de *L. longipalpis*; una con una mancha pálida en la 3 y 4 tergita abdominal y la otra con solo una mancha pálida en la 3 tergita. Lane *et al.* (1985), muestra que cada mancha pálida contiene numerosas pápulas de 3 a 3,5µm de diámetro con un poro central de 0,25 µm de diámetro.

Hamilton *et al.* (1994), determinó que la glándula de *L.longipalpis* de Jacobina, Brasil producía varios compuestos, la (1S,3S,7R)-3-methyl- α -himachalene que constituía el 90% del extracto de la glándula demostrando ser el atrayente de las hembras y el sesquiterpene α -himachalene C₁₅H₂₄ que constituía el 10% restante el cual no influía en la atracción.

Ensayos de laboratorio realizados por Spiegel *et al.* (2005) demostraron que las poblaciones de *L. longipalpis* de Brasil respondían a las feromonas de los machos de manera especie específica. Estos estudios también señalaron que la feromona, (1S,3S,7R)-3-methyl- α -himachelene no solo funcionaba como atractivo sexual para hembras, sino que también inducía respuestas neurofisiológicas en machos, comportamiento importante para la agregación de poblaciones de *L. longipalpis* de Jacobina, Brasil.

Diferentes estudios determinaron que los extractos de las glándulas sexuales de los machos de *L. longipalpis* eran capaces de atraer a las hembras de esta especie una distancia de 2,2 metros (Ward *et al.*, 1990; Nigam y Ward, 1991). Adicionalmente, Morton y Ward (1990), evaluaron la respuesta de las hembras de flebótomos a la feromona en trampas pegantes con el objeto de usarla en trampas para la recolección de flebótomos en campo.

Ward *et al.* (1990), sugiere que *L. longipalpis* está compuesta por diferentes poblaciones dependiendo de su distribución geográfica. Mediante análisis químico de cromatografía de gases y espectrofotometría de masa de los extractos de glándulas de machos de *L. longipalpis* se han revelado 3 tipos de feromonas sexuales liberadas por diferentes poblaciones de *L. longipalpis* de Brasil, Venezuela, Honduras, Costa Rica y Paraguay. Estos compuestos se mencionan a continuación:

1.4.3.1 Homosesquiterpeno (C₁₆H₂₆); PM 218

1. (1S,3S,7R)-3-methyl- α -himachelene: Esta feromona fue encontrada en poblaciones de Jacobina, Brasil (Hamilton *et al.*, 1996a) y puede ser producida a partir de la síntesis de diastereoisómeros del homosesquiterpeno 3-methyl- α -

himachalene propuesta por Mori (2001), obtenida a partir del cedro del himalaya (*Cedrus deodara*) (Hamilton *et al.*, 1996a).

2. 9-methylgermacrene-B: Esta feromona fue encontrada en poblaciones de Lapinha y Sobral, Brasil (Hamilton *et al.*, 1999) en Venezuela en El Layero y Guayabita (Watts *et al.*, 2005) y Asunción, Paraguay (Brazil *et al.*, 2009) Honduras y Costa Rica (Hamilton *et al.*, 1996c) y puede ser sintetizada por metilación y desoxigenación de germacrone, el mayor constituyente del aceite esencial Zdravets, del *Geranium macrorrhizum* (Hamilton *et al.*, 1996b; Hooper *et al.*, 2006) u obtenida a partir de un largo número de reacciones químicas propuestas por Mori (2001).

1.4.3.2 Diterpeno (C₂₀H₃₂); PM 272

1. Cembrene: Esta feromona fue encontrada en poblaciones del Noreste de Brasil, Sobral, Santarem, Marajó, Natal y Morada Nova, Brasil (Hamilton *et al.*, 1994; Watts *et al.*, 2005).

Adicional a las feromonas sexuales existen otras sustancias conocidas como cairomonas emitidas por los vertebrados que llevan a un comportamiento de agregación que se puede observar cuando los machos de *L. longipalpis* se juntan formando enjambres con el propósito de realizar despliegues de apareamiento competitivo nocturno, usualmente en la vecindad de los hospederos vertebrados a pesar de no ser hematófagos. Las hembras son atraídas a estos despliegues por el olor del hospedero, la liberación de la feromona del macho y el rápido movimiento de las alas que permite la propagación de esta, incrementándose durante su alimentación la oportunidad de cópula (Morton y Ward 1989, Nigam y Ward, 1991, Hamilton y Ramsoondar, 1994, Kelly y Dye, 1997; Hamilton *et al.*, 2002; Soares y Turco, 2003, Spiegel *et al.*, 2005).

1.5 Cairomonas en *Lutzomyia*:

1.5.1 Las cairomonas: En el caso de los flebotomíneos las cairomonas son sustancias volátiles detectadas por receptores en los palpos y las antenas (Dougherty *et al.*, 1999) y que sirven para la localización de los vertebrados y el desarrollo de una secuencia de otros comportamientos.

Para que los flebotomíneos sean atraídos por diferentes especies de hospederos, ellos primero responden a caíromonas como el CO₂. Esto explica porque en muchas especies de flebotomíneos la tasa de atracción parece aumentar con el tamaño del hospedero (Campbell-Lendrum *et al.*, 1999).

Estudios realizados por Hamilton y Ramsoondar (1994) y Rebollar –Tellez *et al.* (1999) demostraron el fuerte poder de atracción del olor de la piel humana frente a machos y hembras de *L. longipalpis*. Mientras que Oshaghi *et al.* (1994) y Morton y Ward (1989), demostraron el papel atractivo del olor de hámster, frente a esta misma especie.

Mediante estudios de laboratorio han sido identificados más de 350 volátiles liberados por la piel humana y se han hecho varios intentos por producir formulaciones a partir de estos compuestos capaces de sustituir los cebos humanos en la captura de diferentes culícidos.

Sin embargo, hay una fuerte evidencia de que muchos insectos hematófagos usan una combinación de caíromonas como dióxido de carbono, octenol, ácido láctico y amonio emitidas por los hospederos para discriminar entre individuos (Takken y Knols, 1999; Andrade *et al.*, 2008) y que otros factores físicos como la visión del insecto y la temperatura corporal del hospedero (Rebollar-Tellez *et al.*, 1999) hacen posible la localización de la fuente de alimentación sanguínea de las hembras (Torres-Estrada y Rodríguez, 2003).

1.6 Cairomonas frecuentemente evaluadas

Las caíromonas evaluadas frecuentemente en insectos hematófagos por su poder atractivo son las siguientes:

1.6.1 Dióxido de carbono (CO₂)

El CO₂ es la principal caíromona liberada por los vertebrados y utilizada por la mayoría de los insectos hematófagos vectores para localizar su hospedero (Andrade *et al.*, 2008; Guerenstein y Hildebrand 2008). El papel del CO₂ en la atracción de mosquitos ha sido muy documentado y estudiado, tanto en laboratorio como en campo en diferentes especies. Desde el primer reporte como atrayente de mosquitos, el CO₂ se ha usado en

trampas (con y sin luz) para la captura y monitoreo de poblaciones de mosquitos silvestres (Takken y Knols, 1999).

Estudios realizados por Pinto *et al.* (2001), evaluaron en condiciones de campo la atractividad del CO₂ liberado por una persona comparada con una tasa equivalente de CO₂ liberada artificialmente para *L. whitmani* y *L. intermedia* y observaron que aproximadamente 45% de la atracción ejercida por todos los olores liberados por la persona fue atribuida al CO₂. El resto de la atracción fue atribuida a los compuestos no identificados liberados por la respiración y el sudor. Por otro lado, diferentes autores, demostraron que el sudor es atractivo para *L. longipalpis* en la presencia de CO₂ (Hamilton y Ramsoondar, 1994; Rebollar- Tellez *et al.*, 1999), pero no identificaron los compuestos presentes en ese proceso.

Se ha demostrado también que este compuesto como cebo en las trampas CDC con luz aumenta en campo la captura de especies antropofílicas y zoofílicas de flebotomíneos, sin embargo en laboratorio su papel atractivo aún no ha sido demostrado (Andrade *et al.*, 2008, Nigan y Ward, 1991).

1.6.2. Octenol (1-octen-3-ol)

El octenol es una importante caïromona usada por especies de dípteros zoofílicos de las familias: Muscidae, Tabanidae, Ceratopogonidae y Culicidae, para la localización de los hospederos (Gibson y Torr, 1999; Bernier *et al.* 2000). En laboratorio, estudios electrofisiológicos realizados por Sant'Ana *et al.* (2002) demostraron que las hembras de *L. longipalpis* podían detectar el octenol en corrientes de aire.

Por otro lado, Beavers *et al.* (2004) evaluaron el efecto atrayente del octenol y el CO₂ para *P. papatasi* en trampas CDC con luz y demostraron que el CO₂ solo, era mejor atrayente para esta especie que el octenol solo, ellos no observaron efecto sinérgico entre estas dos caïromonas, concluyendo que el CO₂ en trampas CDC era mejor atrayente para machos y hembras de esta especie comparado con trampas cebadas con octenol o luz.

Andrade *et al.* (2008), evaluaron este compuesto en campo con trampas CDC con luz sobre una población de *L. intermedia* y *L. longipalpis* del estado de Minas Gerais, Brasil a

diferentes concentraciones, encontrando un aumento en las capturas de machos de *L. longipalpis* y machos y hembras de *L. intermedia* a las concentraciones de 5 y 15 mg/h y 25 mg/h respectivamente con respecto a los controles. Estos autores evaluaron además trampas cebadas con una mezcla de ácido láctico, ácido caproico y amonio denominada BG-Mesh Lure TM más 1-octen-3-ol 5 mg/h, donde se observó un aumento en las capturas de hembras y machos de *L. longipalpis* y *L. intermedia*.

Para mosquitos el efecto atrayente del octenol de acuerdo a estudios en campo parece ser especie – específica ya que en algunas especies puede actuar como atrayente y en otras como repelente (Kempe *et al.*, 1993). Estudios realizados por Takken y Kline *et al.* (1989), demostraron que las trampas CDC modificadas para la liberación de octenol eran un atrayente efectivo para la captura de *Aedes taeniorhynchus*, *Anopheles crucians*, *Ae. quadrimaculatus* y *Wyeomyia mitchelli*; esta fue la primera documentación del efecto atrayente del octenol sobre mosquitos.

1.6.3 Ácido láctico (C₃H₆O₃)

Este compuesto fue evaluado en campo por Andrade y colaboradores (2008) con una población de *L. longipalpis* y *L. intermedia* en el estado de Minas Gerais, Brasil. Ellos observaron que para *L. longipalpis* el número de hembras y machos capturados con este compuesto era menor con respecto al control y para *L. intermedia* este compuesto era más atractivo para los machos que para las hembras.

El contenido de L- ácido láctico en la piel de los humanos es mayor que en otros mamíferos y las diferencias en la atracción de los humanos sobre las hembras de mosquitos están asociadas con las diferencias en los niveles del L-ácido láctico, la densidad de glándulas sudoríparas ecrinas, su actividad y las diferencias de pH (Torres-Estrada y Estrada *et al.* 2003), ya que las altas concentraciones de ácido láctico (27-37 mmol/l=2,5-3,4 g/l) están relacionadas con el pH de la piel entre 5 y 6,8 (Geier *et al.*, 1999).

Se ha demostrado que este compuesto tiene efectos atrayentes sobre *An. gambiae sensu lato* y sobre *An. funestus*, los principales vectores del paludismo en el este de África.

Estas especies responden al L- ácido láctico, ácido hexanoico y CO₂, solos o mezclados. La de mayor atracción es la combinación de L -ácido láctico con CO₂ (Dekker *et al.*, 2002).

Así también, estudios realizados por Kline *et al.* (1990) evidenciaron el efecto atrayente de las trampas cebadas con solo ácido láctico en ambientes naturales ellos observaron que éstas no eran efectivas para la captura de mosquitos y que para lograr un efecto atractivo las trampas debían cebarse adicionalmente con CO₂, para lograr sinergia entre estas dos caïromonas. Más tarde, Steib *et al.* (2001) investigaron el papel del ácido láctico como preferencia olfativa en las hembras de *Aedes aegypti*, ellos compararon el efecto atractivo de la fricción de las manos de humanos y el extracto obtenido de la piel de diferentes mamíferos, concluyendo que los humanos eran los más atractivos y que esta atracción aumentaba al incrementar el ácido láctico.

1.6.4 Amonio (NH₄⁺)

El amonio fue identificado como un olor de los vertebrados en los años 1970s. Este compuesto se encuentra en la respiración humana a concentraciones entre 120 ppm y 3,170 ppm (Larson *et al.*, 1979) y en la piel humana donde el sudor producido por las glándulas ecrinas contiene 0,7-25 nmol/l de amonio y 3,9-67,7 mmol/l de urea, la cual es rápidamente descompuesta por las bacterias y la microflora bacteriana en la superficie de la piel.

Para insectos del género *Lutzomyia*, Andrade *et al.* (2008), observaron durante evaluaciones de campo que este compuesto no era un buen atrayente para las poblaciones de *L. longipalpis* y *L. intermedia* de Minas Gerais, Brasil, dado que esta sustancia atraía un menor número de hembra y machos de *L. longipalpis* (♀50/♂9) con respecto al control (♀107/♂17) y para *L. intermedia* igualmente atraía un menor número de individuos (♀5/♂3) con respecto al control (♀8/♂3).

En mosquitos, estudios realizados por Geier y colaboradores (1999) determinaron que *Ae. aegypti* respondía a la concentración de 2 y 17 ppm, la cual era claramente menor a la concentración de amonio en la respiración.

1.6.5 Ácido butírico (C₄H₈O₂)

Acerca del uso de este ácido graso de cadena corta como atrayente de insectos hematófagos se haya poco en la literatura. Sin embargo, autores como Bosch *et al.* (2000), sugieren que los ácidos grasos de cadena corta, contribuyen a la atractividad de la mezcla de olores emitida por los hospederos humanos. Knols *et al.* (2007) y Geier *et al.* (1999), evaluaron el efecto atrayente de los ácidos grasos en combinación con otras caimonas como el CO₂ y el amonio como atrayentes de mosquitos. Logan y Birkett (2007) proponen que existe una trampa llamada BioGents® que utiliza dióxido de carbono para la captura de mosquitos pero también puede liberar ácido láctico, amonio, y ácidos grasos imitando el olor del cuerpo humano.

En cuanto al efecto de este compuesto sobre poblaciones del género *Lutzomyia* no se tiene información reportada en la literatura.

1.7 Uso de los semioquímicos en trampas para el control de insectos

Los métodos más utilizado para determinar preferencias de hospederos, en insectos hematófagos del género *Lutzomyia*, son la exposición de cebos animales como gallinas y equinos en campo (Ximenes *et al.*, 1999) y eventualmente cebos humanos (Aguiar *et al.*, 1996; Rebollar–Tellez *et al.*, 1999; Pinto *et al.*, 2001).

La exposición de cebos humanos para la captura de especies de flebotomíneos antropofílicos ha sido cuestionada frecuentemente debido a consideraciones éticas. Mientras que para el desarrollo de estudios poblacionales los métodos de captura de flebótomos usados más comúnmente han sido las trampas CDC con luz o sin luz cebadas con hielo seco para aumentar la eficacia en campo, ya que algunas especies de flebotomíneos son altamente antropofílicas y no son fototácticas (Alexander *et al.*, 1995). Otras especies por otro lado parecen ser más fototácticas que antropofílicas, como por ejemplo, *L. verrucarum towsendi* (Davies *et al.*, 1995).

En algunos casos para sustituir el problema ético de la exposición de seres humanos como cebos, las trampas Shannon son otra alternativa para la captura de flebótomos ya que estos llegan atraídos por la luz, el olor o el CO₂ del cebo que puede ser un animal o el mismo colector. Este método puede ser bueno para capturar especies antropofílicas, pero

tiene la desventaja que emplea mínimo tres estímulos atractivos y no se tiene la certeza de cuál es el responsable de la atracción (Lane *et al.*, 1994).

En la actualidad para la captura de mosquitos hematófagos existen trampas como Counterflow geometry (CFG) (Mosquito Magnet®), desarrolladas por American Biofisica Corporation (ABC). Estas han sido utilizadas para la captura de varias especies de mosquitos empleando diferentes cebos como: (5R,6S)-6-acetoxi-5-hexadecanolide, feromona de oviposición de *Culex quinquefasciatus* e infusiones de hierbas asociadas a la cría de los insectos y a olores de los hospederos tales como dióxido de carbono y 1-octen-3-ol. También existe una nueva trampa llamada BioGents® que utiliza dióxido de carbono la cual ha demostrado ser eficaz en la captura de mosquitos (*Aedes* sp. particularmente). Esta trampa puede también liberar ácido láctico, amonio, y ácidos grasos imitando el olor del cuerpo humano (Logan y Birkett, 2007).

Las trampas descritas anteriormente son herramientas útiles para el monitoreo y control de las poblaciones de insectos vectores. Sin embargo, una trampa cebada que iguale o exceda la capacidad para atraer mayor cantidad de insectos como un hospedero vertebrado no existe actualmente. Es probable que esto se deba a la complejidad de la composición de los olores de los hospederos, lo que significa que una mezcla de varios productos químicos en las proporciones adecuadas podría ser útil, pero esto solo puede lograrse mediante la comprensión sobre los mecanismos olfativos de los insectos y su comportamiento de búsqueda de hospederos (Logan y Birkett, 2007).

Para *L. longipalpis* es conocido el rol de las feromonas sexuales de los machos en la atracción de las hembras para la cópula y el mantenimiento del aislamiento reproductivo (Watts *et al.*, 2005). Adicionalmente, para esta especie, Dougherty y Hamilton, (2007) identificaron al ácido dodecanóico como feromona de oviposición, la cual atrae y/o estimula a las hembras grávidas para la puesta de los huevos. Estas feromonas aún no se han explorado como posible método de control para estas especies en Colombia.

Las trampas cebadas con feromonas y/o cairomonas podrían ser un potencial método de control de insectos, útiles en programas de vigilancia y mapeo de poblaciones. Sin embargo, para el desarrollo de estas trampas es necesario evaluar el papel de los

semioquímicos en las diferentes especies centrándose principalmente en las feromonas que interviene en el apareamiento y la oviposición (Logan y Birkett, 2007).

2. JUSTIFICACIÓN

La aplicación práctica de los conocimientos sobre la atracción de sustancias volátiles en insectos hematófagos ha sido aplicada en el mejoramiento del desempeño de las trampas utilizadas como métodos de captura y que no incluyen cebos humanos o animales. Para el caso concreto de *Lutzomyia* se tienen algunos estudios publicados en países como Brasil y Paraguay del poder de atracción de diferentes semioquímicos en trampas pegantes y trampas de luz CDC. Para Colombia no se tienen registros de estudios en laboratorio o en campo que pretendan evaluar el desempeño en la recepción de sustancias volátiles de nuestras especies vectores de leishmaniasis. Teniendo en cuenta lo anterior, en el presente trabajo evaluó en condiciones de laboratorio y campo el efecto de las feromonas sintéticas (S)-9-methylgermacrene-B y (1S,3S,7R)-3-methyl- α -himachalene y una mezcla de cairomonas en la atracción de *L. longipalpis* para su potencial utilización en métodos de captura en la vereda el Callejón (municipio de Ricaurte, Cundinamarca).

3. HIPÓTESIS

Ho. Las caïromonas dióxido de carbono, octenol, ácido láctico, ácido butírico, amonio individuales y la mezcla de (ácido láctico, ácido butírico y amonio) evaluadas en laboratorio, no atraen un mayor número de hembras de *L. longipalpis* con respecto al control.

Ha. Las caïromonas dióxido de carbono, octenol, ácido láctico, ácido butírico, amonio individuales y la mezcla de (ácido láctico, ácido butírico y amonio) evaluadas en laboratorio, atraen un mayor número de hembras de *L. longipalpis* con respecto al control.

Ho. Las feromona sintética (S)-9-methylgermacrene-B y (1S,3S,7R)-3-methyl- α -himachalene evaluadas individualmente en laboratorio, no atraen un mayor número de hembras de *L. longipalpis* con respecto al control.

Ha. Las feromona sintética (S)-9-methylgermacrene-B y (1S,3S,7R)-3-methyl- α -himachalene evaluadas individualmente en laboratorio, atraen un mayor número de hembras de *L. longipalpis* con respecto al control.

Ho. Las trampas CDC cebadas con las caïromonas dióxido de carbono, octenol y mezcla de (ácido láctico, ácido butírico y amonio) evaluadas en campo, no atraen un mayor número de hembras de *L. longipalpis*, con respecto a las trampas CDC sin cebar.

Ha. Las trampas CDC cebadas con las caïromonas dióxido de carbono, octenol y mezcla de (ácido láctico, ácido butírico y amonio) evaluadas en campo, atraen un mayor número de hembras de *L. longipalpis*, con respecto a las trampas CDC sin cebar.

Ho. Las trampas CDC cebadas con la feromona sintética (S)-9-methylgemacrene-B evaluadas en campo, no atraen un mayor número de hembras de *L. longipalpis*, con respecto a las trampas CDC sin cebar.

Ha. Las trampas CDC cebadas con la feromona sintética (S)-9-methylgemacrene-Bevaluadas en campo, atraen un mayor número de hembras de *L. longipalpis*, con respecto a las trampas CDC sin cebar.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar en condiciones de laboratorio y campo la atracción de algunos semioquímicos sobre una población de *Lutzomyia longipalpis* presentes en a la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca, Colombia.

4.2 Objetivos específicos

1. Determinar bajo condiciones de laboratorio las concentraciones atrayentes de las feromonas (1*S*,3*S*,7*R*)-3-methyl- α -himachalene y (S)-9-methylgermacrene-B sobre una población de *L. longipalpis* de la vereda El Callejón.
2. Determinar en condiciones de laboratorio las concentraciones atrayentes de las kairomonas dióxido de carbono, octenol, ácido láctico, ácido butírico, amonio y la mezcla de ácido láctico, ácido butírico y amonio sobre la población de *L. longipalpis* de la vereda El Callejón.
3. Comprobar en condiciones de campo el efecto atrayente de la feromona (S)-9-methylgermacrene-B sobre la población de *L. longipalpis* de la vereda El Callejón utilizando trampas CDC con luz cebadas y sin cebar.
4. Establecer en condiciones de campo el efecto atrayente del dióxido de carbono, el octenol y la mezcla de ácido láctico, ácido butírico y amonio sobre la población de *L. longipalpis* de la vereda El Callejón utilizando trampas CDC con luz cebadas y sin cebar.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Obtención y cría del material entomológico: Para la obtención de hembras vírgenes de la generación F1 se recolectaron hembras alimentadas de *L. longipalpis* en la vereda El Callejón en abrigo animal (marraneras) entre las 18:00 y las 19:00 horas y especialmente entre las 5:00 y 6:00 horas cuando las abundancias eran altas técnica utilizada en trabajos previos realizados en la vereda El Callejón (Morrison *et al.*, 1995b). Adicionalmente, para la captura de un mayor número de hembras se utilizaron trampas de luz (Centers for Disease Control and Prevention CDC) (Sudia y Chamberlain, 1962) las cuales constaban de un motor con un ventilador de succión impulsado por una batería; un bombillo de 6 voltios y una malla, donde los individuos llegaban atraídos por la luz y eran succionados por el ventilador quedando atrapados en el interior de la malla; esta trampas fueron ubicadas entre las 18:00 y las 6:00 horas. Las hembras fueron recolectadas en las marraneras, retiradas de la CDC con un aspirador bucal y colocadas en vasos de cría con cierre hermético para su traslado al insectario del Grupo de Entomología del Instituto Nacional de Salud, en Bogotá.

En el insectario los vasos de cría con las hembras recolectadas fueron dispuestos dentro de una incubadora a temperatura y humedad relativa controladas $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y $75 \pm 5\%$ respectivamente. Una vez obtenidas las posturas se esperó la emergencia de las larvas, las cuales fueron alimentadas con una mezcla de comida para hámster (rodentina) y estiércol de vaca elaborada según el protocolo para preparación de alimento larval para flebótomos criados en laboratorio del Grupo de Entomología del Instituto Nacional de Salud (documento interno del laboratorio). Protocolo basado en trabajos previos realizados por Modi y Tesh (1983). Después de aproximadamente 25 días se obtuvieron las pupas.

Una vez obtenidas las pupas, estas fueron separadas por sexo para la obtención de hembras vírgenes utilizando las características morfológicas propias de cada sexo presentes en el último segmento abdominal, donde los machos presentan una pequeña protuberancia en el último segmento abdominal y las hembras dos protuberancias ubicadas en la parte basal de este segmento (Figura 4) (Gomes y Peçanha, 2000).



Figura 4. Pupa hembra y macho de *L. longipalpis* (Fotografía tomada por Paula Pareja)

Posteriormente las pupas hembra fueron colocadas en vasos de cría hasta la emergencia de los adultos. Seguida la emergencia de los adultos éstos fueron liberados en jaulas Gerber modificadas, las cuales constaban de un marco metálico cuadrado de 20x20x20 cm cubierto por una tela de muselina fina para impedir la salida de los insectos por las fibras y sobre estas fueron colocados dos motas de algodón impregnadas con solución azucarada saturada y agua para su alimentados hasta el quinto día.

5.2 Bioensayos en Laboratorio

Los bioensayos fueron realizados en un olfatómetro de una vía con decisión doble en “Y”, ARS Analytical Research Systems modelo HADS-2AFM2, equipo que permite el flujo de aire dentro de un dispositivo donde los insectos tienen la posibilidad de elegir entre aire cargado de olor (tratamiento) y aire libre de olor (control), este tipo de olfatómetros en “Y” están diseñados para la evaluación de volátiles sobre insectos de tamaño pequeño. Los bioensayos fueron desarrollados con este equipo a una velocidad de aire filtrado de 2 cm/s y una humedad de 100%, ubicado en posición horizontal, evitando cualquier tipo de vibraciones. Se emplearon entre 60 y 80 hembras vírgenes de *L. longipalpis* de 5 a 8 días de nacidas y sin suministro de alimentación sanguínea (Nigam y Ward, 1991; Ward *et al.*, 1990). Las hembras fueron expuestas al estímulo de manera individual (Figura 5).

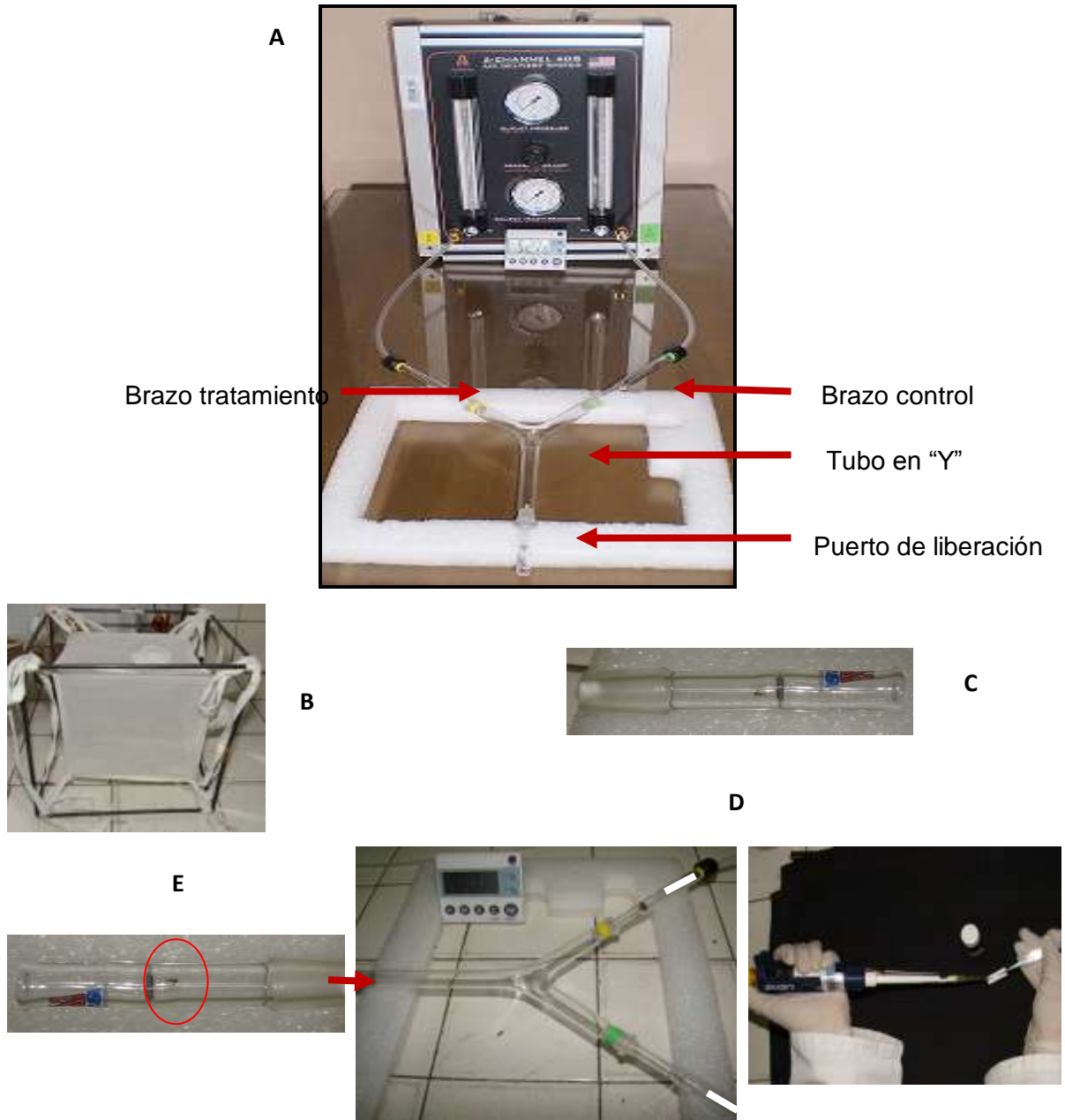
Para evaluar el comportamiento de la hembra de *L. longipalpis* frente al estímulo ésta fue mantenida en el puerto de liberación del olfatómetro para su aclimatación durante 5 minutos antes de la exposición al semioquímico, durante este tiempo se impregnó un rectángulo de papel filtro Rundfilter® (0,8 X 2,2cm) con un área de 1,76 cm² con 30 µl de la sustancia a evaluar, el rectángulo de papel de filtro fue ubicado en uno de los brazos de la “Y” y en el otro brazo el control que correspondía al solvente del semioquímico a evaluar (Figura 5ay c).

Una vez finalizado el tiempo de aclimatación de la hembra de *L. longipalpis*, el puerto de liberación fue conectado al tubo en “Y” para la observación y registro del comportamiento de la hembra frente al estímulo (Figura 5d y e). En cada repetición la hembra fue reemplazada y se alternó la posición del tratamiento en los dos puertos de la “Y” cada 10 repeticiones con el fin de evitar sesgos de posición. El tiempo de observación para cada ensayo fue de 5 minutos tiempo estimado para obtener una respuesta por parte del insecto frente al estímulo. El puerto de liberación, el tubo “Y” y las extensiones de este fueron lavados con etanol esperando un lapso de 20 min para asegurar la evaporación del solvente. Este procedimiento se realizó cada 10 repeticiones, cada vez que se cambiaba de concentración o el semioquímico para evitar posibles sesgos (Rios-Delgado *et al.*, 2008).

Los bioensayos fueron realizados en las horas reportadas de mayor actividad para la especie *L. longipalpis*, según Morrison *et al.*, (1995a y b) en la vereda El Callejón desde las 18:00 hasta las 21:30 horas. Se utilizó un cuarto oscuro con una temperatura y la humedad relativa de $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y $75 \pm 5\%$, respectivamente, simulando las condiciones ambientales en campo.

A continuación se realiza una descripción de los experimentos realizados en laboratorio para la evaluación de los semioquímicos utilizando el procedimiento descrito anteriormente.

Esquema general del olfatómetro de una vía con decisión doble en "Y"



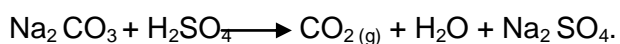
Fotografías tomadas por Paula Pareja

Figura 5. Esquema del procedimiento para el desarrollo de los bioensayos de laboratorio. **(A)** Olfatómetro de una vía con decisión doble en "Y". **(B)** Jaula Gerber con hembras vírgenes de *L. longipalpis* de 5 a 8 días de nacidas. **(C)** Aclimatación de una hembra en el puerto de liberación del olfatómetro durante 5 min. **(D)** Impregnación del papel de filtro con la sustancia a probar para su posterior colocación en el brazo del tratamiento y el control del tubo en "Y". **(E)** Unión del puerto de liberación con el tubo en "Y" para el inicio de un experimento (Fotografías tomadas por: Paula Pareja)

5.2.1 Experimento 1: Las feromonas sintéticas (S)-9-methylgermacrene-B (9MGB) y (1S,3S,7R)-3-methyl- α -himachalene (3M α H), suministradas por el Destacamento Naval de Investigaciones Médicas (NMRCD), Lima, Perú y adquiridas por ellos en la Universidad Keele, Reino Unido fueron evaluadas en el experimento a las siguientes concentraciones 2,5%, 3,75%, 5% y 10% y 2,5%, 3,75% y 5% para las feromonas 9MGB y 3M α H respectivamente las dos feromonas fueron preparadas en hexano (Merck pureza de 99%). Cabe aclarar que para las concentraciones de 2,5% y 3,75% de la feromona sintética 3M α H no fue posible completar a 80 el tamaño de la muestra debido a insuficiencias en la cantidad de la feromona recibida.

5.2.2 Experimento 2: Las caironomas evaluadas y sus respectivas concentraciones fueron las siguientes: **1)** ácido láctico (Merck pureza de 90%) al 0,001%, 0,01%, 0,1%, 1,0% y 10% disuelto en agua; **2)** ácido butírico (Merck pureza de >99%) al 0,01%, 0,1%, 1,0% y 10% disuelto en agua; **3)** amonio (Merck pureza de 98%) al 0,01%, 0,1%, 1,0%, 10% y 15% disuelto en agua; **4)** 1-octen-3-ol (Merck pureza de 99.4%) al 0,0001%, 0,001%, 0,01%, 0,1%, 1,0% y 10% disuelto en hexano y **5)** CO₂ con liberaciones de 75, 300, 800 y 1.500 partes por millón (ppm).

Para la evaluación del CO₂ este fue obtenido a partir de un reacción química de carbonato de sodio (Merck pureza 90%) y ácido sulfúrico (Merck pureza 95-98%)



Donde adicionando con una jeringa de insulina (0,1 ml/min) diferentes soluciones de Na₂CO₃ (0,01, 0,04, 0,1 y 0,2 M) a un beaker con 100 ml de H₂SO₄ 1M se generó 75, 300, 800 y 1.500 ppm de CO₂ respectivamente (Barrozo y Lazzari, 2004). La producción de CO₂ fue comprobada con fenolftaleína.

5.2.3 Experimento 3: Una vez establecidas las concentraciones más atractivas de las cairomonas se preparó una mezcla utilizando 10 µl de cada una de las sustancias de la siguiente manera ácido láctico al 1,0% + ácido butírico al 0,1% + amonio al 10% en una proporción (1:1:1) para su evaluación.

5.3 Bioensayos en campo:

5.3.1 Área de estudio: El estudio se llevó a cabo, durante la estación seca (con bajo registro de lluvias) en el mes de agosto de 2009 en la vereda El Callejón (42759'9"N; 74705'37"W) del municipio Ricaurte, Departamento de Cundinamarca, en la región andina a una altitud de 374 msnm (Figura 6). Los muestreos fueron realizados en ocho puntos ubicados en el peridomicilio de dos casas. Las coordenadas geográficas de los puntos de muestreo fueron: Casa 1 (**Cs1**) Punto (**P1**) 42826'7"N; 74701'40"W, **P2**) 42824'5"N; 74699'84"W, **P3**) 42827'9"N; 74699'23"W, **P4**) 42830'5"N; 74698'43"W y Casa 2 (**Cs2**) **P5**) 42711'4"N; 74704'57"W, **P6**) 42716'7"N; 74704'47"W, **P7**) 42975'8"N; 74695'23"W, **P8**) 42713'4"N; 74703'59"W.

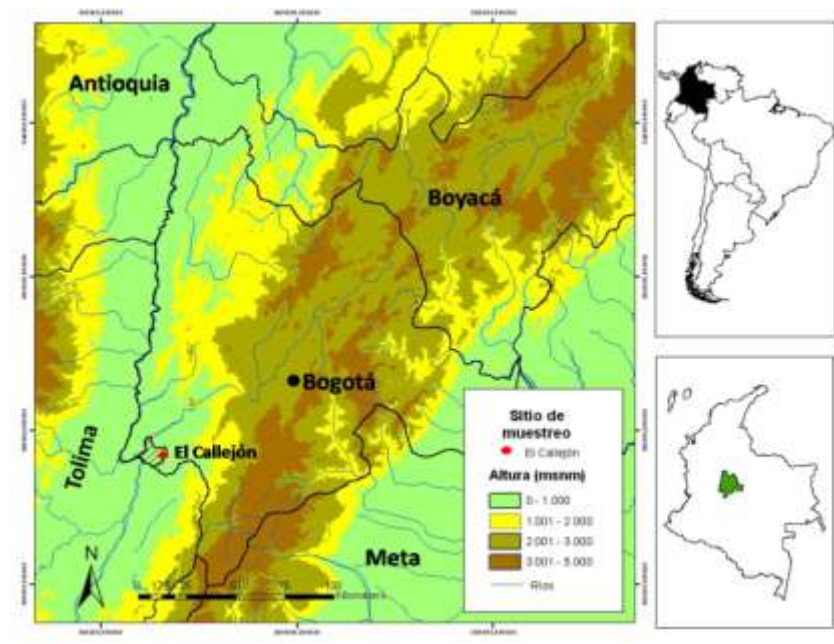


Figura 6. Ubicación geográfica de la vereda El Callejón (Cundinamarca-Colombia).

Esta vereda fue seleccionada para la evaluación de los semioquímicos en campo, por presentar alta abundancia de *L.longipalpis* (86%) en estudios previos realizadas en este

lugar (Ferro *et al.*, 1995; Morrison *et al.*, 1993; 1995a, b). Durante el periodo de captura, 4 al 19 de agosto de 2009, la temperatura y la humedad relativa fueron registradas diariamente cada 15 minutos durante 24 horas con un datalogger 42270 EXTECH Instruments.

5.3.2 Experimento 4: En cada uno de los ocho puntos de muestreo seleccionados cuatro por casa se ubicó un par de trampas CDC con luz incandescente, una cebada con el semioquímico o tratamiento (**T**) a evaluar y otra sin cebar o (**control**). Los semioquímicos fueron:

- **T1:** 60 µl de 9MGB al 5% mezclado aceite de parafina para disminuir la evaporación (Spiegel *et al.*, 2005)
- **T2:** dispensador con 700 g/noche de hielo seco para la liberación del CO₂ durante toda la noche (Figura 7)
- **T3:** 60 µl de 1-octen-3-ol al 0,01% más aceite de parafina
- **T4:** 60 µl de mezcla de: 20 µl de ácido láctico al 0,1%, 20 µl de ácido butírico al 1,0% y 20 µl de amonio al 10% (1:1:1).

Los controles para los T1 y T3 fue una mezcla de hexano y aceite de parafina (1:1) y para los T2 y T4 la trampa CDC (Spiegel *et al.*, 2005).

Los T1, T3 y T4 fueron colocados en un dispensador el cual constaba de un vial de vidrio de 4 ml en cuyo interior se encontraba un rectángulo de papel de filtro impregnado con 60µl del semioquímico a evaluar, tapado con un corcho y parafilm®“M” para evitar la evaporación; a un lado del corcho se dejó expuesto aproximadamente 5mm del papel de filtro para permitir la liberación del compuesto; el dispensador fue adherido al motor de la trampa CDC (Figura 8). El dispensador utilizado fue modificado a partir del descrito por Andrade (2006) reemplazando el pavilo utilizado por Andrade por el papel de filtro.



Figura 7. Dispensador para el CO₂
Tomadas por Paula Pareja



Figura 8. Dispensador para los tratamientos 1,3,4

Los pares de trampas tratamiento y control fueron rotados aplicando el método de cuadrado latino el cual consiste en rotar los pares de trampas de tal forma que cada uno de estos ocupe cada día un punto de muestreo diferente de manera sucesiva, los pares de trampas fueron rotados por los cuatro puntos de muestreo durante 16 noches consecutivamente, ocupando finalmente cada uno de los pares de trampas 4 veces el mismo punto. Las trampas fueron instaladas a 1,5 metros de altura sobre el nivel del suelo en el peridomicilio de las 18:00 a la 6:00 horas. La distancia entre los pares de trampas CDC fue de 70 y 80 metros para evitar que el efecto de los atrayentes se solapara (Beavers *et al.*, 2004), y la distancia entre las trampas tratamiento y control fue de 3-5 metros (Bray *et al.*, 2009). Una vez recogidas las trampas, estas fueron inspeccionadas y el material entomológico fue empacado en viales de vidrio con alcohol al 70% y llevado al laboratorio de entomología del Instituto Nacional de Salud para su identificación taxonómica.

Teniendo en cuenta que el número de individuos de *L. longipalpis* fue alto, los insectos fueron observados en el microscopio usando solo las siguientes características morfológicas externas: los machos de *L. longipalpis* fueron identificados por la presencia de una macha clara en la tergita abdominal del segmento IV (Ward *et al.*, 1983) y las

hembras por patrones de manchas en el tórax (Ferro *et al.*, 1995). De este material el 10% fue aclarado con hidróxido de potasio (KOH) al 10%, y transferidos a una lámina excavada con fenol líquido para la observación de las espermatecas de las hembras en el microscopio y su confirmación. Los ejemplares de las especies diferentes a *L. longipalpis* fueron aclarados en su totalidad e identificados taxonómicamente utilizando las claves dicotómicas de Young y Duncan (1994).

5.4 Análisis estadístico de los resultados Los datos obtenidos durante el estudio fueron organizados en bases de datos en Microsoft Excel. Para establecer diferencias entre las hembras de *L. longipalpis* atraídas por los semioquímicos y las no atraídas en los bioensayos de laboratorio, se realizaron pruebas binomiales con una significancia estadística de $p < 0,05$ (Bray *et al.*, 2009; Zar, 1999).

Para las comparaciones entre tratamiento y control de los bioensayos en campo, se realizó una prueba t no pareada (Zar, 1999). Para las comparaciones entre tratamientos de cada casa evaluada se realizó un Análisis de Varianza ANOVA, empleando el software SPSS y para correlacionar el promedio de ejemplares capturados con las variables ambientales temperatura y humedad relativa, se realizó una correlación R^2 .

6. RESULTADOS

6.1 Bioensayos en laboratorio:

6.1.1 Experimento 1. Evaluación de las feromonas sintéticas (S)-9-methylgermacrene-B (9MGB) y (1S,3S,7R)-3-methyl- α -himachalene (3M α H):

Se estableció que las feromonas sintéticas 9MGB y 3M α H para la población de hembras de *L. longipalpis* de la vereda El Callejón fueron atractivas a las concentraciones de 3,75% ($p=0,00053$), 5% ($p=3,2076E-10$) y 2,5% ($p=0,00315$), 3,75% ($p=0,00310$), respectivamente. La feromona 9MGB al 5% fue la de mayor poder de atracción (Tabla 1).

Tabla 1. Número de hembras de *L. longipalpis* atraídas, no atraídas y sin respuesta por las feromonas evaluadas en el laboratorio a diferentes concentraciones.

Feromonas	Concentraciones	<i>L. longipalpis</i> atraídas		<i>L. longipalpis</i> no atraídas		<i>L. longipalpis</i> sin respuesta		Total	Significancia estadística(p)
		n	%	n	%	n	%		
9MGB	2,5%	45	56,3	20	25	15	18,8	80	0,16
	3,75%	55	68,8	20	25	5	6,3	80	*0,00053
	5%	67	83,8	13	16,3	0	0	80	*3,2076E-10
	10%	38	47,5	21	26,3	21	26,3	80	0,87
3M α H	2,5%	48	66,7	24	33,3	0	0	72	*0,00315
	3,75%	41	68,3	19	31,7	0	0	60	*0,00310
	5%	42	52,5	26	32,5	12	15	80	0,37

* Estadísticamente significativo ($p<0,05$)

6.1.2 Experimentos 2 y 3. Evaluación de las caïromonas dióxido de carbono, octenol, ácido láctico, ácido butírico y amonio individualmente y en mezcla:

Se determinó que las hembras de *L. longipalpis* de la vereda El Callejón se mostraron atraídas en mayor porcentaje a la concentración de ácido láctico de 1,0%, ácido butírico 0,1%, amonio 10%, 1-octen-3-ol 0,01%-1,0% y al dióxido de carbono 800 ppm. Así mismo, se determinó un porcentaje de respuesta del 58,3% de *L. longipalpis* frente a la mezcla realizada con las sustancias ácido láctico (1,0%), ácido butírico (0,1%) y amonio

(10%). Sin embargo, para ninguno de los casos los resultados obtenidos fueron estadísticamente significativos (Tabla 2).

Tabla 2. Número de hembras de *L. longipalpis* atraídas y no atraídas por las cairomonas evaluadas a diferentes concentraciones.

Cairomonas	Concentraciones	<i>L. longipalpis</i> atraídas		<i>L. longipalpis</i> no atraídas		<i>L. longipalpis</i> sin respuesta		Total	Significancia estadística (p) (p<0,05)
		n	%	n	%	n	%		
Ácido láctico (C ₃ H ₆ O ₃)	0,001%	23	38,3	35	58,3	2	3,3	60	0,97
	0,01%	17	28,3	40	66,7	3	5	60	1
	0,1%	22	36,7	35	58,3	3	5	60	0,99
	1,0%	33	55	25	41,7	2	3,3	60	0,26
	10%	21	35	33	55	6	10	60	0,99
Ácido butírico (C ₄ H ₈ O ₂)	0,01%	22	36,7	32	53,3	6	10	60	0,99
	0,1%	33	55	25	41,7	2	3,3	60	0,26
	1,0%	30	50	23	38,3	7	11,7	60	0,55
	10%	18	30	34	56,7	8	13,3	60	1
Amonio (NH ₄ ⁺)	0,01%	29	48,3	26	43,3	5	8,3	60	0,65
	0,1%	32	53,3	24	40	4	6,7	60	0,35
	1,0%	23	38,3	26	43,3	11	18,3	60	0,97
	10%	33	55	24	40	3	5	60	0,26
	15%	29	48,3	20	33,3	11	18,3	60	0,65
Octenol 1-octen-3-ol (C ₈ H ₁₆ O)	0,0001%	21	35	17	28,3	22	36,7	60	0,99
	0,001%	26	43,3	22	36,7	12	20	60	0,88
	0,01%	28	46,7	27	45	5	8,3	60	0,74
	0,1%	31	51,7	20	33,3	9	15	60	0,45
	1,0%	35	58,3	13	21,7	12	20	60	0,12
	10%	4	6,7	1	1,6	55	91,7	60	1
Dióxido de Carbono (CO ₂)	75 ppm	30	50	23	38,3	7	11,7	60	0,55
	300 ppm	9	15	43	71,7	8	13,3	60	1
	800 ppm	31	51,7	29	48,3	0	0	60	0,45
	1.500 ppm	28	46,7	31	51,7	1	1,7	60	0,74
Mezcla		35	58,3	25	41,7	0	0	60	0,12

Mezcla: ácido láctico (1,0%) + ácido butírico (0,1%) + amonio (10%) (1:1:1)

6.2 Bioensayos en campo:

6.2.1 Experimento 4. Evaluación en campo de los semioquímicos (S)-9-methylgermacrene-B (9MGB), dióxido de carbono y 1-octenol-3-ol individualmente y la mezcla de ácido láctico, ácido butírico y amonio:

Se realizaron comparaciones entre el número de ejemplares de *L. longipalpis* capturados con cada uno de los tratamientos y sus controles entre la casa 1 (Cs1) y la casa 2 (Cs2) durante los 16 días de muestreo y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los tratamientos. A pesar de eso, a continuación se presentan los resultados por tratamiento para Cs1 y Cs2 de manera individual.

Tabla 3. Comparaciones de los tratamientos y sus controles entre **Cs1** y **Cs2**.

Significancia estadística (p)	CDC+9MGB Cs1 y Cs2	CDC Cs1 y Cs2	CDC+CO ₂ Cs1 y Cs2	CDC Cs1 y Cs2	CDC+1-octen-3-ol Cs1 y Cs2	CDC Cs1 y Cs2	CDC+mezcla Cs1 y Cs2	CDC Cs1 y Cs2
(p=<0,05)	0,18	0,422	0,145	0,086	0,241	0,085	0,307	0,43

Se capturaron 41.823 y 29.606 ejemplares del género *Lutzomyia* entre hembras y machos en **Cs1** y **Cs2** respectivamente. En total se identificaron 10 especies, donde *L. longipalpis* fue la más abundante con un 98,4% para **Cs1** y 94,9% para **Cs2**: Las especies restantes fueron en orden de abundancia para la **Cs1**: *L. trinidadensis*, *L. carpenteri*, *L. cayennensis*, *L. olmeca bicolor*, *L. gomezi*, *L. dubitans*, *L. atroclavata*, *L. ovallesi* y *L. punctigeniculata* y para la **Cs2**: *L. trinidadensis*, *L. carpenteri*, *L. dubitans*, *L. cayennensis*, *L. atroclavata*, *L. gomezi*, *L. ovallesi*, *L. olmeca bicolor* y *L. punctigeniculata* (Tabla 4).

Tabla 4. Total de ejemplares por especie del género *Lutzomyia* capturados con 4 pares de trampas CDC tratamiento y sus respectivos controles, durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca.

Especie	Cs 1				Cs 2				Cs1 y Cs2			
	CDC+9MGB		CDC		CDC+9MGB		CDC		CDC+9MGB		CDC	
	♀	♂	(♀+♂)	%	♀	♂	(♀+♂)	%	♀	♂	(♀+♂)	%
<i>L. longipalpis</i>	24.559	16.597	41.156	98,41	16.203	11.897	28.100	94,91	40.762	28.494	69.256	96,96
<i>L. trinidadensis</i>	163	74	237	0,57	504	458	962	3,25	667	532	1199	1,68
<i>L. carpenteri</i>	67	85	152	0,36	114	56	170	0,57	181	141	322	0,45
<i>L. atroclavata</i>	3	2	5	0,01	26	49	75	0,25	29	51	80	0,11
<i>L. olmeca bicolor</i>	48	23	71	0,17	1	2	3	0,01	49	25	74	0,10
<i>L. gomezi</i>	40	13	53	0,13	33	38	71	0,24	73	51	124	0,17
<i>L. dubitans</i>	7	9	16	0,04	66	61	127	0,43	73	70	143	0,20
<i>L. cayennensis</i>	60	64	124	0,30	47	30	77	0,26	107	94	201	0,28
<i>L. ovallesi</i>	8	0	8	0,02	16	2	18	0,06	24	2	26	0,04
<i>L. punctigeniculata</i>	0	1	1	0,00	1	2	3	0,01	1	3	4	0,01
Total	24.955	16.868	41.823	100,00	17.011	12.595	29.606	100,00	41.966	29.463	71.429	100,00

Teniendo en cuenta que en total *L. longipalpis* fue la especie más abundante (96,96%) en la vereda El Callejón, los siguientes análisis se realizaron exclusivamente con los valores obtenidos para esta especie.

6.2.1.1 Tratamiento 1 (T1): trampas CDC cebadas con (S) 9 methylgermacrene-B (9MGB) al 5%:

Las trampas cebadas con la feromona sintética 9MGB al 5% capturaron 9 especies del género *Lutzomyia*, siendo *L. longipalpis* la especie más abundante con 58,691 (99,48%) del total de ejemplares capturados seguida de *L. trinidadensis*, *L. cayennensis*, *L. carpenteri*, *L. atroclavata*, *L. gomezi*, *L. dubitans*, *L. olmeca bicolor* y *L. ovallesi* (Tabla 5).

Tabla 5. Total de ejemplares por especie del género *Lutzomyia* capturados con 4 pares de trampas CDC cebadas con 9MGB al 5% y sus respectivos controles durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca.

Especie	Cs 1				Cs 2				Cs1 y Cs2		Cs1 y Cs2	
	CDC+9MGB		CDC		CDC+9MGB		CDC		CDC+9MGB		CDC	
	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%
<i>L. longipalpis</i>	34.417	99,74	3.918	98,17	24.274	99,13	2.951	95,16	58.691	99,48	6.869	96,86
<i>L. trinidadensis</i>	28	0,08	14	0,35	141	0,58	89	2,87	169	0,29	103	1,45
<i>L. cayennensis</i>	28	0,08	16	0,40	15	0,06	10	0,32	43	0,07	26	0,37
<i>L. carpenteri</i>	15	0,04	20	0,50	21	0,09	21	0,68	36	0,06	41	0,58
<i>L. atroclavata</i>	1	0,00	2	0,05	17	0,07	9	0,29	18	0,03	11	0,16
<i>L. gomezi</i>	9	0,03	6	0,15	8	0,03	7	0,23	17	0,03	13	0,18
<i>L. dubitans</i>	2	0,01	0	0,00	9	0,04	12	0,39	11	0,02	12	0,17
<i>L. olmeca bicolor</i>	7	0,02	15	0,38	1	0,00	0	0,00	8	0,01	15	0,21
<i>L. ovallesi</i>	0	0,00	0	0,00	2	0,01	2	0,06	2	0,00	2	0,03
Total	34.507	100,00	3.991	100,00	24.488	100,00	3.101	100,00	58.995	100,00	7.092	100,00

Del total de 41.156 ejemplares machos y hembras de *L. longipalpis* capturados en **Cs1** con los 4 semioquímicos evaluados y sus respectivos controles, las trampas CDC cebadas con 9MGB y sus controles capturaron 38.335 especímenes (93,1%). De estos, 34.417 (89%) correspondieron a las trampas cebadas y 3.918 (10,2%) a las trampas sin cebar (Tabla 6a). Así mismo, de 28.100 ejemplares de *L. longipalpis* capturados en **Cs2** con los 4 semioquímicos evaluados y sus controles, las trampas CDC cebadas con la feromona y sus controles, capturaron 27.225 (96,8%). De estas 24.274 (89,1%) correspondieron a las trampas cebadas y 2.951 (10,8%) a las trampas sin cebar (Tabla 6b).

Tabla 6. Total de ejemplares de *L. longipalpis* recolectados en las 16 trampas CDC cebadas con la feromona sintética 9MGB al 5% y trampas CDC control durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca.

(a) Número de <i>L. longipalpis</i> capturadas con CDC cebadas y sus controles en la Cs1.						(b) Número de <i>L. longipalpis</i> capturadas con CDC cebadas y sus controles en la Cs2.					
Nº Noches	Tratamiento CDC+ 9MGB		Control CDC		Total	Nº Noches	Tratamiento CDC+ 9MGB		Control CDC		Total
	♀	♂	♀	♂			♀	♂			
1	990	794	236	217	2.237	1	556	580	1	11	1.148
2	3.354	3.668	141	113	7.276	2	903	970	66	78	2.017
3	1.103	919	605	214	2.841	3	644	421	19	19	1.103
4	117	24	22	1	164	4	63	39	42	22	166
5	810	1.245	154	182	2.391	5	779	666	365	277	2.087
6	1.366	991	186	104	2.647	6	850	626	20	19	1.515
7	205	61	18	9	293	7	751	636	127	82	1.596
8	92	364	40	6	1.333	8	2.291	1.641	10	179	4.121
9	1.183	531	31	24	1.769	9	711	642	14	21	1.388
10	2.101	1.446	156	100	3.803	10	1.396	991	192	153	2.732
11	1.399	525	235	8	2.167	11	802	322	31	13	1.168
12	1.077	286	32	7	1.402	12	1.268	688	41	30	2.027
13	1.417	1.115	224	120	2.876	13	484	366	327	220	1.397
14	1.968	1.270	237	178	3.653	14	1.326	730	298	193	2.547
15	1.931	801	195	84	3.011	15	667	595	32	19	1.313
16	311	122	30	9	472	16	657	213	22	8	900
Total	20.255	14.162	2.542	1.376	38.335	Total	14.148	10.126	1.607	1.344	27.225

En la Cs1 se observó que no hay diferencias estadísticamente significativas al comparar las hembras con los machos capturados con la trampa CDC cebada con 9MGB ($p=0,2097$) y que lo mismo sucede con las trampas control ($p=0,0950$). Sin embargo, al comparar estadísticamente el número de hembras capturas con las trampas cebadas vs las trampas controles, se encontró que hay diferencias significativas ($p=0,00006$) y que lo mismo sucede al comparar los machos de ambas trampas ($p=0,0022$) (Tabla 6a).

Al realizar el mismo tipo de análisis en la Cs2 también se encontró que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las hembras y los machos capturados con las trampas CDC cebadas con 9MGB ($p=0,1162$), ni en las trampas

control ($p=0,6715$). Pero, al comparar estadísticamente el número de hembras capturadas con las trampas cebadas vs las trampas controles se encontró diferencias significativas ($p=0,00001$) y lo mismo sucedió al comparar los machos de las trampas cebadas y sus controles ($p= 0,00002$) (Tabla 6b).

Debido a que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el número de machos y de hembras capturadas con las trampas cebadas con 9MGB o en las trampas controles se procedió a sumar ambos sexos para obtener el promedio de insectos capturados durante los 16 días de muestreo para cada tratamiento y en cada casa. En este caso, mucho más ejemplares de *L. longipalpis* fueron atraídos en promedio por las trampas cebadas con 9MGB que por las trampas sin cebar tanto en la Cs1 ($p=0,0003$) como en la Cs2 ($p=0,00001$) (Figura 9).

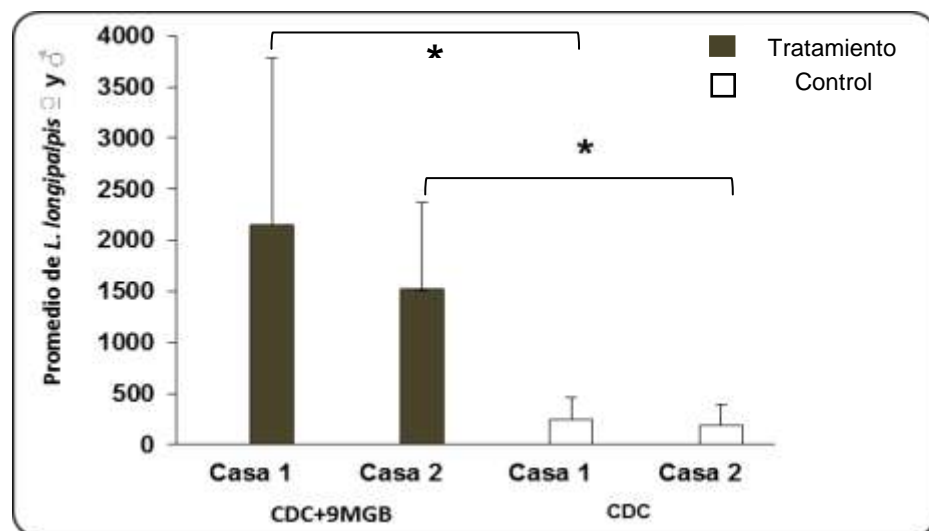


Figura 9. Promedio total de machos y hembras de *L. longipalpis* sumados y capturados con 16 trampas cebadas con la feromona sintética 9MGB al 5% y con trampas sin cebar durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca. * $p<0,05$.

6.2.1.2 Tratamiento 2 (T2): trampas CDC cebadas con 700 g/noche de hielo seco (CO₂):

Las trampas cebadas con hielo seco (CO₂) capturaron 10 especies del género *Lutzomyia*, donde la especie más abundante fue *L. longipalpis* con 1.358 (78,27%) del total de ejemplares capturados, seguidas de *L. trinidadensis*, *L. carpenteri*, *L. gomezi*, *L. cayennensis*, *L. dubitans*, *L. olmeca bicolor*, *L. atroclavata*, *L. ovallesi* y *L. punctigeniculata* (Tabla 7).

Tabla 7. Total de ejemplares por especie del género *Lutzomyia* capturados en 4 pares de trampas CDC cebadas con CO₂ y sus controles durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca.

Especie	Cs 1				Cs2				Cs1 y Cs2		Cs1 y Cs2	
	CDC+CO ₂		CDC		CDC+CO ₂		CDC		CDC+CO ₂		CDC	
	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%
<i>L. longipalpis</i>	1.113	92,67	423	85,28	245	45,88	73	34,93	1.358	78,27	496	70,35
<i>L. trinidadensis</i>	26	2,16	18	3,63	187	35,02	85	40,67	213	12,28	103	14,61
<i>L. carpenteri</i>	18	1,50	25	5,04	31	5,81	11	5,26	49	2,82	36	5,11
<i>L. gomezi</i>	15	1,25	9	1,81	19	3,56	8	3,83	34	1,96	17	2,41
<i>L. cayennensis</i>	11	0,92	10	2,02	18	3,37	4	1,91	29	1,67	14	1,99
<i>L. dubitans</i>	0	0,00	3	0,60	17	3,18	16	7,66	17	0,98	19	2,70
<i>L. olmeca bicolor</i>	15	1,25	7	1,41	1	0,19	0	0,00	16	0,92	7	0,99
<i>L. atroclavata</i>	0	0,00	1	0,20	9	1,69	9	4,31	9	0,52	10	1,42
<i>L. ovallesi</i>	3	0,25	0	0,00	5	0,94	3	1,44	8	0,46	3	0,43
<i>L. punctigeniculata</i>	0	0,00	0	0,00	2	0,37	0	0,00	2	0,12	0	0,00
Total	1.201	100,00	496	100,00	534	100,00	209	100,00	1.735	100,00	705	100,00

De 41.156 total de *L. longipalpis* capturados en **Cs1** con los 4 semioquímicos evaluados y sus respectivos controles, las trampas CDC con CO₂ y sus controles capturaron 1.536 ejemplares (3,7%). De estos 1.113 (72,4%) correspondieron a las trampas CDC con CO₂ y 423 (27,5%) a las trampas CDC control (Tabla 8a). Para el caso de **Cs2** las trampas CDC con CO₂ y sus controles capturaron 318 especímenes (1,13%). De estos 245 (77,4%) correspondieron a las trampas CDC con CO₂ y 73 (22,9%) a las trampas control (Tabla 8b).

Tabla 8. Número total de ejemplares de *L. longipalpis* capturados con 16 trampas CDC cebadas con 700 g/noche de hielo seco (CO₂) y trampas CDC control durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca.

(a) Número de <i>L. longipalpis</i> capturadas con CDC cebadas y sus controles en la Cs1.						(b) Número de <i>L. longipalpis</i> capturadas con CDC cebadas y sus controles en la Cs2.					
Nº Noches	Tratamiento CDC+CO2		Control CDC		Total	Nº Noches	Tratamiento CDC+CO2		Control CDC		Total
	♀	♂	♀	♂			♀	♂	♀	♂	
1	3	2	1	1	7	1	20	28	0	16	64
2	18	8	3	1	30	2	6	3	0	1	10
3	456	259	61	51	827	3	1	1	1	0	3
4	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	1
5	0	0	0	0	0	5	16	14	2	0	32
6	53	34	98	53	238	6	22	13	1	1	37
7	4	0	1	1	6	7	0	1	0	0	1
8	11	11	6	9	37	8	1	2	0	0	3
9	1	0	1	0	2	9	4	9	8	3	24
10	8	1	2	2	13	10	25	15	0	1	41
11	119	40	30	17	206	11	9	16	5	8	38
12	13	0	1	0	14	12	8	1	1	0	10
13	4	2	1	0	7	13	1	13	12	6	32
14		0	1	0	7	14	2	0	2	0	4
15	44	12	43	39	138	15	4	4	3	2	13
16	3	1	0	0	4	16	5	0	0	0	5
Total	743	370	249	174	1536	Total	125	120	35	38	318

En la Cs1 se observó que no hay diferencias estadísticamente significativas al comparar las hembras con los machos capturados con las trampas CDC cebada con CO₂ ($p=0,4812$) y que lo mismo sucede con las trampas control sin cebar ($p=0,5894$). De igual manera, al comparar estadísticamente el número de hembras capturas con las trampas cebadas vs las trampas controles se encontró que no hay diferencias significativas ($p=0,3060$) y que tampoco hay diferencias al comparar los machos de ambas trampas ($p=0,4732$) (Tabla 8a).

Al realizar el mismo tipo de análisis con la Cs2 se encontró también que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las hembras y los machos capturados con las trampas CDC cebadas con CO₂ ($p=0,9154$), ni en las trampas

controles ($p=0,8930$). Al comparar en esta casa estadísticamente el número de hembras capturas con las trampas cebadas vs las trampas controles si se encontró diferencias significativas ($p=0,0210$) y lo mismo sucedió al comparar los machos de ambas trampas ($p=0,0376$) (Tabla 8b).

Como no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre el número de machos y de hembras capturadas con las trampas cebadas con CO_2 y en las trampas controles, se procedió a sumar ambos sexos para obtener el promedio de insectos capturados durante los 16 días de muestreo para cada tratamiento y en cada casa. En este caso, no hubo diferencias estadísticamente significativas en el promedio de ejemplares de *L. longipalpis* capturados con las trampas cebadas con CO_2 vs las trampas control en la Cs1 ($p=0,36$), pero si hubo diferencias significativas en la Cs2 ($p=0,0173$) (Figura 10).

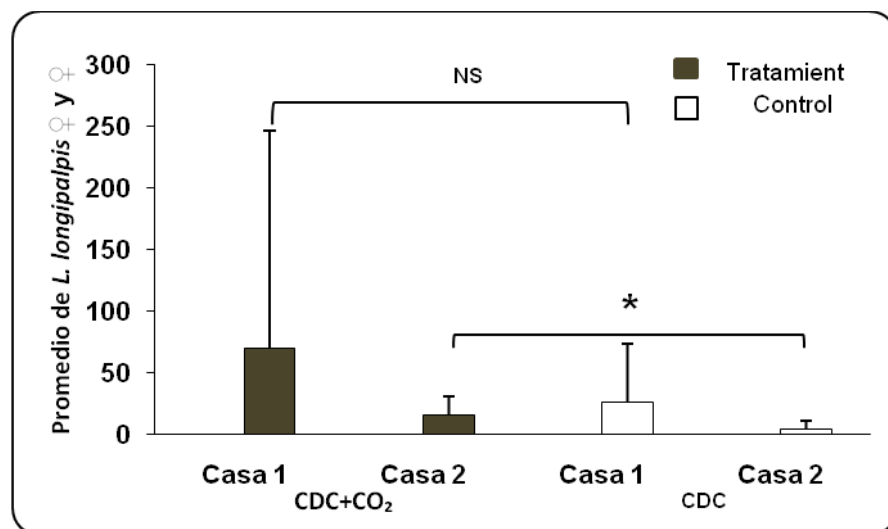


Figura 10. Promedio total de machos y hembras de *L. longipalpis* sumados y capturados en las 16 trampas cebadas con hielo seco (CO_2) y con trampas control durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca. * $p<0,05$ y NS $p>0,05$.

6.2.1.3 Tratamiento 3 (T3): trampas CDC cebadas con 1-octen-3-ol al 0,01%:

Las trampas cebadas con 1-octen-3-ol capturaron 10 especies del género *Lutzomyia*, donde *L. longipalpis* fue la especie más abundante con 667 (68,62%) del total de ejemplares capturados seguida de *L. trinidadensis*, *L. carpenteri*, *L. dubitans*, *L. cayennensis*, *L. gomezi*, *L. atroclavata*, *L. olmeca bicolor*, *L. ovallesi* y *L. punctigeniculata* (Tabla 9).

Tabla 9. Total de ejemplares por especie del género *Lutzomyia* capturados con 4 pares de trampas CDC cebadas con 1-octen-3-ol al 0,01% y sus controles durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca.

Especie	Cs 1				Cs 2				Cs1 y Cs2		Cs1 y Cs2	
	CDC+octenol		CDC		CDC+octenol		CDC		CDC+octenol		CDC	
	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%
<i>L. longipalpis</i>	522	86,86	587	88,40	145	39,08	104	48,15	667	68,62	691	78,52
<i>L. trinidadensis</i>	26	4,33	41	6,17	131	35,31	74	34,26	157	16,15	115	13,07
<i>L. carpenteri</i>	26	4,33	14	2,11	25	6,74	15	6,94	51	5,25	29	3,30
<i>L. dubitans</i>	2	0,33	5	0,75	35	9,43	9	4,17	37	3,81	14	1,59
<i>L. cayennensis</i>	15	2,50	7	1,05	12	3,23	3	1,39	27	2,78	10	1,14
<i>L. gomezi</i>	2	0,33	3	0,45	11	2,96	6	2,78	13	1,34	9	1,02
<i>L. atroclavata</i>	0	0,00	0	0,00	7	1,89	4	1,85	7	0,72	4	0,45
<i>L. olmeca bicolor</i>	6	1,00	6	0,90	0	0,00	0	0,00	6	0,62	6	0,68
<i>L. ovallesi</i>	2	0,33	1	0,15	4	1,08	1	0,46	6	0,62	2	0,23
<i>L. punctigeniculata</i>	0	0,00	0	0,00	1	0,27	0	0,00	1	0,10	0	0,00
Total	601	100,00	664	100,00	371	100,00	216	100,00	972	100,00	880	100,00

Del total de 41.156 ejemplares de *L. longipalpis* capturadas en **Cs1** con los 4 semioquímicos evaluados y sus controles, las trampas CDC cebadas con 1-octen-3-ol al 0,01% capturaron 1.109 especímenes (2,6%). De estos 522 (47,0%) correspondieron a las trampas CDC con 1-octen-3-ol y 587 (52,9%) a las trampas control (Tabla 10a). De igual forma, de 28.100 *L. longipalpis* capturadas, con los 4 semioquímicos evaluados y sus controles, en **Cs2** las trampas CDC cebadas con 1-octen-3-ol al 0,01% y sus controles capturaron 249 ejemplares (0,88%). De estos 145 (58,2%) correspondieron a las trampas CDC con 1-octen-3-ol y 104 (41,7%) a las trampas CDC control (Tabla 10b).

Tabla 10. Número total de ejemplares de *L. longipalpis* capturados en las 16 trampas CDC cebadas con 1-octen-3-ol al 0,01% y trampas CDC control durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca.

(a) Número de *L. longipalpis* capturadas con CDC cebadas y sus controles en la Cs1.

Nº Noches	Tratamiento CDC+octenol		Control CDC		Total
	♀	♂	♀	♂	
1	16	26	0	4	46
2	5	5	0	4	14
3	2	0	0	0	2
4	0	1	1	0	2
5	6	15	1	4	26
6	1	0	0	0	1
7	45	21	71	21	158
8	119	101	127	102	449
9	5	5	39	29	78
10	2	1	2	4	9
11	0	0	1	0	1
12	96	31	113	26	266
13	4	7	12	14	37
14	3	4	4	3	14
15	0	0	0	0	0
16	1	0	4	1	6
Total	305	217	375	212	1109

(b) Número de *L. longipalpis* capturadas con CDC cebadas y sus controles en la Cs2.

Nº Noches	Tratamiento CDC+octenol		Control CDC		Total
	♀	♂	♀	♂	
1	6	18	1	3	28
2	1	1	0	0	2
3	0	0	4	0	4
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	11	5	9	11	36
7	1	0	0	5	6
8	1	28	3	6	56
9	9	7	6	12	34
10	0	0	0	0	0
11	1	0	1	1	3
12	11	9	1	11	32
13	2	10	1	23	36
14	0	0	0	0	0
15	2	3	3	1	9
16	0	1	1	1	3
Total	63	82	30	74	249

Para la Cs1 se observó que no hay diferencias estadísticamente significativas al comparar las hembras con los machos capturados con las trampas CDC cebadas con 1-octen-3-ol al 0,01% ($p=0,6247$) y que igual sucedió con las trampas control sin cebar ($p=0,4177$). Ahora, al comparar estadísticamente el número de hembras capturas con las trampas cebadas vs las trampas controles se encontró que no hay diferencias significativas ($p=0,7563$) ni al comparar los machos de ambas trampas ($p=0,9725$) (Tabla 10a).

El mismo tipo de análisis con la Cs2 tampoco mostró diferencias estadísticamente significativas entre las hembras y los machos capturados con las trampas CDC cebadas con 1-octen-3-ol 0,01% ($p=0,6313$), ni en las trampas controles ($p=0,1347$). La comparación estadística en esta casa entre el número de hembras capturas con las

trampas cebadas vs las trampas controles no mostró diferencias significativas ($p=0,1999$) y lo mismo sucedió al comparar los machos de ambas trampas ($p=0,8478$) (Tabla 10b). La ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre el número de machos y de hembras capturadas con las trampas cebadas con 1-octen-3-ol al 0,01% y en las trampas controles permitió sumar ambos sexos para obtener el promedio de insectos capturados durante los 16 días de muestreo para cada tratamiento en cada casa. En este caso, no hubo diferencias estadísticamente significativas en el promedio de ejemplares de *L. longipalpis* capturados con las trampas cebadas con 1-octen-3-ol al 0,01% vs las trampas sin cebar en ninguna de las dos casas, Cs1 ($p=0,856$) y Cs2 ($p=0,5078$) (Figura 11).

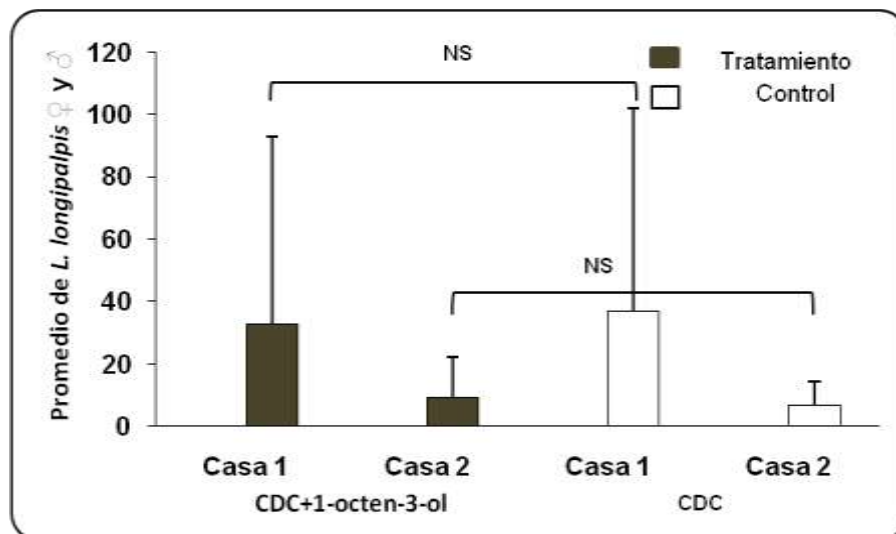


Figura 11. Promedio total de machos y hembras de *L. longipalpis* sumados y capturados en las 16 trampas cebadas con 1-octen-3-ol al 0,01% y con trampas control durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca. NS $p>0,05$.

6.2.1.4 Tratamiento 4: trampas CDC cebadas con la mezcla de: ácido láctico 0,1%, ácido butírico al 1,0% y amonio al 10% (1:1:1):

Las trampas cebadas con la mezcla de semioquímicos capturaron 10 especies del género *Lutzomyia* y al igual que en los casos anteriores la especie más abundante fue *L. longipalpis* con 224 (40,80%) del total de ejemplares capturados. Las otras especies en su orden de abundancia fueron: *L. trinidadensis*, *L. carpenteri*, *L. cayennensis*, *L. dubitans*, *L. atroclavata*, *L. gomezi*, *L. olmeca bicolor*, *L. ovallesi* y *L. punctigeniulata* (Tabla 11).

Tabla 11. Total de ejemplares por especie del género *Lutzomyia* capturados en los 4 pares de trampas CDC cebadas con la mezcla de semioquímicos y sus controles durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca.

Especie	Cs 1				Cs 2				Cs1 y Cs2		Cs1 y Cs2	
	CDC+mezcla		CDC		CDC+mezcla		CDC		CDC+mezcla		CDC	
	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%	(♀+♂)	%
<i>L. longipalpis</i>	77	44,25	99	52,38	147	39,20	161	51,60	224	40,80	260	51,90
<i>L. trinidadensis</i>	38	21,84	46	24,34	154	41,07	101	32,37	192	34,97	147	29,34
<i>L. carpenteri</i>	22	12,64	12	6,35	27	7,20	19	6,09	49	8,93	31	6,19
<i>L. cayennensis</i>	18	10,34	19	10,05	8	2,13	7	2,24	26	4,74	26	5,19
<i>L. dubitans</i>	2	1,15	2	1,06	21	5,60	8	2,56	23	4,19	10	2,00
<i>L. atroclavata</i>	1	0,57	0	0,00	11	2,93	9	2,88	12	2,19	9	1,80
<i>L. gomezi</i>	5	2,87	4	2,12	7	1,87	5	1,60	12	2,19	9	1,80
<i>L. olmeca bicolor</i>	9	5,17	6	3,17	0	0,00	1	0,32	9	1,64	7	1,40
<i>L. ovallesi</i>	1	0,57	1	0,53	0	0,00	1	0,32	1	0,18	2	0,40
<i>L.punctigeniculata</i>	1	0,57	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	0,18	0	0,00
Total	174	100,00	189	100,00	375	100,00	312	100,00	549	100,00	501	100,00

Del total de 41.156 ejemplares de *L. longipalpis* capturados en **Cs1** con todos los semioquímicos evaluados y sus controles, las trampas CDC cebadas con la mezcla y las trampas CDC sin control capturaron 176 (0,42%) ejemplares de *L. longipalpis*. De estos, 77 (43,0%) correspondieron a las trampas CDC con la mezcla y 99 (56,2%) a las trampas CDC control (Tabla 11a). Para la **Cs2**, de 28.100 especímenes de *L. longipalpis* capturadas, con todos los semioquímicos evaluados y sus controles, las trampas CDC cebadas con la mezcla y las trampas CDC control, capturaron 308 ejemplares (1,0%). De estos 147 (47,7%) correspondieron a las trampas CDC cebadas con la mezcla y 161 (52,2%) a las trampas CDC control (Tabla 11b).

Tabla 12. Número total de ejemplares de *L. longipalpis* capturados en las 16 trampas CDC cebadas con la mezcla de semioquímicos y trampas CDC control durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca.

(a) Número de *L. longipalpis* capturadas con CDC cebadas y sus controles en la Cs1.

(b) Número de *L. longipalpis* capturadas con CDC cebadas y sus controles en la Cs2.

Nº Noches	Tratamiento CDC+mezcla		Control CDC		Total	Nº Noches	Tratamiento CDC+mezcla		Control CDC		Total
	♀	♂	♀	♂			♀	♂	♀	♂	
1	2	8	0	1	11	1	0	0	0	1	1
2	7	0	1	0	8	2	0	0	0	1	1
3	1	0	1	0	2	3		1	0	0	1
4	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	5	42	17	20	12	91
6	5	7	9	9	30	6	10	9	0	4	23
7	1	1		2	8	7	0	0	0	3	3
8	2	13	6	9	40	8	1	5	1	6	13
9	0	2	0	3	5	9	0	0	0	0	0
10	0	0	1	0	1	10	12	2	2	2	18
11	2	1	1	4	8	11	2	3	2	1	8
12	1	5	2	4	12	12	8	5	4	9	26
13	0	0	0	3	3	13	0	0	1	0	1
14	0	0	1	0	1	14	1	4	49	7	61
15	3	6	30	8	47	15	13	11	25	11	60
16	0	0	0	0	0	16	0	0	1	0	1
Total	34	43	56	43	176	Total	90	57	105	56	308

En la Cs1 se observó que no hay diferencias estadísticamente significativas al comparar las hembras con los machos capturados con las trampas CDC cebadas con la mezcla de semioquímicos ($p=0,6659$) y que igual sucedió con las trampas control ($p=0,6963$). De igual manera, al comparar estadísticamente el número de hembras capturadas con las trampas cebadas vs las trampas controles no se encontró diferencias significativas ($p=0,5104$) ni al comparar los machos capturados con las trampas cebadas vs las trampas controles ($p=1$) (Tabla 12a).

Los mismos análisis para la Cs2 tampoco mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las hembras y los machos capturados con las trampas CDC cebadas con la mezcla de semioquímicos ($p=0,4943$), ni en las trampas controles ($p=0,4002$). La comparación estadística para esta Cs2 entre el número de hembras capturas con las

trampas cebadas vs las trampas controles no mostró diferencias significativas ($p=0,8302$) y lo mismo sucedió al comparar los machos capturados con las trampas cebadas vs las trampas controles ($p=0,9696$) (Tabla 12b).

Debido a que no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre el número de machos y de hembras capturadas con las trampas cebadas con la mezcla de semioquímicos y en las trampas controles se sumó ambos sexos para obtener el promedio de insectos capturados durante los 16 días de muestreo para cada tratamiento en cada casa. En este caso, no hubo diferencias estadísticamente significativas en el promedio de ejemplares de *L. longipalpis* capturados con las trampas cebadas con la mezcla de semioquímicos vs las trampas sin cebar en las dos casas, Cs1 ($p=0,652$) y Cs2 ($p=0,8777$) (Figura 12).

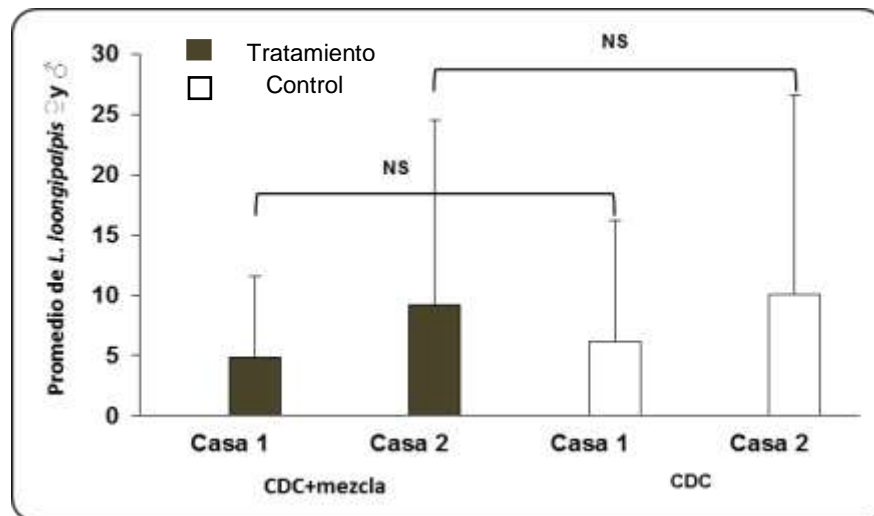
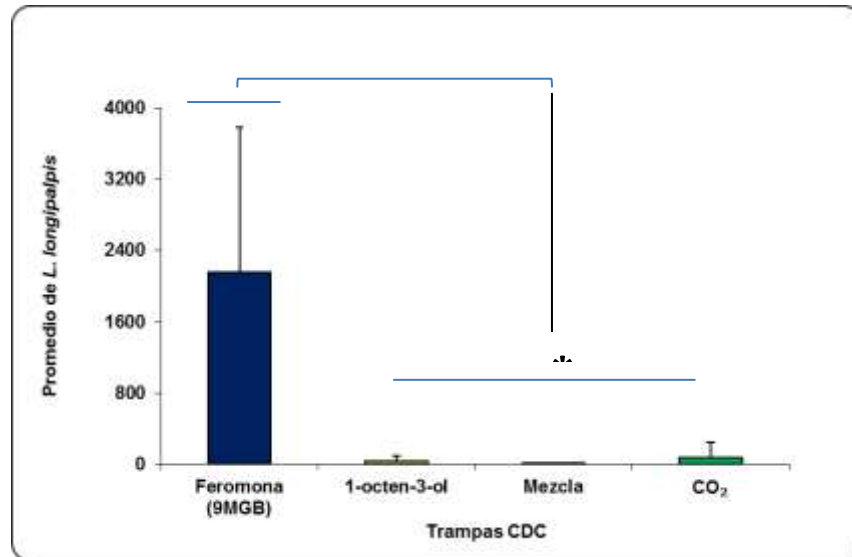


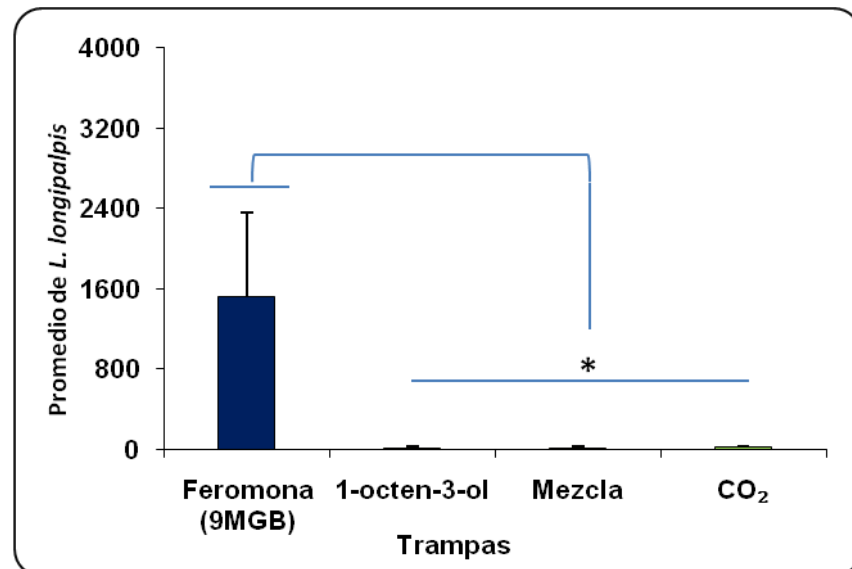
Figura 12. Promedio total de machos y hembras de *L. longipalpis* sumados y capturados en las 16 trampas cebadas con la mezcla de semioquímicos y con trampas control durante 16 noches de muestreo en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca. NS $p>0,05$.

La comparación estadística de todos los tratamientos por medio de análisis de varianza (ANOVA) para cada una de las casas evaluadas muestra como las trampas CDC cebadas con la feromona sintética 9MGB mostraron tener un poder de atracción mayor para

machos y hembras con relación a las trampas CDC cebadas con dióxido de carbono, 1-octen-3-ol al 0,01% y la mezcla de semioquímicos (Figura 13).



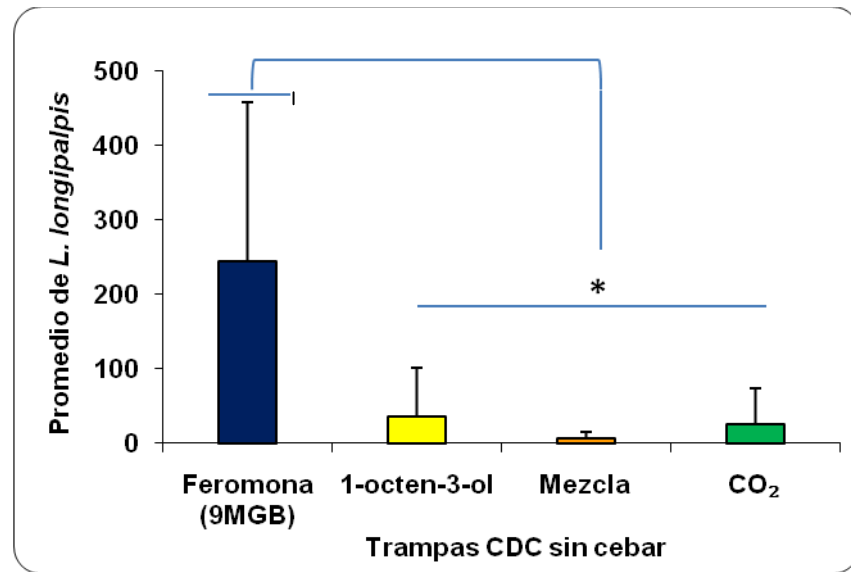
Casa 1



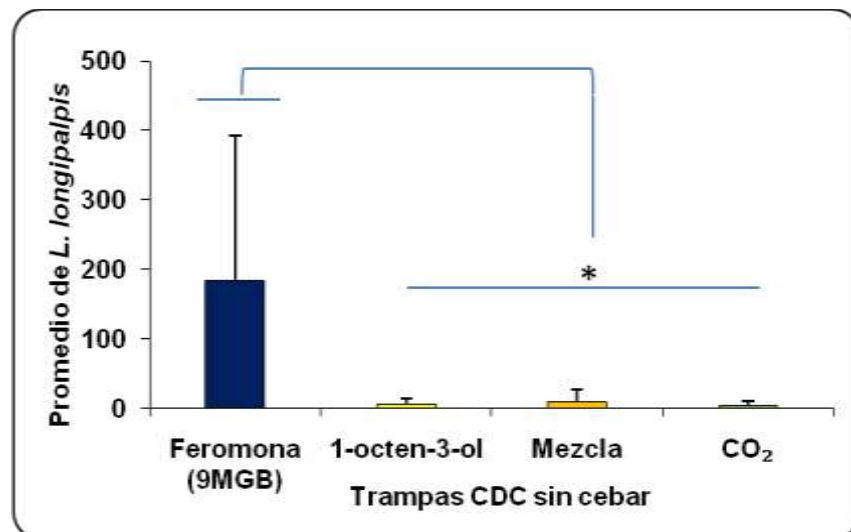
Casa 2

Figura 13. Promedio total de machos y hembras sumados de *L. longipalpis* capturados en las trampas CDC cebadas con cada uno de los semioquímicos evaluados durante 16 noches de muestreo en la vereda El callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca. * $p < 0,05$.

El análisis de varianza (ANOVA) realizado para evaluar los resultados obtenidos con las trampas CDC control en ambas casas mostró como las trampas control parejas de las trampas CDC cebadas con la feromona sintética 9MGB tienen un poder de atracción mayor para machos y hembras con relación a las trampas CDC control parejas de las trampas cebadas con dióxido de carbono, 1-octen-3-ol al 0,01% y mezcla de semioquímicos (Figura 14).



Casa 1

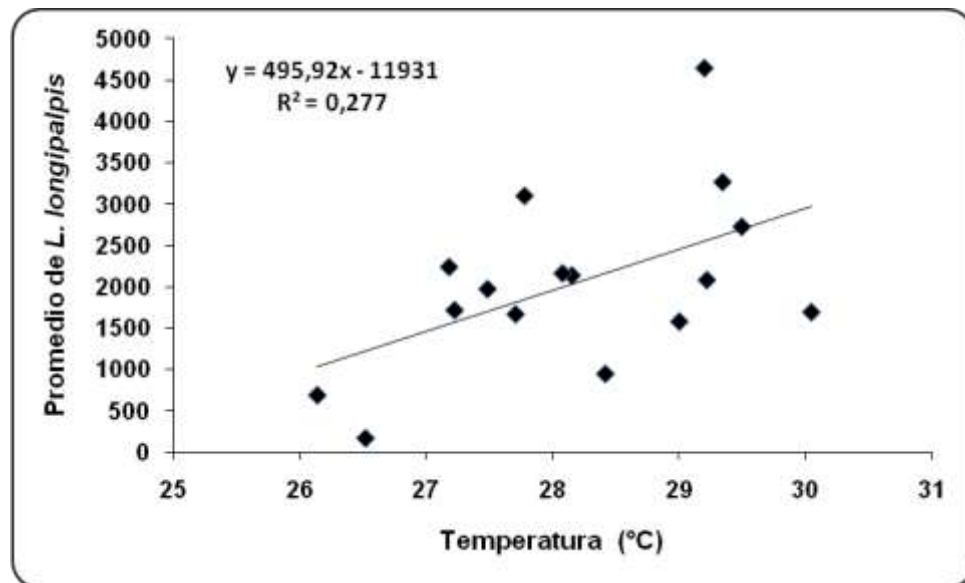


Casa 2

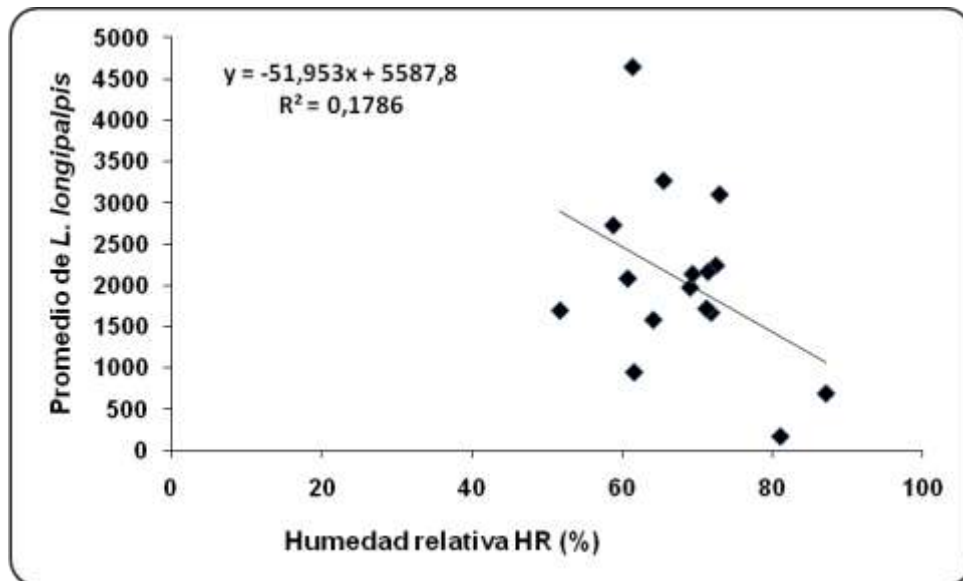
Figura 14. Promedio total de machos y hembras sumados de *L. longipalpis* capturados en las trampas CDC controles parejas de las trampas cebadas con cada uno de los semioquímicos evaluados durante 16 noches de muestreo en la vereda El callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca. * $p < 0,05$.

6.2.2 Efecto de las variables ambientales sobre la captura de *Lutzomyia*

Durante el periodo de capturas se registró una temperatura promedio de 28°C con máximas y mínimas de (46,5°C-25,8°) y (25,6°C-20,7°) y una humedad relativa promedio de 68% con máximas y mínimas de (97%-69,7%) y (82,8%-23,9%). El análisis estadístico realizado para determinar algún tipo de relación entre las variables ambientales y la captura de la especie más abundante en la zona con las trampas cebadas con la feromona sintética 9MGB en las dos casas evaluadas no mostró una correlación ni con la temperatura ($R^2=0,277$) ni con la humedad relativa ($R^2=0,1786$) (Figura 15a y b).



(a) Correlación entre el promedio de *L. longipalpis* capturadas y la temperatura



(b) Correlación entre el promedio de *L. longipalpis* capturadas y la humedad relativa

Figura 15. Promedio del total de *L. longipalpis* capturados en las dos casas muestreadas con 32 trampas CDC cebadas con la feromona sintética 9MGB, durante 16 noches de muestreo con relación a la temperatura y la humedad relativa registradas durante la noche en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte, Cundinamarca.

7. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

Según Ferro *et al.* (1995), las especies más abundantes colectadas con todos los métodos de captura (feromona 9MGB, CO₂, 1-octen-3-ol y mezcla) fueron en su orden de abundancia *L. longipalpis*, seguida por *L. trinidadensis* y *L. cayennensis* (Ver Tablas 5, 7, 9 y 11). Estos resultados confirman que la fauna de flebotominos en la vereda de El Callejón se ha mantenido constante en densidades y diversidad de especies (10 de las 12 especies registradas para la zona fueron capturadas en este trabajo) a pesar de los años transcurridos y de las transformaciones ecológicas que ha sufrido la región.

7.1 Evaluación en laboratorio de las feromonas sintéticas (S)-9-methylgermacrene-B (9MGB) y (1S,3S,7R)-3-methyl- α -himachalene (3M α H):

L. longipalpis es un complejo de especies conformado por cuatro especies monofiléticas (Arrivillaga *et al.*, 2003). Algunas de estas especies han sido reconocidas mediante cromatografía de gases y espectrofotometría de masas (CG-EM) de las glándulas de la feromona sexual de los machos. Estos análisis químicos han revelado la presencia de tres diferentes tipos de feromonas para el complejo *L. longipalpis*, dependiendo de la localización geográfica de la población: los hosmosesquiterpenos 9MGB y 3M α H (Hamilton *et al.*, 1996a, b; 2002) y los diterpenos cembrene-1 y cembrene-2 (Watts *et al.*, 2005).

La feromona 9MGB ha sido identificada en las glándulas tergaes de las poblaciones de *L. longipalpis* pertenecientes a las localidades de Lapinha y Sobral en Brasil, en las poblaciones de El Layero y Guayabita en Venezuela (Watts *et al.*, 2005), en las poblaciones de Vila Elisa Asunción, Paraguay (Brazil *et al.* 2009) y en diferentes áreas de Honduras y Costa Rica (Hamilton *et al.* 1996c). Por su parte, la feromona sintética 3M α H ha sido identificada en la población de *L. longipalpis* de Jacobina, Brasil (Hamilton *et al.*, 1999a). El diterpeno cembrene-1 ha sido identificado en las poblaciones de *L. longipalpis* de Sobral, Santarem, Marajó y Natal, Brasil (Brazil *et al.* 2009; Watts *et al.* 2005), mientras que cembrene-2 se ha reportado en Jaiba, Brasil (Countinho-Abreu *et al.*, 2009).

Según Brazil *et al.* (2009) y Watts *et al.* (2005) la feromona 9MGB se encuentra presente en poblaciones de *L. longipalpis* de Colombia, sin embargo, hasta el momento se desconoce la ubicación exacta de estas poblaciones.

Los bioensayos de laboratorio realizados en este estudio con hembras F1 procedentes de una población de *L. longipalpis* de la vereda El Callejón, Ricaurte-Cundinamarca y sometidas a diferentes concentraciones de las feromonas sintética 9MGB y 3M α H demostraron el poder de atracción de estos compuestos sintéticos a las concentraciones de 3,75% ($p=0,0005$), 5% ($p=3,2076E-10$) y 2,5% ($p=0,00315$) y 3,75% ($p=0,00310$) respectivamente (ver Tabla 1). Donde la feromona sintética 9MGB al 5% fue la más estadísticamente significativa. Sin embargo, la fuerte atracción que ejerció la feromona sintética 3M α H al 2,5% sugiere que las hembras de la población de El Callejón son sensibles a esta feromona en diluciones inferiores a las de la feromona 9MGB (ver Tabla 1).

Estos resultados en conjunto sugieren que las hembras de *Lutzomyia longipalpis* en El Callejón son capaces de detectar las dos feromonas sintéticas. Hasta el momento este comportamiento no ha sido reportado para *L. longipalpis* en ningún otro país donde se conozca su presencia.

Elementos que se deben tener en cuenta para lograr una aproximación al entendimiento de este comportamiento son los siguientes: a) Las feromonas 9MGB y 3M α H corresponden al grupo de los homosesquiterpenos con fórmula molecular igual pero diferente fórmula estructural (Mori, 2001). b) Las especies de *L. longipalpis* de Brasil presentan cantos de cópula que presentan diferentes patrones temporales dependiendo de la distribución geográfica y del tipo de feromona sexual donde los tipos de canto tipo 1 se encuentra asociados a la feromona 3M α H y los tipos de canto tipo 2 a la feromona 9MGB (Souza *et al.*, 2002). c) Se considera que la feromona 9MGB es el quimiotipo ancestral de las feromonas de *L. longipalpis* que se encontraban en las sabanas de Suramérica y que luego por especiación se llegó a la feromona 3M α H y los diterpenos cembrene-1 y 2 (Watts *et al.*, 2005; Coutinho-Abreu *et al.*, 2009). d) La presencia en *Lutzomyia cruzi* de Brasil de 9MGB como feromona sexual de esta especie (Brazil y

Hamilton, 2002) y la presencia en *Lutzomyia lichi* de Colombia de una feromona sexual muy cercana a la 3M α H (Hamilton *et al.*, 1999b).

Estos elementos pueden llevar a pensar que posiblemente como producto de cambios evolutivos las hembras y machos de *L. longipalpis* en El Callejón pueden estar detectando tanto la feromona ancestral 9MGB como la derivada 3M α H por sus similitudes estructurales y que posiblemente esta población se encuentra en un proceso de aislamiento donde la feromona derivada 3M α H puede estar comenzando a diferenciar a la población y los cantos de cópula como mecanismos de aislamiento puedan estar jugando un papel central (Countinho-Abreu *et al.*, 2009). Como se puede observar, este resultado obtenido en el laboratorio y la posible interpretación presentada, abre nuevas puertas de investigación en la población de *L. longipalpis* de El Callejón.

7.2 Evaluación en laboratorio de las caïromonas dióxido de carbono, 1-octen-3-ol, ácido láctico, ácido butírico y amonio individualmente y en mezcla:

Los resultados obtenidos de la evaluación de las caïromonas seleccionadas no fueron estadísticamente significativos. A pesar de esto, se observó un porcentaje de respuesta mayor por parte de las hembras de *L. longipalpis* hacia algunas concentraciones para cada uno de los compuestos evaluados (ver Tabla 2).

Estos resultados muestran la necesidad de realizar a futuro evaluaciones con variaciones más sutiles en las concentraciones de las caïromonas evaluadas, partiendo de las concentraciones establecidos en este trabajo, con el ánimo de encontrar valores intermedios, donde posiblemente cada sustancia ejerza un mayor poder de atracción sobre esta población de *L. longipalpis*. Dado que es poco probable que las sustancias evaluadas en este trabajo no sean atractivas para *Lutzomyia longipalpis*, teniendo en cuenta los antecedentes conocidos de estas sustancias como atrayentes de insectos del género *Lutzomyia* y otros insectos (Andrade *et al.*, 2008).

Por ejemplo, el dióxido de carbono es uno de los compuestos exhalados en la respiración de los mamíferos (Smallegange *et al.*, 2005) y fue atractivo para las hembras de *L.*

longipalpis a la concentración de 800 ppm por encima de la ambiental (ver Tabla 2). Este resultado explica en parte las preferencias alimenticias de *L. longipalpis* en la vereda El Callejón, dado que Pinto *et al.* (2001) propone que la liberación del CO₂ aumenta de acuerdo con el tamaño del hospedero y que esto es generalmente proporcional a su atractivo para algunas especies de *Lutzomyia*. Adicionalmente, Morrison *et al.* (1993) demostraron que *L. longipalpis* es una especie oportunista y poco antropofílica, donde sus hospederos preferidos en la vereda El Callejón son los animales de mayor tamaño como las vacas y los marranos.

Es importante resaltar que hasta el momento, no se ha determinado en laboratorio el papel del CO₂ como atrayente de flebótomos (Nigan y Ward *et al.*, 1991).

El 1-octen-3-ol, está presente en el sudor humano en muy pequeñas cantidades (Bernier *et al.*, 2000) y fue aislado por primera vez en el olor del ganado e identificado como un fuerte atrayente combinado con dióxido de carbono en algunas especies como la mosca tsétsé (Takken and Kline, 1989).

En el presente estudio, la población de hembras *L. longipalpis* perteneciente a la vereda El Callejón, mostró frente a este estímulo un mayor porcentaje de respuesta a concentraciones entre 0,1%-1,0%. Donde a concentraciones bajas de 0,0001%, 22 de las 60 hembras evaluadas permanecieron en el puerto de liberación posiblemente debido a una imposibilidad de detectar el estímulo, mientras que a concentraciones altas de 10% 55 de las 60 hembras evaluadas permaneció en el puerto de liberación debido posiblemente a una saturación de los receptores de olor de las hembras (ver Tabla 2).

Adicionalmente, en laboratorio Sant' Ana *et al.* (2002), mediante estudios electrofisiológicos demostraron que las hembras *L. longipalpis* son capaces de detectar con sus antenas el octenol presente en corrientes de aire. Autores como Bernier *et al.* (2008) y Beavers *et al.* (2004) han evaluado el efecto atrayente de este compuesto en el campo.

Otro de los compuestos evaluados en este trabajo fue el L- ácido láctico que es también uno de los compuestos volátiles importantes para los insectos hematófagos en la

búsqueda de hospedero. Es un componente presente en la piel (Acree *et al.*, 1968) y en la exhalación humana (Geier *et al.* 1999).

En el presente trabajo la población de hembras de *L. longipalpis* de la vereda El Callejón se mostró atraída al ácido láctico a la concentración de 1,0%, observándose una disminución en la atracción a concentraciones inferiores a 0,1% y a la concentración de 10%. Estos resultados nos permiten pensar que posiblemente la concentración más atractiva de este compuesto se encuentra en concentraciones cercana a 1,0% (ver Tabla 2).

El efecto atrayente del ácido láctico ha sido estudiado en diferentes especies de insectos hematófagos. Para *Aedes aegypti*, este compuesto juega un rol importante en la búsqueda de los hospederos, es poco efectivo por sí solo, pero actúa sinérgicamente con el CO₂, el amonio y otros compuestos aún no identificados en la piel humana (Geier *et al.*, 1999).

Otra de las aminos presentes en la piel humana y evaluada en este estudio fue el amonio (Geier *et al.*, 1999). La población de hembras de *L. longipalpis* de la vereda El Callejón se mostró atraída por este compuesto a la concentración de 10%. Mientras que a concentraciones inferiores como 0,1% y 0,01%, se observó una disminución en la atracción. A una concentración de 15% se observó una posible repelencia o saturación de los receptores de olor de las hembras por el número de individuos que permaneció en el puerto de liberación (ver Tabla 2).

Para mosquitos el efecto atractivo de este compuesto fue evaluado en laboratorio por Geier y colaboradores (1999). En este caso ellos determinaron que este insecto se mostraba atraído al amonio a las concentraciones dadas por la respiración y la piel humana. Adicionalmente, estos investigadores evaluaron el efecto atractivo del amonio y el ácido láctico por separado, observando que el ácido láctico era mejor atrayente para *Aedes aegypti* que el amonio.

Para el caso del ácido butírico, las hembras de *L. longipalpis* de la vereda El Callejón se vieron atraídas por este compuesto a la concentración de 0,1%, donde las concentraciones de 0,01% y 10% fueron las menos atractivas.

Finalmente, teniendo en cuenta que el sudor humano es una mezcla de varias sustancias a diferentes concentraciones donde estas ya han sido determinadas mediante cromatografías de gases y espectrofotometría de masa (Bernier *et al.*, 2000). Bosch *et al.* (2000) sugieren que los ácidos grasos de cadena corta, ácidos grasos de cadena media, amonio y ácido láctico actúan como sinergistas indispensables que contribuyen a la atractividad de la mezcla de olores emitida por los hospederos humanos. Así mismo, Knols *et al.* (2007), evaluó el ácido láctico y diferentes ácidos grasos de manera individual, observando un incremento significativo en la atracción del ácido láctico sobre *Aedes aegypti* cuando estos compuestos se encontraban mezclados.

De acuerdo con las anteriores evidencias en el presente estudio se realizó una mezcla de tres compuestos (30µl de ácido láctico al 1,0%, 30µl de ácido butírico al 0,1% y 30µl de amonio al 10%) para evaluar posibles sinergismos entre compuestos. El ácido láctico es un sinergista reconocido cuando está presente con el CO₂ y el amonio (Acree *et al.*, 1968). Sin embargo, el porcentaje de atracción del 58% (35 hembras atraídas por el estímulo de 60 hembras expuestas) muestra que para la población de *L. longipalpis* de la Vereda El Callejón su poder atractivo no es significativo (ver Tabla 2).

7.3 Evaluación en campo de los semioquímicos (S)-9-methylgermacrene-B, dióxido de carbono y 1-octen-3-ol individualmente y la mezcla de ácido láctico, ácido butírico y amonio:

Con las trampas CDC cebadas con la feromona sintética 9MGB, el CO₂, el 1-octen-3-ol y la mezcla y sus controles para las dos casas evaluadas, se capturaron 10 especies del género *Lutzomyia*, de las 12 ya reportadas por Ferro *et al.* (1995) para esta vereda (ver Tabla 4).

De estas 10 especies, las más abundantes fueron *L. longipalpis* 69.256 (96,96%) y *L. trinidadensis* 1.199 (1,68%), seguidas de *L. carpenteri*, *L. cayennensis*, *L. dubitans*, *L.*

gomezi, *L. atroclavata*, *L. olmeca bicolor*, *L. ovallesi* y *L. punctigeniculata* con porcentaje inferiores a 1% (ver Tabla 3). Se observó que las trampas cebadas con CO₂, 1-octen-3-ol y mezcla capturaron todas las mismas especies, donde las especies más abundantes fueron *L. longipalpis*, *L. trinidadensis* y *L. carpenteri*. Para el caso de las trampas cebadas con la feromona 9MGB solo la especie *L. punctigeniculata* no fue capturada en comparación con los otros atrayentes. *L. longipalpis*, *L. trinidadensis* y *L. cayennensis* fueron en su orden las especies más abundantes en las CDC cebadas con la feromona (ver Tabla 4).

Teniendo en cuenta que *L. longipalpis* fue la especie más abundante en todos los casos los análisis se centraron en ésta especie.

7.3.1 Tratamiento 1: Trampas CDC cebadas con 60 µl de feromona sintética (S)-9-methylgermacrene-B al 5%:

El potencial de la feromona sintética (S)-9-methylgermacrene-B para la captura de *L. longipalpis* en campo fue demostrada por Bray *et al.* (2009). Este trabajo demostró, al igual que el realizado en El Callejón, que la feromona es atractiva para machos y hembras de *L. longipalpis*. Sin embargo, los resultados obtenidos en El Callejón demuestran, con tasas de captura de miles de individuos, que la feromona sintética (S)-9-methylgermacrene-B al 5% es muy atractiva para esta población colombiana de *L. longipalpis* (ver Figura 9).

Los resultados obtenidos con la metodología de cuadrados latinos en las dos casas muestreadas demuestran que no existe sesgo en el poder atractivo de la feromona 9MGB y que por lo tanto su utilización en El Callejón como posible medida de control reviste un interesante potencial (ver Tablas 5 y 6 y Figura 9).

Un resultado llamativo fue el mayor número de ejemplares de *L. longipalpis* capturados con los controles de las trampas cebadas con la feromona sintética con relación a los controles de las trampas cebadas con los otros semioquímicos evaluados (Ver Figura 14). Este mayor número fue debido posiblemente al fuerte poder de atracción de la feromona sintética sobre la población de *L. longipalpis*. Ward *et al.*, (2002) sugieren que la feromona

atrae a *L. longipalpis* a una distancia de 2,2 metros. Muy posiblemente esta fue la razón por la cual Bray *et al.* (2009), en su trabajo utilizaron 3 m de distancia entre las trampas cebadas y control. Sus resultados con 3 metros de separación no demostraron ningún efecto de la cercanía entre los dos tipos de trampas muy posiblemente debido a las bajas densidades poblacionales de *L. longipalpis* en Brasil. Para el caso de El Callejón, es claro que distancias mayores a 3 a 5 metros deben ser utilizadas para evitar que las trampas control sufran del efecto atractivo de la feromona. A futuro se recomienda realizar experimentos en el campo incluyendo diferentes distancias de separación entre la CDC tratamiento y las controles para poder establecer la potencial distancia atractiva de la feromona.

Finalmente, con base en los resultados obtenidos en laboratorio, es de suponer que la feromona sintética 3M α H debe ser igualmente efectiva para capturar grandes números de *L. longipalpis* en El Callejón. Se recomiendan futuros ensayos en campo con CDC cebadas con esta feromona para confirmar estas suposiciones.

7.3.2 Tratamiento 2: Trampas CDC cebadas con 700 g/noche de hielo seco para la liberación de dióxido de carbono:

De acuerdo a estudios realizados por Nigam y Ward (1991) las trampas CDC con luz cebadas con CO₂ aumentan la captura de flebótomos en campo. Este compuesto es el atrayente usado en trampas para la captura de flebótomos y mosquitos adultos para el monitoreo de vectores (Webb *et al.*, 2004).

Estudios realizados por Beavers *et al.* (2004), con una población de *Phlebotomus papatasi* en el sur de Egipto evidenciaron que la captura de ésta especie con las trampas CDC cebadas con hielo seco eran más atractivas para hembras y machos que aquellas que se realizaban sin cebar o cebadas con 1-octen-3-ol. Así mismo, estudios de campo realizados por Bernier *et al.* (2008) en Egipto, determinaron que las trampas CDC cebadas con hielo seco capturaron significativamente mayor número de *Phlebotomus papatasi* que las trampas sin cebar.

Adicionalmente, diferentes autores han evaluado el efecto de esta cairomona en campo sobre diferentes especies de mosquitos hematófagos. Algunos de los métodos empleados para la liberación de este compuesto en campo adicionales al hielo seco son los Sachets de CO₂ granular evaluados en campo por Rapaport *et al.* (2005) y Webb *et al.* (2004). En estos estudios los Sachets de CO₂ granular no resultaron ser tan efectivos para la captura de mosquitos comparados con el hielo seco.

En el presente estudio los individuos de *L. longipalpis* de la casa dos mostraron ser significativamente más atraídos por las trampas cebadas con hielo seco que por las trampas sin cebar ($p=0,0173$), a diferencia de lo encontrado en la casa uno donde se capturaron números similares entre ambos tipos de trampas (ver Figura 10). Aparentemente, en el caso de la vereda El Callejón, las trampas cebadas con CO₂ no presentan una ventaja significativa sobre trampas CDC cebadas con otras cairomonas, puesto que capturaron un mayor número de ejemplares de *Lutzomyia*; pero estas diferencias no fueron significativas (ver Figura 13) y adicionalmente la diversidad de especies que capturada es la misma a la de otros cebos (ver Tabla 7).

7.3.3 Tratamiento 3: Trampas CDC cebadas con 60 µl de 1-octen-3-ol al 0,01%:

En la vereda El Callejón no se encontraron diferencias las trampas cebadas con 1-octen-3-ol y las controles en las dos casas evaluadas (ver Figura 11). Teniendo en cuenta estos resultados el 1-octen-3-ol solo, a la concentración evaluada no ejerció un estímulo de atracción sobre la población de *L. longipalpis* de la vereda El Callejón.

Este resultado eran lo esperado tomando como base los ensayos realizados con el olfatómetro donde el 1-octen-3-ol no presentó una atracción estadísticamente significativa a la mejor concentración encontrada de 0,01%.

Otra posible explicación es que esta sustancia solo tiene altas tasas de capturas cuando se encuentra mezclada con otros compuestos (Beavers *et al.*, 2004). Por lo tanto, es necesario establecer cuidadosamente los otros compuestos que deben mezclarse con el 1-octen-3-ol para aumentar su efecto de atracción dado que Bernier *et al.* (2008) observaron durante evaluaciones de campo en Egipto que las trampas cebadas con 1-

octen-3-ol más CO₂ capturaron menor número de *Phlebotomus papatasi* que las trampas cebadas con CO₂ solo.

En cuanto al efecto atractivo de este compuesto en mosquitos Rapaport *et al.* (2005) observó en un estudio de campo realizado con trampas cebadas con sachets de CO₂ granular un aumento en la captura de mosquitos de los géneros *Culex*, *Anopheles*, *Ochlerotatus* y *Psorophora* comparado con las capturas realizadas con las trampas cebadas con 10 µl de 1-octen-3-ol más sachets de CO₂ granular. Además ellos observaron que el 1-octen-3-ol no aumentó la captura en cuanto al número de mosquitos ni la variedad de especies, comparado con las capturas logradas con las trampas cebadas con los sachets de CO₂ granular solo.

7.3.4 Tratamiento 4: Trampas CDC cebadas con la mezcla de 60µl de ácido láctico al 1,0%, ácido butírico al 0,1% y amonio al 10%:

Andrade *et al.* (2008) reportaron que las trampas CDC con luz cebadas con una mezcla de (ácido láctico, ácido caproico y amonio) llamada BG-Mesh-Lure™ presentaron altas tasas de captura de hembras *L. longipalpis* no solo comparado con las trampas control sino también con las caironomas evaluadas por separado. Para mosquitos estudios realizados por Geier *et al.* (1999) y Bosch *et al.* (2000) sugirieron que la combinación del ácido láctico, el amonio y el ácido caproico en sinergia tenían un efecto atrayente para las hembras de *Aedes aegypti*.

Tomando como base estos estudios y la importancia del sudor humano como atrayente para *L. longipalpis* en ausencia de CO₂ (Hamilton y Ramsoondar 1994, Rebollar –Tellez *et al.*, 1999) se evaluó con *L. longipalpis* de El Callejón el posible efecto atractivo de esta mezcla con tres compuestos presentes en el sudor humano (ácido láctico, ácido butírico y amonio), donde las trampas CDC cebadas con la mezcla no mostraron un efecto atrayente con relación a las trampas sin cebar (ver Figura 12). En este caso también los resultados obtenidos en el campo concuerdan con los resultados en el olfatómetro donde la mezcla también tuvo un bajo desempeño.

Una posible explicación es que las concentraciones individuales de las sustancias evaluadas no son las ideales como lo mostró el olfatómetro y/o que las proporciones de los compuestos utilizados no fueron las adecuadas. A futuro se recomienda realizar pruebas con mezclas que incluyan diferentes compuestos (en lo posible con CO₂) y en diferentes proporciones.

7.4 Variables ambientales:

De acuerdo con Morrison *et al.* (1995b) una asociación positiva significativa fue encontrada entre la abundancia de las hembras de *L. longipalpis* y la humedad relativa y la lluvia registrada 3 semanas antes: Estos resultados les permitieron a los autores sugerir que la abundancia de flebotomíneos en la zona, esta definida por factores ambientales previos al día de captura. En la fase de campo del presente trabajo aunque la pluviosidad no fue registrada, se registraron las variables ambientales temperatura y humedad relativa durante las 16 noches de muestreo en el mes de agosto en la vereda El Callejón y se determinó que no existía una correlación entre las abundancias de *L. longipalpis* capturadas con las trampas cebadas con la feromona 9MGB y la temperatura y la humedad relativa respectivamente (ver Figura 15). Lo anterior se explica porque la región Andina tradicionalmente es sometida a un régimen bimodal de lluvias, donde las lluvias disminuyen a partir del mes de junio y aumentan en el mes de septiembre y el presente estudio se desarrolló en agosto mes de poca pluviosidad y durante un corto periodo de tiempo, para registrar algún tipo de asociación. Por lo tanto nuestros resultados no coinciden con los estudios realizados por Morrison y colaboradores 1995b.

8. CONCLUSIONES:

Las feromonas sintéticas (1*S*,3*S*,7*R*)-3-methyl- α -himachalene y (S)-9-methyl-germacrene-B en condiciones de laboratorio mostraron ser altamente atractivas a las concentraciones de 2,5%-3,75% y 3,75%-5%, respectivamente, para las hembras vírgenes F1 de la población de *L. longipalpis* de la vereda El Callejón.

Se encontró que las distancias sugeridas por Bray *et al.* (2008) y Ward *et al.* (1990) para la ubicación en el campo de las trampas cebadas con feromona y las trampas control, no es la adecuada, para las condiciones de la vereda El Callejón, en el departamento de Cundinamarca, Colombia. Este estudio demostró, una vez más, que las condiciones en los focos de transmisión de leishmaniasis visceral son variables y hay que hacer ajustes a la metodología. Por esta razón, se hace necesario realizar estudios para determinar el radio de acción de la feromonas sintética (S)-9-methyl-germacrene-B, en la vereda El Callejón con el fin usar de manera eficiente este compuesto y lograr mejores resultados.

Se estableció en condiciones de laboratorio para las feromonas ácido láctico, ácido butírico, amonio, 1-octen-3-ol y dióxido de carbono, la concentración a la cual la población de hembras de *L. longipalpis* de la vereda El Callejón se mostró atraída en mayor porcentaje, estableciéndose un punto de partida para la búsqueda de concentraciones más atractivas para *L. longipalpis* en estudios futuros en el foco de transmisión de la enfermedad en el valle alto del río Magdalena.

Las trampas CDC cebadas con la feromona sintética (S)-9-methyl-germacrene-B al 5% mostraron ser altamente atractivas comparadas con las trampas cebadas con CO₂, 1-octen-3-ol y la mezcla de ácido láctico, ácido butírico y amonio.

Se plantea la posibilidad del uso de trampas pegantes impregnadas con aceite mineral mezclado con la feromona sintética (S)-9-methyl-germacrene-B al 5% o de trampas CDC modificadas para la liberación de este compuesto ubicadas próximas a las viviendas como una herramienta útil para el control y altamente eficiente para la captura de *L. longipalpis* en la vereda El Callejón del municipio de Ricaurte-Cundinamarca.

Con relación a la composición de especies, las trampas CDC cebadas con los semioquímicos (S)-9-methyl-germacrene-B, dióxido de carbono, 1-octen-3-ol y la mezcla capturaron la misma diversidad de especies, siendo las especies más abundantes *L. longipalpis* y *L. trinidadensis*.

9. RECOMENDACIONES:

Los resultados de este trabajo muestran la necesidad de realizar estudios futuros en temas como la naturaleza química de las feromonas de diferentes poblaciones de *L. longipalpis* o de otras especies y la determinación de las tasas de liberación y la composición de las mezclas de diferentes volátiles, con el fin de incorporarlos a trampas como métodos de captura eficaces para estudios de dinámica de poblaciones o como estrategia de control.

Es importante resaltar la necesidad de realizar en estudios posteriores evaluaciones de laboratorio con diferentes concentraciones partiendo de las ya establecidas con el fin de lograr una mejor aproximación a la concentración más atractiva para esta población de *L. longipalpis*.

Se recomienda con base en los resultados obtenidos en laboratorio llevar a cabo una evaluación en campo de la atracción de la feromona sintética (1*S*,3*S*,7*R*)-3-methyl- α -himachalene. Este trabajo debería ser complementado con análisis genéticos y de grabaciones de los cantos de cópula para tener una mejor aproximación al rol de la feromonas en la población de *L. longipalpis* de la vereda El Callejón en el municipio de Ricaurte-Cundinamarca.

10. CITAS BIBLIOGRÁFICAS

Acree FJ, Turner RB, Gouck HK, Bezora M, Smith N. L-Lactic acid: a mosquito attractant isolated from humans. *Science*. 1968; 161:1346-47.

Aguiar GM, Medeiros WM, Marco TS, Santos SC, Gambardella S. Ecologia de flebotomíneos da Serra do Mar, Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. I - A fauna flebotomínica e prevalencia pelo local e tipo de captura. (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Cad Saude Pública*. 1996; 12:195-206.

Alexander B, Usma MC, Cadena H, Quesada BL, Solarte Y, Roa W, Travi BL. Evaluation of deltamethrin-impregnated bednets and curtains against phlebotominae sandflies in Valle del Cauca, Colombia. *Med Vet Entomol*. 1995; 9:279-83.

Andrade J. Avaliacao de cairomonios na atratividade de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em Brejo do Mutambal, municipio de Vazelandia, MG. Belo Horizonte, Brasil: Universidad de Minas Gerais Instituto de Ciencias Biológicas, 2006.

Andrade J, Andrade M, Dias E, Pinto M, Eiras A. Are light traps baited with kairomones effective in the capture of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia intermedia*? An evaluation of synthetic human odor as an attractant for phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2008; 103:337-343.

Arrivillaga J, Mutebi J.P, Piñango H, Norris D, Alexander B, Feliciangeli M.D y. Lanzaro G.C. The taxonomic status of genetically divergent populations of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) based on the distribution of mitochondrial and isozyme variation. *J Med Entomol*. 2003; 40:615-27.

Arrivillaga J, Salerno P, Rangel Y. Aislamiento reproductivo asimétrico entre *Lutzomyia pseudolongipalpis* y *Lutzomyia longipalpis* (especie C2), vectores neotropicales de leishmaniasis visceral (Diptera: Pshychodidae). *Rev Biol Trop*. 2009; 57:23-31.

Barrozo RB y Lazzari C. The response of the blood-sucking bug *Triatoma infestans* to carbon dioxide and other host odours. *Chem Senses*. 2004; 29:319-29.

Beavers GY, Hanafi AH, Dykstra EA. Evaluation of 1-octen- 3-ol and carbon dioxide as attractants for *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) in Southern Egypt. *J Am Mosq Control Assoc*. 2004; 20:30-133.

Bernier UR, Booth MM, Yost RA. Analysis of human skin emanations by gas chromatography/mass spectrometry. 1. Thermal desorption of attractants for the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*) from handled glass beads. *Anal Chem*. 1999; 71:1-7.

Bernier UR, Kline DL, Barnard DR, Schreck CE, Yost RA. Analysis of human skin emanations by gas chromatography/mass spectrometry. 2. Identification of volatile compounds that are candidate attractants for the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*). *Anal Chem*. 2000;72:747-56.

Bernier UR, Hoel DF, Hogsette JA, Hanafi JR, Kline D. Effect of lures and trap placement on sand fly and mosquito traps. *Proceedings of the Sixth international Conference of urban pests*. 2008; 171-75.

Bosch JO, Geier M, Beckh J. Contribution of fatty acids to olfactory host finding of female *Aedes aegypti*. *Chem Senses*. 2000; 25:223-30.

Bray DP, Bandi KK, Brazil RP, Oliveira AG, Hamilton JGC: Synthetic sex pheromone attracts the leishmaniasis vector *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) to traps in the field. *J Med Entomol*. 2009; 46:428-34.

Brazil RP, Hamilton JGC. Isolation and identification of 9-methylgermacrene-B as the putative sex pheromone of *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938) (Diptera: Psychodidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002; 97:435-436.

Brazil RP, Caballero NN y Hamilton JCG. Identification of the sex pheromone of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae) from Asunción, Paraguay. Parasit Vectors. 2009; 2:51.

Cabrera OL, Munstermann LE, Cárdenas R, Ferro C. PCR para la confirmación de transmisión experimental de *Leishmania chagasi* a hámster sano por picadura de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). Biomédica. 2003; 23:239-44.

Campbell-Lendrum DH, Pinto MC, Davies CR. *Lutzomyia intermedia* (Lutz and Neiva, 1912) more endophagic than *Lutzomyia whitmani* (Antunes and Coutinho, 1939) because it is more attracted to light? Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999; 94:21-22.

Corredor A, Gallego JF, Tesh RB, Morales A, Ferro de Carrasquilla C, Young DG, Kreutzer RD, Boshell J, Palau MT, Caceres E, Pelaez D. Epidemiology of visceral leishmaniasis in Colombia. Am J Trop Med Hyg. 1989; 40:480-86.

Countinho-Abreu IV, Sonoda IV, Fonseca JA, Melo MA, Balbino VQ, Ramalho-Ortigao M. *Lutzomyia longipalpis* s. l. in Brazil and the impact of the Sao Francisco river in the speciation of this sand fly vector. Parasit Vectors. 2009; 1:16 doi:10.1186/1756-3305-1-16.

Davies CR, Lane RR, Villaseca P, Pyke S, Campos P, Llanos-Cuentas EA. The relation between CDC light-trap and human-bait catches of endophagic sandflies (Diptera: Psychodidae) in the peruvian Andes. Med Vet Entomol. 1995; 9:241-48.

De Freitas-Fernandes F, Bahia-Nascimento AC, Conceicao-Pinto L, De Souza Leal C, Costa Secundino NF, Paolucci Pimenta PF. Fine Structure and distribution pattern of antennal sensilla of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) sand flies. J Med Entomol. 2008; 45:982-90.

Dekker T, Steib B, Carde RT, Geier M. L-lactic acid: A human signifying host cue for the anthropophilic mosquito *Anopheles gambiae*. Med Vet Entomol. 2002; 16:91-8.

Dicke M, y Sabelis MW. Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds?. *Funct Ecol.* 1988; 2:131-39.

Dougherty MJ y Hamilton JGC. Dodecanoic acid is the oviposition pheromone of *Lutzomyia longipalpis*. *J Chem Ecol.* 2007; 12:2657-71.

Dougherty MJ, Guerin PM, Ward RD y Hamilton JGC. Behavioural and electrophysiological responses of the phlebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) when exposed to canid host odour kairomones. *Physiol Entomol.* 1999; 24:251-62.

Ferro C, Morrison A, Torres M, Pardo R, Wilson M, Tesh R. Species composition and relative abundance of sand flies of the genus *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. *J Med Entomol.* 1995; 32:527-37.

Flórez M, Martínez J, Gutiérrez R, Luna K, Serrano V, Ferro C, Angulo V, Sandoval M. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) en un foco suburbano de leishmaniosis visceral en el cañón del Chicamocha en Santander, Colombia. *Biomédica.* 2006; 26 (Supl.1):109-20.

Gomes B, Pecanha R. Sexing sand fly pupae (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2000; 95:471-72.

Geier M, Bosh OJ, Boeckh J. Ammonia as an attractive of host odour for the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Chem Senses.* 1999; 24:647-53.

Gibson G, Torr SJ. Visual and olfactory responses of haematophagous Diptera to host stimuli. *Med Vet Entomol.* 1999; 13:2-23.

González C, Cabrera O, Munstermann L, Ferro C. Distribución de los vectores de *Leishmania infantum* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) en Colombia. *Biomédica.* 2006; 26 (Supl.1):64-72.

Hamilton JGC, Ramsoondar TMC. Attraction of *Lutzomyia longipalpis* to human skin odours. *Med Vet Entomol.* 1994; 8:375-80.

Hamilton JGC, Dougherty MJ, Ward RD: Sex pheromone activity in a single component of tergal gland extract of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) from Jacobina, North Eastern Brazil. *J Chem Ecol.* 1994; 20:141-51.

Hamilton JGC, Ward RD, Dougherty MJ, Maignon R, Ponce C, Ponce E, Noyes H, Zeledón-Araya, R. Comparison of the sex-pheromone components of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae) from areas of visceral and atypical cutaneous leishmaniasis in Honduras and Costa Rica. *Ann Trop Med Parasitol.* 1996a; 90:533-41.

Hamilton JGC, Dawson GW, Pickett JJ. 3-Methyl-a-himachalene: Proposed structure for novel homosesquiterpene sex pheromone of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) from Jacobina, Brazil. *J Chem Ecol.* 1996b; 22:2331-40.

Hamilton JGC, Dawson GW, Pickett JJ. 9-Methylgermacrene-B: Proposed structure for a novel homosesquiterpene from sex pheromone glands of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) from Lapinha, Brazil. *J Cheml Ecol.* 1996c; 22:1477-91.

Hamilton JGC, Ibbotson HC, Hooper AM, Mori K, Pickett JA, Sano S. 9-methylgermacrene-B is confirmed as the sex pheromone of the sandfly *Lutzomyia longipalpis* from Lapinha, Brazil, and the absolute stereochemistry defined as S. *Chem Commun.* 1999a; 23:2335-36.

Hamilton JGC, Brazil RP, Morgan ED, Alexander B. Chemical análisis of oxygenated homosesquiterpenes: a putative sex pheromone from *Lutzomyia lichi* (Diptera: Psychodidae). *Bull Entomol Res.* 1999b; 89:139-145.

Hamilton JGC, Brazil R, Campbell-Lendrum D, Davies C, Kelly D, Pessoa F, de Queiroz R. Distribution of putative male sex pheromones among *Lutzomyia* sandflies (Diptera: Psychodidae). *Ann Trop Med Parasitol.* 2002; 96:83–98.

Hill CA, Fox AN, Pitts RJ, Kent LB, Tan PL, Chrystal MA, Cravchik A, Collins FH, Robertson HM, Zwiebel LJ. G protein-coupled receptors in *Anopheles gambiae*. *Science*. 2002; 298:176–78.

Hooper AM, Farcet JB, Mulholland NP, Pickett JA. Synthesis of 9-methylgermacrene B, racemate of the sex pheromone of *Lutzomyia longipalpis* (Lapinha), from the renewable resource, *Geranium macrorrhizum* essential oil. *Green Chem*. 2006; 8:513-15.

Kajiya K, Inaki K, Tanaka M, Haga T, Kataoka H, Touhara K. Molecular bases of odor discrimination: Reconstitution of olfactory receptors that recognize overlapping sets of odorants. *J Neurosci*. 2001; 21:6018-25.

Kalinova B, Hoskovec M, Liblikas I, Unelius CR, Hansson BS. Detection of sex pheromone components in *Manduca sexta* (L). *Chem Senses*. 2001; 26:1175-86.

Kelly DW, Dye C. Pheromones, kairomones and the aggregation dynamics of the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. *Anim Behav*. 1997; 53:721-31.

Kemme JA, Van Essen PHA, Ritchie SA, Kay BH. Response of mosquitoes to carbon dioxide and 1-octen-3-ol in southeast Queensland, Australia. *J Am Mosq Control Assoc*. 1993; 9: 431-35.

Kline DL, Takken W, Wood JR, Carlson DA. Field studies on the potential of butanone, carbon dioxide, honey extracts, 1-octen-3-ol, L-lactic acid and phenols as attractant and control. *Med Vet Entomol*. 1990; 4:383-91.

Knols BGJ, Bossin HC, Mukabana WR y Robinson AS. Transgenic mosquitoes and the fight against malaria: Managing technology push in a turbulent GMO world. *Am J Trop Med Hyg*. 2007; 77:232-42.

Lane R, Phillips A, Molyneux DH, Procter G y Ward RD. Chemical-analysis of the abdominal glands of two forms of *Lutzomyia longipalpis*: site of a possible sex-pheromone?. Ann Trop Med Parasitol. 1985; 79:225-29.

Lane R, Alexander B, Ferro C, Montoya J, & Palma G. Leishmaniasis. In: Travi BL, Montoya-Lerma J (eds.), Manual de Entomología Médica para Investigadores de América Latina. Fundación CIDEIM, Cali, Colombia, p 5-81, 1994.

Larson TV, Covert DS, Frank R. A method for continuous measurement of ammonia in respiratory airways. J Appl Physiol. 1979; 46:603-07.

Logan JG y Birkett MA. Semiochemicals for biting fly control: their identification and exploitation Review. Pest Manag Sci. 2007; 63:647-57.

Mangabeira FO. Sobre a sistemática e biología dos *Phlebotomus* do Ceará. Rev Bras Malariol Doenc Trop. 1969; 21:3-26.

Modi GB, Tesh RB. A simple technique for mass rearing *Lutzomyia longipalpis* and *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) in the laboratory. J Med Entomol. 1983; 20:568-69.

Mori K, Recent results in the synthesis of ecologically important bioregulators. Pure Appl Chem. 2001; 73:601-06.

Morrison AC, Ferro C, Tesh R. Host preferences of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* at an endemic focus of american visceral leishmaniasis in Colombia. Am J Trop Med Hyg. 1993; 49:68-75.

Morrison AC, Ferro C, Pardo R, Torres M, Wilson M, Tesh R. Nocturnal activity patterns of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. J Med Entomol. 1995a; 32:605-17.

Morrison AC, Ferro C, Pardo R, Torres M, Delvin B, Wilson ML, Tesh R. Seasonal abundance of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. J Med Entomol. 1995b; 32:538-48.

Morton IE, Ward RD: Laboratory response of female *Lutzomyia longipalpis* sandflies to a host and male pheromone source over distance. Med Vet Entomol. 1989; 3:219-23.

Morton IE, Ward RD: Response of female sandflies (*Lutzomyia longipalpis*) to pheromone-baited sticky traps in the laboratory. Ann Trop Med Parasitol. 1990; 84:49-51.

Nigam Y, Ward RD. The effects of male sandfly pheromone and host factors as attractants for female *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). Physiol Entomol. 1991; 16:305-12.

Noirot C, Quennedey A. Fine structure of insect epidermal glands. Ann Rev Entomol. 1974; 19:61-80.

OMS. Diferencias regionales en la epidemiología de la leishmaniasis visceral; Apéndice 2. 1996: 48-50. Hallado en: URL: <http://www.amro.who.int/spanish/ad/dpc/cd/leishmaniasis-manual-a2.pdf>

Organización Mundial de Sanidad Animal. Manual de la OIE sobre animales terrestres Paris, Francia: OIE; 2004: 433-43. Hallado en: URL: http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/a_summry.htm

Oshaghi MA, McCall PJ, Ward RD: Response of adult sandflies, *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae), to stick traps baited with host odour and tested in the laboratory. Ann Trop Med Parasitol. 1994; 88:439-44.

Pinto MC, Campbell-Lendrum DH, Lozovei AL, Teodoro U, Davies CR. Phlebotominae sandfly responses to carbon dioxide and human odour in the field. Med Vet Entomol. 2001; 15:132-39.

Rapaport AS, Lampman RL y Novak RJ. Evaluation of selected modifications to CO₂ and infusion-baited mosquito traps in Urbana, Illinois. *J Am Mosq Control Assoc.* 2005; 21:395-99.

Rebollar-Tellez EA, Hamilton JGC, Ward RD. Responses of female *Lutzomyia longipalpis* to host odour kairomones from human skin. *Physiol Entomol.* 1999; 24:220-26.

Rios-Delgado S, Rodriguez A, Cruz L, Escobar L, Aburto Ma de Lourdes, Torres-Estrada J. Respuesta de *Anopheles albimanus* a compuestos volátiles de casas del sur de Chiapas, México. *Salud Pública Mex.* 2008; 50:367-74.

Sant'Ana AL, Eiras AE, Cavalcante RR. Electroantennographic responses of the *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae) to 1-octen-3-ol. *Neotrop Entomol.* 2002; 31:13-7.

Smallegange RC, Qiu YT, van Loon JJ, Takken W: Synergism between ammonia, lactic acid and carboxylic acids as kairomones in the host-seeking behaviour of the malaria mosquito *Anopheles gambiae sensu stricto* (Diptera: Culicidae). *Chem Senses.* 2005; 30:145-52.

Soares R, Turco S. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): a review. *An Acad Bras Cienc.* 2003; 75:301-30.

Souza NA, Ward RD, Hamilton JGC, Kyriacou CP, Peixoto AA. Copulation songs in three siblings of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *Trans Roy Soc Trop Med Hyg.* 2002; 96:102-103.

Sudia WD, Chamberlain RW. Battery operated light, an improved model. *Mosq News.* 1962;22: 287-95.

Spiegel CN, Brazil RP, SoaresMJ, Sensilla on the terminalia of *Lutzomyia* spp. (Diptera: Psychodidae) sand flies. *J Med Entomol.* 2000; 37:860-63.

Spiegel CN, Jeanbourquin P, Guerin PM, Hooper AM, Claude S, Tabacchi R, Sano S, Mori K. (1S, 3S, 7R)-3-methyl- α -himachalene from the male sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) induces neurophysiological responses and attracts both males and females. *J Insect Physiol.* 2005; 12:1-10.

Steib BM, Geier M, Boeckh J. The effect of lactic acid on odour-related host preference of yellow fever mosquitoes. *Chem Senses.* 2001; 26:523–28.

Takken W y Kline DL, Carbon dioxide and 1-octen-3-ol as mosquito attractant. *J Am Mosq Control Assoc.* 1989; 5:311-316.

Takken W, Knols BG. Odor-mediated behavior of Afrotropical malaria mosquitoes. *Annu Rev Entomol.* 1999; 44:131-57.

Tesh RB, Guzman H, Wilson ML. Trans-beta-farnesene as a feeding stimulant for the sand fly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *J Med Entomol.* 1992; 29:226-31.

Torres-Estrada JL, Rodriguez MH, Señales físico químicas involucradas en la búsqueda de hospederos y en la inducción de picadura por mosquitos. *Salud Pública de Mex.* 2003; 45:497-505.

Vogt RG. Biochemical Diversity of Odor Detection: OBPs, ODEs and SNMPs. In "Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology." En: Blomquist GJ and Vogt RG, editores. London: Elsevier Academic Press; 2003. p. 391-446.

Vogt RG. Molecular basis of pheromone detection in insects. In comprehensive insect Physiology. En: Gilbert LI, Iatrou K, Gill S, editors. Biochemistry, Pharmacology and Molecular Biology. London: Elsevier; 2005.p. 753-804.

Ward RD, Ribeiro AL, Ready PD y Murtagh A. Reproductive isolation between different forms of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz and Neiva), (Diptera: Psychodidae), the vector of

Leishmania dovani chagasi Cunha & Chagas and its significance to kala-azar distribution in South America. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1983; 78:269-80.

Ward RD, Morton IE, Brazil RP, Trumper S, Falcao AL: Preliminary laboratory and field trials of a heated pheromone trap for the sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 1990; 85:445-52.

Watts PC, Hamilton JCG, Ward RD, Noyes HA, Souza NA, Kemp SJ, Feliciangeli MD, Brazil R y Maingon RDC. Male sex pheromones and the phylogeographic structure of the *Lutzomyia longipalpis* species complex (Diptera: Psychodidae) from Brazil and Venezuela. Am J Trop Med Hyg. 2005; 73:734-43.

Webb C, Russell RC. Evaluation of granular carbon dioxide sachets for use in combination with CDC and EVS light traps for collecting mosquitoes. Sydney, Australia: Institute of Clinical Pathology and Medical Research. 2004:1-5.

Ximenes FM, Souza MF, Castellón EG. Density of sand flies (Diptera: Psychodidae) in domestic and wild animal shelters in an area of Visceral Leishmaniasis in State of Rio Grande do Norte, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999; 94:427-32.

Xu P, Atkinson R, Jones DN, Smith DP: *Drosophila* OBP LUSH is required for activity of pheromone-sensitive neurons. Neuron. 2005; 45:193–200.

Young DC, Duncan NA. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia sandflies* in México, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Mem An Ent Inst. 1994; 54:1-881.

ZarJH, Biostatistical Analysis. Prentice Hall, New Jersey; 1999. p. 663.