

## ASPECTOS ULTRAESTRUCTURALES DE LOS ESTADIOS INMADUROS DE *Micropygomyia (Sauromyia) trinidadensis* (DIPTERA: PSYCHODIDAE, PHLEBOTOMINAE)

### ULTRASTRUCTURAL ASPECTS OF IMMATURE STAGES OF *Micropygomyia (Sauromyia) trinidadensis* (DIPTERA: PSYCHODIDAE, PHLEBOTOMINAE)

DALMIRO CAZORLA-PERFETTI<sup>1</sup>, MILAGROS OVIEDO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional Experimental "Francisco de Miranda", Decanato de Investigaciones, Centro de Investigaciones Biomédicas (CIB), Laboratorio de Entomología, Parasitología y Medicina Tropical (LEPAMET), Coro, Venezuela, <sup>2</sup>Universidad de Los Andes, Núcleo Universitario "Rafael Rangel", Instituto Experimental "José Witremundo Torrealba", Laboratorio Biología de Lutzomyia e Insectario "Pablo Anduze", Trujillo, Venezuela. E-mail: lutzomyia@hotmail.com / cdalmiro@gmail.com

#### RESUMEN

Los sistemas de clasificación de la subfamilia Phlebotominae se basan principalmente en características de imagos, observadas mayormente bajo microscopía de luz. La Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) proporciona información adicional sobre caracteres morfológicos para la identificación de estadios inmaduros e imagos en los sistemas de clasificación de los flebotominos. En el presente artículo se identificaron y describieron características ultramorfológicas externas de huevos, larvas estadio IV y pupas de *Micropygomyia (Sauromyia) trinidadensis*, obtenidas en condiciones de laboratorio a partir de hembras flebotominas capturadas en Trujillo, región Andino-Venezolana. El estudio ultramorfológico reveló que los huevos de *Mi. (Sau.) trinidadensis* poseen un patrón de esculpido exo-coriónico poligonal, mientras que las larvas IV pueden colocarse en el Grupo 4 de las especies flebotominas del Neotrópico que se caracterizan por antenas con segmento basal corto y el distal ovoide; la mayoría de las setas analizadas de las pupas son simples y espiniformes, y las pre-alares son largas y delgadas con puntas afiladas. Se discute la importancia de estos hallazgos ultraestructurales en el contexto de la taxonomía y sistema de quetotaxia de la subfamilia Phlebotominae.

**PALABRAS CLAVE:** Flebotominos, morfología, Insecta, Microscopía Electrónica de Barrido.

#### ABSTRACT

The classification systems of the subfamily Phlebotominae has been mainly based on morphological characters of adult stages, and mostly studied under light microscopy. Scanning Electron Microscopy (SEM) provides additional information for the identification of pre-imaginal and imaginal stages in phlebotomine sand flies classification systems. In the present study, outer ultramorphological characteristics of laboratory reared eggs, fourth instar larvae and puparium of *Micropygomyia (Sauromyia) trinidadensis* of Trujillo, Venezuelan Andes region, were identified and described. The ultramorphological study revealed a polygonal exo-chorionic sculpturing pattern of the eggs of *M. trinidadensis*, whereas the fourth instar larvae can be placed in Group 4 of the Neotropical phlebotomine which are characterized by antennae with a short basal segment and an ovoid distal segment; most of analysed puparium setae are short, smooth and spinniform, and the pre-alar ones long, thin and sharp. The importance of these ultrastructural findings to phlebotomine sandfly taxonomy and chaetotaxy system, is discussed.

**KEY WORDS:** Sand flies, morphology, Insecta, Scanning Electron Microscopy.

#### INTRODUCCIÓN

Como ya se ha venido insistiendo en trabajos previos (Cazorla y Oviedo 1998, 2001, Cazorla 2001, Cazorla *et al.* 2010), el hecho que existan relativamente pocas descripciones de los estadios inmaduros (*e.g.*, larvas, pupas) en los integrantes de la subfamilia Phlebotominae (Diptera: Psychodidae), ha resultado que los sistemas de clasificación taxonómica y sistemática se basen exclusivamente en caracteres y estructuras morfológicas de los adultos. Por lo demás, la mayoría de estas descripciones se encuentran basadas en observaciones hechas bajo microscopía de luz, quedando aún por

describirse y determinarse la importancia taxonómica y sistemática de detalles ultraestructurales, especialmente bajo Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), como por ejemplo, entre otros, de las sensilas del tegumento (Leite *et al.* 1991, Leite y Williams 1996, 1997).

Las especies flebotominas integrantes del género *Micropygomyia* Barreto 1962 (Tribu Phlebotomini Rondani 1840, subtribu Brumptomyiina Artemiev 1991, *sensu* Galati 2012), particularmente las de la Serie *Oswaldoi* Barreto 1962 del subgénero *Sauromyia* Artemiev 1991, no escapan a esta problemática planteada. En este sentido, en esta Serie que la integran actualmente

alrededor de 21 especies (Galati 2012), sólo se han descrito el esculpido exo-coriónico y los estadios pre-imaginales de *Mi. (Sau.) trinidadensis* Newstead, 1922 (= *Lutzomyia trinidadensis* del Grupo *Oswaldoi* Theodor, 1965 *sensu* Young y Duncan 1994) (Hanson 1968, Feliciangeli *et al.* 1993, Fausto *et al.* 1998), y *Mi. (Sau.) oswaldoi* Mangabeira, 1942 (= *Lu. oswaldoi* del Grupo *Oswaldoi*, *sensu* Young y Duncan 1994) (Mangabeira 1942); sin embargo, mediante MEB solamente se ha descrito para *Mi. (Sau.) trinidadensis*, la superficie oval a partir de ejemplares capturados en el estado Carabobo, región Nor-central de Venezuela, y los espiráculos de larvas IV obtenidas igualmente en este último país (Feliciangeli *et al.* 1993, Fausto *et al.* 1998).

*Mi. (Sau.) trinidadensis* es una especie flebotomina ampliamente distribuida en países de la región Neotropical, incluyendo México, Belice, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Costa Rica Panamá, Colombia, Trinidad, Surinam, Guyana Francesa, Ecuador, Perú, Bolivia y Venezuela (Galati 2012). En el territorio nacional exhibe un amplio rango de distribución altitudinal, pudiendo ser encontrada en hasta 21 entidades federales de Venezuela, desde los 0 hasta los 1.900 m (Scorza *et al.* 1979, Feliciangeli 1988). Esta especie flebotomina generalmente se le ha considerado de alimentarse preferentemente sobre lacertilios o lagartos (Squamata: Lacertilia), a los cuales les puede transmitir el protozooario-flagelado *Trypanosoma thecadactyli* (Christensen y Telford 1972, Young y Duncan 1994). Sin embargo, otros investigadores refieren haber capturado a hembras de *Mi. (Sau.) trinidadensis* picando sobre humanos (Scorza *et al.* 1979, Zeledón *et al.* 1982), mientras que Bonfante-Garrido *et al.* (1990) la encontraron naturalmente infectada con promastigotes de *Leishmania*, aunque estos no pudieron ser identificados a nivel específico (Bonfante-Garrido *et al.* 1999). Para Feliciangeli (1991), estos hallazgos necesitan ser confirmados. Más aún, basado en estas observaciones, Williams (1988) arroja la posibilidad de considerar a los especímenes capturados por Scorza *et al.* (1979), que sólo fueron identificados a nivel de hembras, por sobre los 1.800 m de altitud en Trujillo, región andina de Venezuela, como una especie distinta a las consideradas como *Mi. (Sau.) trinidadensis* en las tierras bajas de Centro América, pudiendo conformar de este modo un complejo de especies crípticas.

A la luz de lo expuesto, en el presente trabajo se dan detalles morfológicos ultraestructurales bajo MEB del esculpido exo-coriónico de huevos, la quetotaxia de larvas de estadio IV y pupas de *Mi. (Sau.) trinidadensis*,

obtenidas a partir de la colonización y cría de hembras capturadas en el estado Trujillo, región andino-venezolana. Con ello, se complementa los trabajos de Hanson (1968) con microscopía de luz en Panamá, y se confirma los ultraestructurales de Feliciangeli *et al.* (1993) y Fausto *et al.* (1998), en la región centro-norte de Venezuela.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Especímenes

Las hembras, grávidas y/o alimentadas, se capturaron por aspiración directa en huecos de árboles en los alrededores de la ciudad de Trujillo (Lat. 9°25'00"N, Long. 70°25'00"O), capital del estado Trujillo, ubicada a 960 m de altitud en los Andes de Venezuela. La región posee una zona de vida bioclimática correspondiente al bosque seco pre-montano (bs-pm), con temperatura media anual que oscila en el orden de los 23°C, la precipitación media anual es de aproximadamente 870 mm, y la evaporación media anual de 1.350 mm (Ewel *et al.* 1976). Los huevos y las larvas de estadio IV y pupas se obtuvieron mediante técnica de colonización y cultivo propuesta por Añez y Oviedo (1985), cuya secuencia metodológica se describió en un trabajo previo (Cazorla y Oviedo 1998). Los especímenes de las hembras flebotominas se clarificaron en solución de Nesbitt a temperatura ambiente durante 24 horas y montados sobre láminas portaobjetos en líquido de Berlese. Para su identificación y clasificación taxonómica se siguió criterios y nomenclatura dados por Galati (2012), y los de Marcondes (2007) para las abreviaturas.

### Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Para el estudio ultraestructural por MEB, se tomaron los huevos, larvas y pupas transcurridas entre 48-72 horas después de la oviposición y muda de los estadios pre-imaginales, los cuales se transfirieron a viales pequeños. Las larvas y pupas se sacrificaron en agua caliente (70-80°C). Los huevos y los estadios inmaduros se fijaron en glutaraldehído al 3% a 4°C durante 2 h, y seguidamente se lavaron tres veces en solución tampón fosfato (0,1 M y pH 7,2) por 1 min cada vez; luego, se fijaron en solución de tetraóxido de osmio al 1% durante 1 h, y nuevamente lavados con solución tamponada; inmediatamente, se deshidrataron en serie alcohólica (etanol): 30, 50, 70, 80, 90 y 100 %, 5-10 min en cada alcohol. Después, se sometieron a secado por punto crítico de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) en cámara Hitachi

modelo HCP-2 (*Critical Point Dryer*), y sombreado con una capa de oro ( $A_u$ ) por ionización al vacío en cubridor iónico (*Ion Coater*) modelo Eiko Engineering (IB-2). Finalmente, la toma de imágenes se hizo en el Microscopio Electrónico de Barrido (Hitachi S-2500), en el Centro de Microscopía Electrónica de la Universidad de Los Andes, Mérida, estado Mérida, Venezuela.

Se utilizó la nomenclatura empleada por Zimmerman *et al.* (1977) para la ultraestructura de los huevos. La descripción de las estructuras anatómicas y la quetotaxia de larvas IV y pupas se hizo siguiendo nomenclatura y sistema de numeración empleados por Forattini (1973). Para la descripción morfológica-ultraestructural de los componentes de los espiráculos se siguió trabajo de

Fausto *et al.* (1998).

## RESULTADOS

**Huevos** (Fig.1). Presentan forma oblonga, fusiforme (“forma de cigarro”) y extremos redondeados; el esculpido exo-coriónico posee un patrón básico de modelo poligonal (pentagonal, hexagonal), con alrededor de noventa células en la superficie exhibida (Fig. 1A); los polígonos se presentan conectados y de forma irregular (Fig. 1A, B, C); a mayor magnificación (Fig.1B, C, D), sus crestas son continuas y relativamente elevadas formando una red que se encuentra adherida a la superficie oval, aunque también se observan depresiones o hendiduras y varían en anchura.

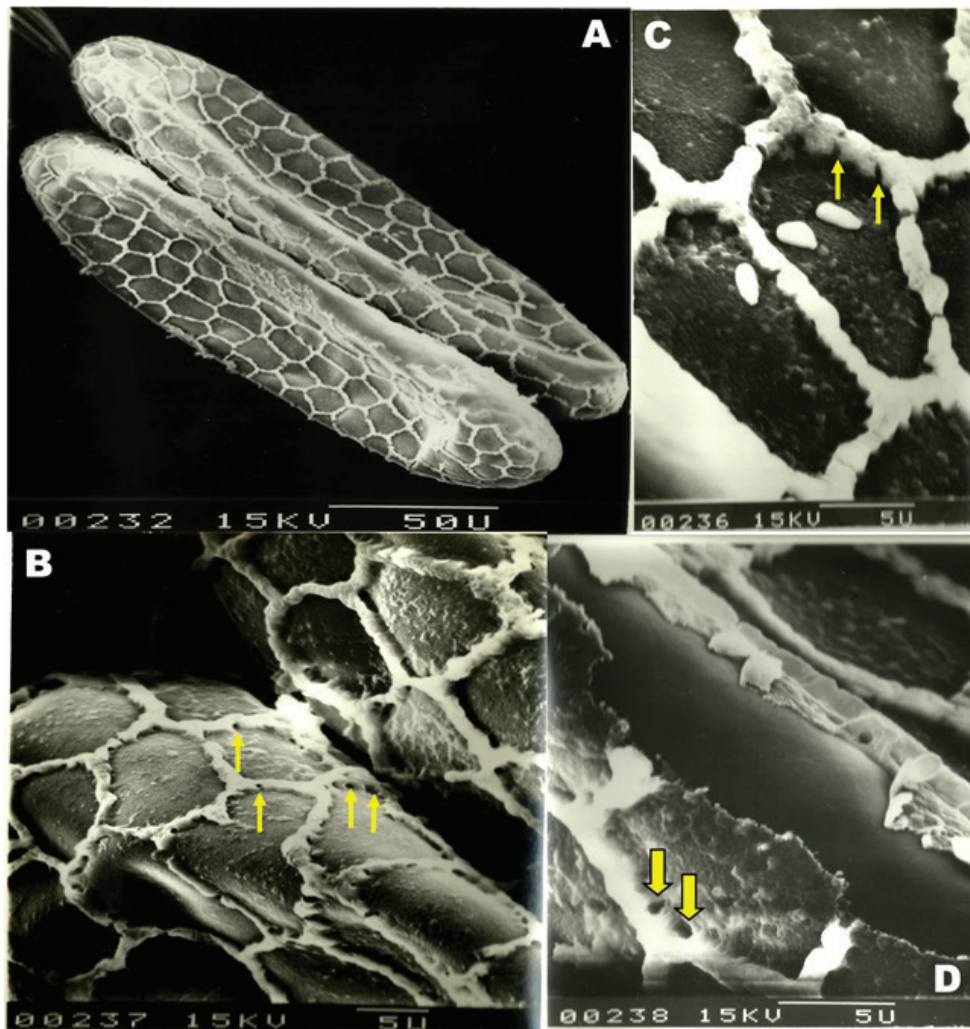


Figura 1. Micrografía electrónica de barrido (SEM) del patrón de crestas del esculpido exo-coriónico de huevos de *Micropygomyia* (*Sauromyia*) *trinidadensis*. A. Huevo completo. B, C y D secciones magnificadas. Las flechas amarillas señalan las depresiones o hendiduras en las crestas poligonales.



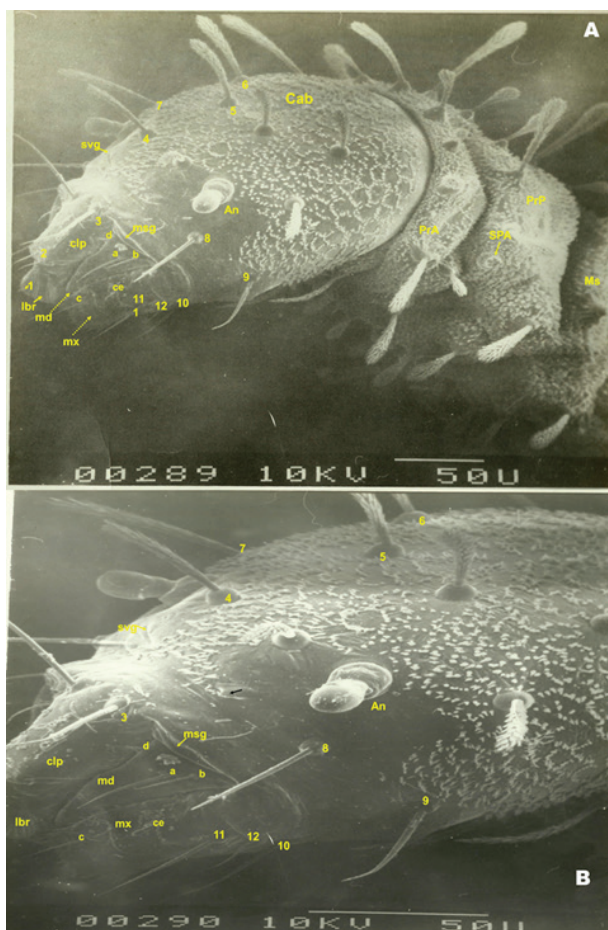


Figura 2. Micrografía electrónica de barrido (SEM) de la morfología y quetotaxia de cápsula cefálica de larvas del estadio IV de *Micropygomyia (Sauromyia) trinidadensis*. **A.** Vista lateral junto con partes de segmentos torácicos. **B.** Vista lateral magnificada de región cefálica. Abreviaturas. **An:** antena; **Cab:** cápsula cefálica; **ce:** cerda espatulada de la maxila; **Clp:** clipeo; **lbr:** labro; **msg:** moldura subgenal; **md:** mandíbula; **mx:** maxila; **svg:** sutura vértico-genal; **PrA:** protórax anterior; **PrP:** protórax posterior; **mes:** mesotórax; **SPA:** espiráculo anterior. Las setas **a**, **b**, **c** y **d** no se encuentran descritas en el sistema de numeración de Forattini (1973). La flecha negra señala una posible sensila.

#### Quetotaxia de larvas estadio IV (Fig. 2, 3, 4, 5)

**Cabeza** (Fig. 2, 3): Ovoidal. Dorso-ventralmente, la parte posterior del tegumento de la cabeza se encuentra recubierta con diminutas espinas, configurando formas poligonales conspicuas.

**Piezas bucales:** Setas **1** (epifaringe) y **2** (labro) dorsales, espiniformes. En la región dorsal de las mandíbulas se exhiben las setas espiniformes **a**, **b** y **c**, que no se incluyen en el sistema de numeración propuesto por Forattini (1973). En la región dorsal de las maxilas, se observa seta **d** espiniforme, la cual tampoco se incluye en el sistema de Forattini (1973), y la cerda espatulada o

sensila (**ce**).

**Setas 3-8 dorsales:** Setas **3** y **8** filiformes. Las setas **4**, **5**, **6** y **7** plumosas, aunque **7** y **4** poseen menor pilosidad. Todas las setas se encuentran insertadas sobre tubérculos prominentes. Es significativo indicar que entre las antenas y la seta **4** se observó una posible sensila espiniforme (Fig. 2B).

**Setas 9-12 ventrales:** Espiniformes, insertadas sobre tubérculos prominentes. Antena relativamente corta, insertada sobre prominente tubérculo (**ti**). El primer segmento antenal corto (**a<sub>1</sub>**), y el segundo de mayor longitud (**a<sub>2</sub>**), de contorno elíptico, con surco a lo largo de la línea media, y con apéndice apical espiniforme; en la parte ventral se observa el órgano antenal (Fig. 3B).

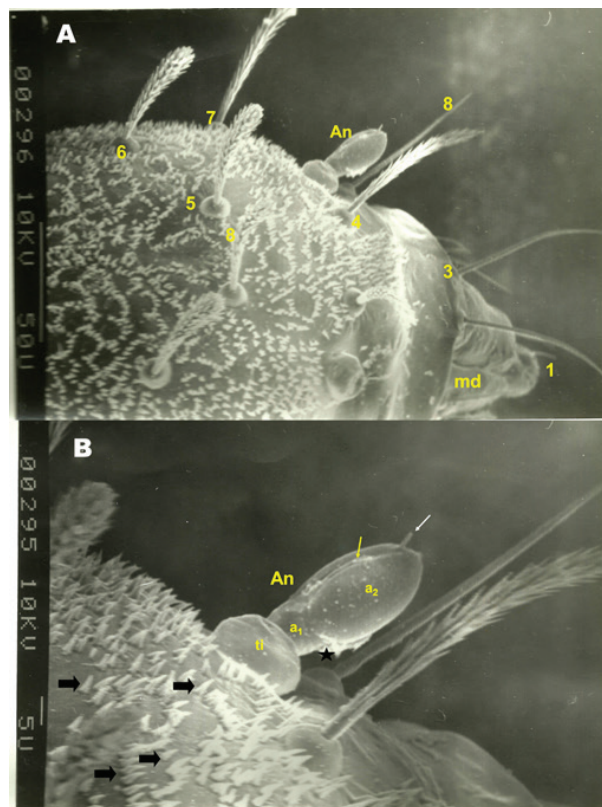


Figura 3. Micrografía electrónica de barrido (SEM) de la morfología y quetotaxia de cápsula cefálica de larvas del estadio IV de *Micropygomyia (Sauromyia) trinidadensis*. **A.** Vista dorsal. **B.** Vista dorsal magnificada. Abreviaturas. **An:** antena; **a<sub>1</sub>**: segmento antenal basal; **a<sub>2</sub>**: segmento antenal terminal; **ti:** tubérculo de implantación de la antena; **md:** mandíbula. La flecha blanca señala el apéndice apical de la antena, la amarilla el surco medio; y las negras las espinas que ornamentan el tegumento de la región cefálica; la estrella negra indica el órgano antenal en la parte ventral.

**Tórax** (Fig. 4): El tegumento de todos los segmentos torácicos se encuentra recubierto dorso-lateralmente por

tubérculos de forma estrellada, los cuales son más finos y de menor densidad en el protórax anterior.

**Protórax anterior:** Setas **1, 2, 3** y **a** dorsales, insertadas sobre tubérculos prominentes; **1-3** plumosas; seta accesoria **a** espiniforme. Seta **4** en posición ventrolateral; setas **5, 6** y **7** ventrales, plumosas aunque **5** y **6** de escasa pilosidad; todas se encuentran insertadas sobre tubérculos.

**Protórax posterior:** Región dorsal presenta tres setas (**8, 9, 10**) plumosas e insertadas sobre tubérculos prominentes. En la región ventral, las setas **12, 13** y **14** son

plumosas y se encuentran insertadas sobre tubérculos; las restantes setas dadas en el sistema de Forattini (1973), no se pudieron observar por no contarse con electronografías de esta región ventral. El espiráculo anterior (SPA) se observa lateralmente entre setas **10** y **13**; su porción periférica consta de 6 conspicuas papilas espiraculares.

**Mesotórax y metatórax:** Ambos segmentos presentan disposición de setas de manera similar. Todas las setas se encuentran insertadas sobre tubérculos. Setas **1, 2** y **3** dorsales; de las setas ventrales del sistema de Forattini (1973) (**4, 5, 6, 7, 8, a, c** y **d**), sólo se pudo observar la **4** y **8** por no contarse con electronografías *ad hoc*.

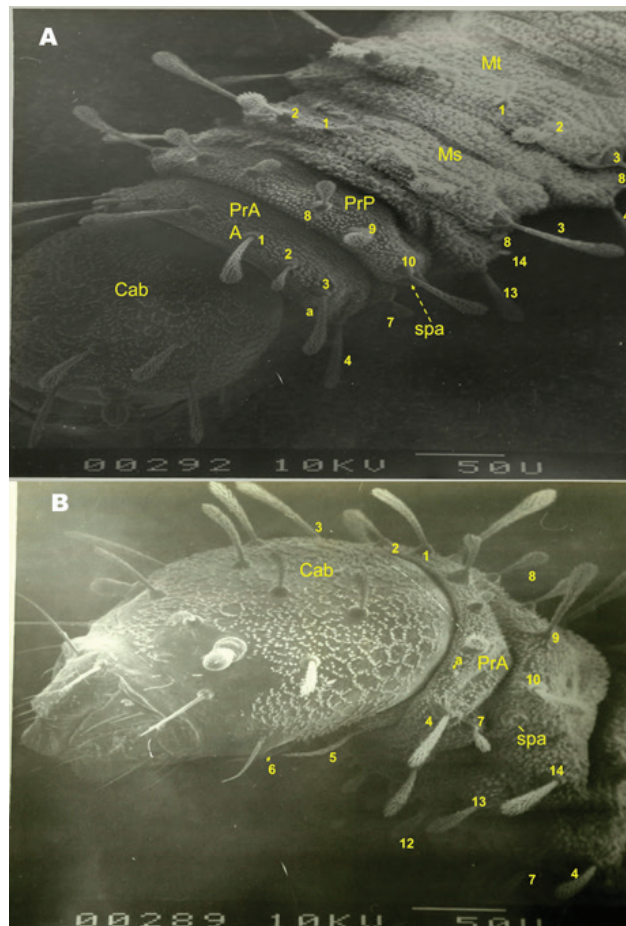


Figura 4. Micrografía electrónica de barrido (SEM) de la morfología y quetotaxia de segmentos torácicos de larvas del estadio IV de *Micropygomyia (Sauromyia) trinidadensis*. **A.** Vista dorsal junto con cápsula cefálica. **B.** Vista lateral con cápsula cefálica. Abreviaturas. **Cab:** cápsula cefálica; **PrA:** protórax anterior; **PrP:** protórax posterior; **mes:** mesotórax; **SPA:** espiráculo anterior.

**Abdomen (Fig. 5):** El tegumento de los segmentos abdominales 1-7 se encuentra recubierto por tubérculos de forma estrellada, siendo estos más finos y de menor densidad en el dorso del segmento 8 y en todo el segmento 9.

dorsales, plumosas e insertadas sobre tubérculos. Región ventral posee seta **4** lateral, con forma plumosa e insertada sobre tubérculo; de las otras setas ventrales del sistema de Forattini (1973) (**8, 9, 02** y **b**), no se contó con electronografías *ad hoc*.

**Segmentos abdominales 1-7:** Setas **1, 2, 3** y **01**

**Segmento abdominal 8:** Setas **1, 2** y **3** plumosas;



a espiniforme, y 3 en posición lateral. Todas las setas insertadas sobre tubérculos. Setas 4, 5, 6 y 7 ventrales e insertadas sobre tubérculos. 6 espiniforme, restantes plumosas con escasa pilosidad. El espiráculo posterior (SPP) se observa lateralmente entre setas 2 y 3; su porción periférica consta de 12 conspicuas papilas espiraculares.

**Segmento abdominal 9:** La región dorsal exhibe borde posterior de placa tergal con peine que consta de 20 - 21 dientes. Setas 1 y 3 plumosas e insertadas sobre tubérculos prominentes; la 1 con menor pilosidad. Setas caudales 2B y 2B insertadas sobre prominentes lóbulos (LO). Se detectó una seta no señalada en el sistema de Forattini (1973) (Fig. 5A). Setas 4, 5, 6, 7 y 8 ventrales, espiniformes, insertadas sobre tubérculos conspicuos.

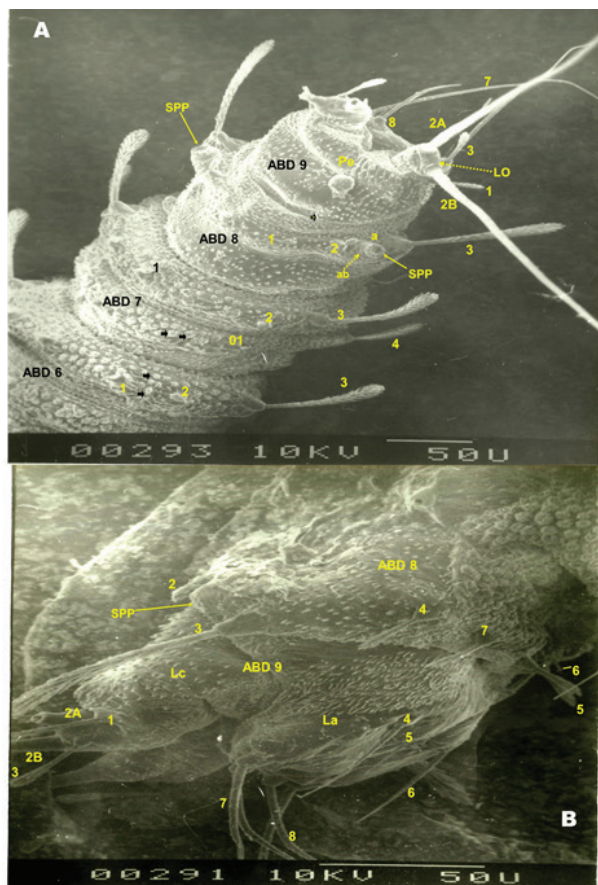


Figura 5. Micrografía electrónica de barrido (SEM) de la morfología y quetotaxia de segmentos abdominales de larvas del estadio IV de *Micropygomyia (Sauromyia) trinidadensis*. **A.** Vista dorso-lateral de segmentos 6, 7, 8 y 9. **B.** Vista lateral de segmentos 8 y 9. Abreviaturas. **ABD 6:** segmento abdominal 6; **ABD 7:** segmento abdominal 7; **ABD 8:** segmento abdominal 8; **ABD 9:** segmento abdominal 9; **ab:** abultamiento globular del espiráculo; **lc:** lóbulo caudal; **lo:** lóbulo de setas caudales; **pe:** peine de noveno segmento; **SPP:** espiráculo posterior. Las flechas negras señalan los tubérculos del tegumento de forma estrellada, y la amarilla gruesa una seta no referida en el sistema de numeración de Forattini (1973).

### Quetotaxia de pupa (Fig. 6)

Sólo se logró obtener electronografías de la región cefálica y protórax, observadas frontalmente. Se captó las setas 01 (pre-clipeal interna), 02 (pre-clipeal externa), 1 (clipeal), 2A (frontal inferior), 2B (frontal superior), 3 (vertical), 4 (post-ocular superior), 5 (post-ocular media), 6A (post-ocular interna), 6B (post-ocular inferior externa) y 10 (pre-alares). Las setas pre-alares son largas y delgadas con puntas afiladas; las restantes son simples y espiniformes.

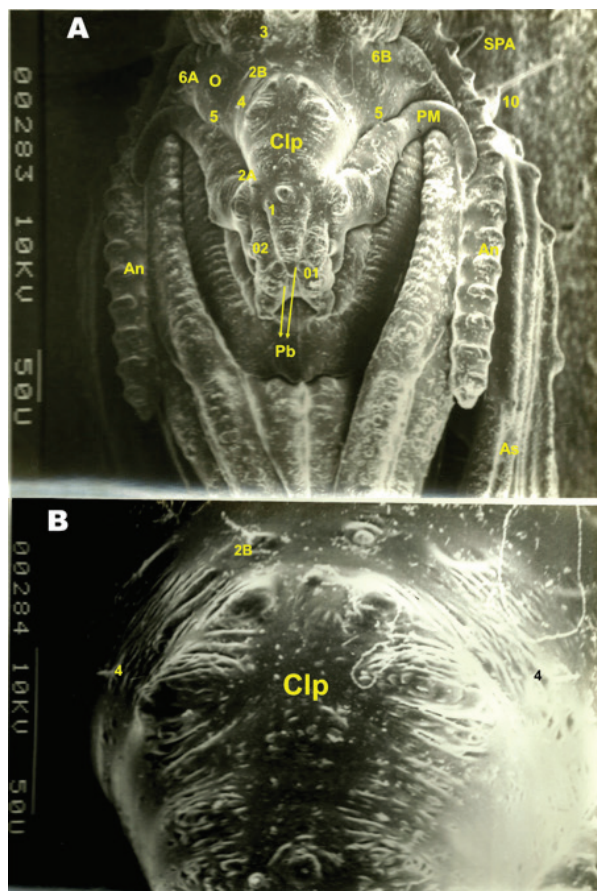


Figura 6. Micrografía electrónica de barrido (SEM) de la morfología y quetotaxia de pupas de *Micropygomyia (Sauromyia) trinidadensis*. **A.** Vista frontal de región cefálica y protorácica (cefalo-tórax). **B.** Magnificación del clípeo. Abreviaturas. **An:** antena; **As:** alas; **Clp:** clípeo; **Pb:** piezas bucales; **PM:** palpómero maxilar; **SPA:** espiráculo anterior

### DISCUSIÓN

El esculpido exo-coriónico de los huevos de *Mi. (Sau.) trinidadensis* obtenidos en el presente estudio a partir de hembras flebotomínicas de Trujillo, región andino-venezolana, muestra un patrón poligonal similar

al observado por Feliciangeli *et al.* (1993) en ejemplares de la misma especie de San Esteban, estado Carabobo, región Central de Venezuela, ubicada a 85 m de altitud. Esto hace presumir la estabilidad de este carácter desde un punto de vista taxonómico para la identificación de esta especie flebotomina; sin embargo, en otras especies, *e.g.*, *Lu. (Tricholateralis) gomezi*, se ha detectado diferencias intraespecíficas (Ward y Ready 1975, Zimmerman *et al.* 1977, Feliciangeli *et al.* 1993), e inclusive dos taxones paleotropicales de flebotominos de Kenia (*Phlebotomus aculeatus* y *P. martini*), no pudieron ser diferenciadas por sus patrones ovals exo-coriónicos, mostrando también una amplia variedad intraespecífica, lo que no se pudo explicar como una variación geográfica, tal como se sugiere para *Lu. (Trl.) gomezi* (Zimmerman *et al.* 1977), toda vez que todas las hembras capturadas procedían de la misma localidad o región (Rogo *et al.* 1992). Al igual como se observó en el presente estudio, en huevos de poblaciones colombianas de las especies *Pintomyia (Pifanomyia) youngi* y *Pi. (Pif.) evansi*, Sierra *et al.* (2000) encontraron similares patrones de esculpido exo-coriónico a los detectados por Feliciangeli *et al.* (1993) en poblaciones de la misma especie muestreadas en Venezuela. Para Sierra *et al.* (2000), esta homogeneidad en el patrón exo-coriónico no pareciera reflejar las diferencias de microhábitas donde las hembras flebotominas oviponen, tal como se ha sugerido por ejemplo para otras especies (*e.g.*, *Psychodopygus panamensis*, *Bichromomyia flaviscutellata*: Ward y Ready 1975) (*Nyssomyia neivai*, *N. intermedia*: Costa *et al.* 2012); esta presunción se basa en que los surcos y protuberancias superficiales del corión protegerían a los huevos de la desecación del medio externo, y funcionarían como un “*plastrón*” por donde éstos respiran, siendo por ello una adaptación eco-fisiológica (Ward y Ready 1975, Endris *et al.* 1987, Fausto *et al.* 2001, Costa *et al.* 2012). De toda esta discusión se deriva la apreciación de que cada taxón debe analizarse en particular, ya que para establecer pautas más amplias y generalizadas debe tenerse en cuenta los patrones exo-coriónicos de muchas más especies flebotominas; tarea nada fácil, debido a la dificultad para detectar y recolectar los huevos en la naturaleza, y los problemas y limitaciones de tipo técnico para la cría de flebotominos en condiciones de laboratorio.

Tomando en cuenta la morfología de las antenas, Leite y Williams (1996) propusieron agrupar las larvas estadio IV de los flebotominos neotropicales en cuatro categorías. Por lo que de acuerdo con este sistema, las larvas de *Mi. (Sau.) trinidadensis* se ubicarían en la categoría *iv*, por presentar un tubérculo antenal anular, un

segmento basal corto y el distal ovoide (Leite y Williams 1996). Igual ubicación tendría *Mi. (Sau.) oswaldoi*, la otra especie de la Serie *Oswaldoi* hasta ahora descrita, de acuerdo con las observaciones hechas por Mangabeira (1942). Las observaciones ultramorfológicas dadas en el presente trabajo en las antenas de larvas IV de *Mi. (Sau.) trinidadensis*, coinciden con las descritas por Hanson (1968) bajo microscopía de luz en especímenes de Panamá; este último investigador observó que las larvas de *Mi. (Sau.) trinidadensis* son excavadoras en sus hábitos alimentarios, al formar túneles en el sustrato, por lo que las especies flebotominas que poseen este tipo antenal se consideran excavadoras (*burrow*); de allí que *Mi. (Sau.) oswaldoi* tendría similar actividad.

De acuerdo a las descripciones dadas por Mangabeira (1942), Hanson (1968) y las del presente trabajo, las diferencias más notorias en la quetotaxia entre *Mi. (Sau.) trinidadensis* y *Mi. (Sau.) oswaldoi* se observa en las setas **8** y **9** del protórax posterior, **1** y **2** del meso/metatórax y segmentos abdominales 1-7, y la **2** del segmento abdominal 8, al ser estas ostensiblemente de mayor longitud.

La estructura ultra-morfológica de los espiráculos de *Mi. (Sau.) trinidadensis* obtenidos en el presente estudio de la región andino-venezolana, son similares al observado por Fausto *et al.* (1998) en ejemplares de la misma especie de la región central del país. Esto sugiere que se podría considerar un carácter taxonómico estable para este taxón. En varias especies flebotominas, el aspecto y número de papilas de los espiráculos muestra una amplia variedad, aunque aún se considera que existen muy pocas descripciones para llegar a conclusiones definitivas (Fausto *et al.* 1998, 1999, Pessoa *et al.* 2000). Se ha detectado que el tipo de espiráculos en la familia Psychodidae se encuentra íntimamente relacionado con las adaptaciones respiratorias de los estadios larvales a su medio; así, las larvas acuáticas poseen un sifón respiratorio, del cual carecen aquellas que se desarrollan en ambientes con materia orgánica en descomposición (Killick-Kendrick *et al.* 1992, Fausto *et al.* 1998, 1999). Como bien lo indican Fausto *et al.* (1998), es necesario determinar las características ecológicas de los hábitats de las larvas de muchas especies flebotominas, esto con la finalidad de establecer con certeza el significado adaptativo de la variabilidad morfológica observada en los espiráculos.

Es significativo resaltar el hallazgo en la región cefálica (Fig. 2B) de una posible sensila entre las antenas y la seta **4**; y de que el órgano antenal (Fig. 3B) posea la

función olfativa de los ascoides como en las antenas de los flebotominos adultos, tal como lo sugieren Pessoa *et al.* (2001). Mediante la MEB, cada vez se describen nuevas estructuras (papilas, sensilas, tubérculos, entre otros) en varias regiones anatómicas de los estadios inmaduros de la subfamilia Phlebotominae (Leite y Williams 1996, 1997, Pessoa *et al.* 2001), cuya significancia taxonómica y eco-fisiológica aún espera por dilucidarse. En este mismo sentido, mediante microscopía de luz, Arrivillaga *et al.* (1999) estudiando la morfología y quetotaxia de la cápsula cefálica de cinco especies de *Lutzomyia* spp., incluida *Mi. (Sau.) trinidadensis*, llegaron a la conclusión que se debe separar las setas de la cápsula cefálica de aquellas de la región bucal, ya que estas últimas poseen un valor adaptativo; ellos consideraron que “*la confusión del procéfalo con la región gnatal por los diferentes autores probablemente ha sido la causa de los diferentes sistemas de quetotaxia propuestos y la poca uniformidad de dicha nomenclatura en larvas de flebotomos*”. Estos autores inclusive detectaron nuevas estructuras, proponiendo un nuevo sistema para la quetotaxia de la cápsula cefálica, el cual deberá tomarse en cuenta para alcanzar un consenso.

A lo sumo se han descrito y caracterizado como máximo el 2% de los estadios inmaduros de especies Neotropicales de la subfamilia Phlebotominae; y aunque los caracteres pre-imaginales se consideran tan importantes como los imaginales (van Emden 1957, Pessoa *et al.* 2001), no obstante, para llegar a conclusiones definitivas o aproximaciones con relación a la relevancia de los hallazgos ultramorfológicos pre-imaginales sobre la taxonomía y sistemática de los flebotominos, pareciera existir un consenso general en que es necesario el estudio y descripción de un mayor número de especies.

#### AGRADECIMIENTOS

Dr. Ernesto Palacios Prú†, Director del Centro de Microscopía Electrónica de la Universidad de Los Andes, Mérida, estado Mérida, Venezuela.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AÑEZ N, OVIEDO M. 1985. Two new larval diets for rearing sandflies in the laboratory. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 79(5):739-740.
- ARRIVILLAGA J, NAVARRO J, FELICIANGELI D. 1999. Morfología y quetotaxia del tagma cefálico larval de *Lutzomyia* França 1924 (Diptera: Psychodidae): Proposición de un sistema de nomenclatura. *Bol. Entomol. Venez.* 14(1):1-13.
- BONFANTE-GARRIDO R, URDANETA R, URDANETA I, ALVARADO J. 1990. Natural infection of *Lutzomyia trinidadensis* (Diptera: Psychodidae) with *Leishmania* in Barquisimeto, Venezuela. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 85(4):477.
- BONFANTE-GARRIDO R, URDANETA R, URDANETA I, ALVARADO J, PERDOMO R. 1999. Natural infection of *Lutzomyia rangeliana* (Ortiz, 1952) (Diptera: Psychodidae) with *Leishmania* in Barquisimeto, Lara state, Venezuela. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 94(1):11.
- CAZORLA D. 2001. Descripción y quetotaxia del IV estadio larval de *Lutzomyia (Micropygomyia) atroclavata* Knab, 1913 (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Rev. Chil. Entomol.* 28:25-31.
- CAZORLA D, OVIEDO M. 1998. Quetotaxia del IV estadio larval de *Lutzomyia youngi* Feliciangeli & Murillo, 1987 (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.* 38(2):109-118.
- CAZORLA D, OVIEDO M. 2001. Quetotaxia del IV estadio larval de *Lutzomyia (Nyssomyia) hernandesi* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). *Rev. Colomb. Entomol.* 27 (3-4):153-158.
- CAZORLA D, OVIEDO M, VIVENES M. 2010. Redescrpción de la quetotaxia del cuarto estadio larval de *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). *Rev. Colomb. Entomol.* 36(1):76-81.
- CHRISTENSEN H, TELFORD S. 1972. *Trypanosoma thecadactyli* sp. n. from forest greckoes in Panama, and its development in the sandfly *Lutzomyia trinidadensis*. *J. Protozool.* 19(3):403-406.
- COSTA W, COSTA S, RANGEL E, SANTOS-MALLET J, SERRÃO J. 2012. Eggshell as a characteristic to identify *Lutzomyia (Nyssomyia) intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) and *Lutzomyia (Nyssomyia) neivai* (Pinto, 1926) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), vectors of cutaneous leishmaniasis. *Rev. Pan-Amaz. Saude.* 3(1):19-24.
- ENDRIS R, YOUNG D, PERKINS P. 1987. Ultrastructural comparison of egg surface morphology of five *Lutzomyia* species (Diptera: Psychodidae). *J.*



- Med. Entomol. 24(4):412-415.
- EWEL J, MADRIZ A, TOSI JR. J. 1976. Zonas de Vida de Venezuela. Memoria explicativa sobre el mapa ecológico. 2ª ed. Editorial Sucre, Caracas, Venezuela, pp. 270.
- FAUSTO A, FELICIANGELI M, MAROLI M, MAZZINI M. 1998. Morphological study of the larval spiracular system in eight *Lutzomyia* Species (Diptera: Psychodidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 93(1):71-79.
- FAUSTO A, TADDEI A, MAROLI M, MAZZINI M. 1999. Morphology and ultrastructure of spiracles in phlebotomine sandfly larvae. Med. Vet. Entomol. 13(1):101-109.
- FAUSTO A, FELICIANGELI M, MAROLI M, MAZZINI M. 2001. Ootaxonomic investigation of five *Lutzomyia* species (Diptera, Psychodidae) from Venezuela. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 96(2):197-204.
- FELICIANGELI M. 1988. La fauna flebotómica (Diptera: Psychodidae) en Venezuela. I.-Taxonomía y distribución geográfica. Bol. Dir. Malariol. San. Amb. 28(3-4):99-113.
- FELICIANGELI M. 1991. Vectors of leishmaniasis in Venezuela. Parassitologia. 33(Suppl 1):229-236.
- FELICIANGELI M, CASTEJON O, LIMONGI J. 1993. Egg surface ultrastructure of eight New World phlebotomine sand fly species (Diptera: Psychodidae). J. Med. Entomol. 30(4):651-656.
- FORATTINI O. 1973. Subfamilia Phlebotominae-morfología e classificação. En: Entomología médica. IV.- Psychodidae. Phlebotominae. Leishmanioses. Bartonelose. Ed. Edgar Blucher, São Paulo, Brasil, pp. 66-118.
- GALATI E. 2012. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae): Classificação, morfologia, terminologia e identificação de adultos. Apostila da Disciplina HEP 5752- Bioecologia e identificação de Phlebotominae. Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, São Paulo, Brasil, pp. 121.
- HANSON W. 1968. The immature stages of the subfamily Phlebotominae in Panama (Diptera, Psychodidae). Kansas, USA: University of Kansas, Department of Entomology [Dissertation Doctor of Philosophy], pp. 104.
- KILLICK-KENDRICK R, SIRDAR M, KILLICK-KENDRICK M. 1992. Lack of outer caudal setae as constant feature of *Phlebotomus tobbi* larvae. Med. Vet. Entomol. 6(2):171-172.
- LEITE A, WILLIAMS P. 1996. Description of the fourth instar larva of *Lutzomyia longipalpis*, under scanning electron microscopy. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 91(5):571-578.
- LEITE A, WILLIAMS P. 1997. The first instar larva of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Phlebotomidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 92(2):197-203.
- LEITE A, WILLIAMS P, DOS SANTOS M. 1991. The pupa of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae-Phlebotominae). Parassitologia. 33(Suppl.1):477-484.
- MANGABEIRA O. 1942. 11ª contribuição ao estudo dos *Phlebotomus* (Diptera: Psychodidae) *Phlebotomus oswaldoi* Mangabeira, 1942. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 37(3):287-295.
- MARCONDES C. 2007. A proposal of generic and subgeneric abbreviations for phlebotomine sandflies (Diptera: Phlebotominae) of the world. Entomol. News. 188(4):351-356.
- PESSOA F, QUEIROZ R, WARD R. 2000. Posterior spiracles of fourth instar larvae of four species of Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) under Scanning Electron Microscopy. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 95(5):689-691.
- PESSOA F, QUEIROZ R, WARD R. 2001. External morphology of sensory structures of fourth instar larvae of Neotropical species of Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) under Scanning Electron Microscopy. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 96(8):1103-1108.
- ROGO L, KOKWARO E, MUTINGA M, KHAMALA C. 1992. Differentiation of vector species of phlebotominae (Diptera: Psychodidae) in Kenya by chorionic sculpturing of their eggs. J. Med. Entomol. 29(6):1042-1044.

- SCORZA J, MOGOLLÓN J, MANZANILLA P. 1979. Notas etológicas sobre *Lutzomyia trinidadensis* (Newstead) (Diptera, Psychodidae) de Venezuela. Bol. Dir. Malariol. San. Amb. 19(2):3538.
- SIERRA D, VÉLEZ I, URIBE S. 2000. Identificación de *Lutzomyia* spp. (Diptera: Psychodidae) grupo *verrucarum* por medio de microscopía electrónica de sus huevos. Rev. Biol. Trop. 48(2-3):615-622.
- VAN EMDEN F. 1957. The taxonomic significance of the characters of immature insects. Annu. Rev. Entomol. 2:91-106.
- WARD R, READY P. 1975. Chorionic sculpturing in some sandfly eggs (Diptera, Psychodidae). J. Entomol. A. 50(2):127-134.
- WILLIAMS P. 1988. Notes on *Lutzomyia* (*Helcocyrtomyia*) *trinidadensis* (Newstead, 1922) (Diptera: Psychodidae- Phlebotominae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 83(3):375-383.
- ZELEDÓN R, MACAYA G, PONCE C, CHAVES F, MURILLO J, BONILLA J. 1982. Cutaneous leishmaniasis in Honduras, Central America. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 76(2):276-277.
- ZIMMERMAN J, NEWSON H, HOOPER G, CHRISTENSEN H. 1977. A comparison of the egg surface structure of six anthropophilic phlebotomine sand flies (*Lutzomyia*) with the scanning electron microscope (Diptera: Psychodidae). J. Med. Entomol. 13(4-5):574-579.
- YOUNG D, DUNCAN M. 1994. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in México, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Memories of the American Entomological Institute, Number 54. Associated Publishers, Gainesville, Florida, USA, pp. 881.