CICLO DE VIDA DE Lutzomyia spinicrassa, L. quasitownsendi y L. youngi, ESPECIES DEL GRUPO VERRUCARUM (DIPTERA: PSYCHODIDAE)

LIFE CYCLE OF Lutzomyia spinicrassa, L. quasitownsendi and L. youngi, SAND FLY SPECIES OF THE VERRUCARUM GROUP (DIPTERA: PSYCHODIDAE)

Olga Lucía Cabrera¹ y Cristina Ferro²

Resumen

En el presente trabajo se describen bajo condiciones experimentales los ciclos de vida de tres especies de flebótomos, probables vectores de leishmaniasis cutánea en los Andes de Colombia, Lutzomyia spinicrassa, L. quasitownsendi y L. youngi (Diptera: Psychodidae), ampliando de esta forma el conocimiento de su biología y comportamiento. Las crías se obtuvieron a partir de hembras alimentadas provenientes del campo y mantenidas individualmente. Los estadios inmaduros se desarrollaron a una temperatura diaria entre 22 y 28 °C y una humedad relativa entre 90 y 98%. Los periodos de duración de huevo a adulto para cada especie fueron: para L. spinicrassa, entre 49 y 95 días ($\bar{x} = 75.47$); para L. quasitownsendi, entre 48 y 94 ($\bar{x} = 69.85$); y para L. youngi, entre 46 y 80 ($\bar{x} = 61.07$). La esperanza de vida para los adultos hembras, en el orden mencionado, fue de 9.3, 7.49 y 8.4 días, y para los machos 11.1, 10.72 y 7.0. En promedio, cada hembra ovipositó 21.78 huevos (L. spinicrassa), 27.55 (L. quasitownsendi) y 20.65 (L. youngi). Los más altos índices de mortalidad se observaron en el estadío de huevo para las tres especies.

Palabras clave: Lutzomyia spinicrassa, L. quasitownsendi, L. youngi, grupo verrucarum, ciclo de vida, Colombia.

Abstract

In the present study we described under laboratory conditions life cycles of three sand fly Lutzomyia species, probable vectors of cutaneous leishmaniasis on the Andes mountains in Colombia, L. spinicrassa, L. quasitownsendi and L. youngi, thus improving knowledge on their biology and behaviour. Single females progeny was obtained from wild-caught, engorged sand flies. Immature stage broods were mantained at daily temperatures between 22 and 28 °C and relative humidity between 90 and 98%. The entire period from egg to adult in each species was as follows: Lutzomyia spinicrassa, between 49 and 95 days ($\bar{x} = 75.47$); Lutzomyia quasitownsendi, between 48 and 94 ($\bar{x} = 69.80$); and Lutzomyia youngi, between 46 and 80 ($\bar{x} = 61.07$). The mean life expectancy of adult females was: L. spinicrassa, 9.3 days; L. quasitownsendi, 7.49; and L. youngi, 8.4; and for males, 11.1, 10.72 and 7.0, respectively. On average, each female oviposited 21.78 eggs (L. spinicrassa), 27.55 (L. quasitownsendi) and 20.65 (L. youngi). The highest mortality was observed in eggs for all three species.

Key words: Lutzomyia spinicrassa, L. quasitownsendi, L. youngi, verrucarum group, life cycle, Colombia.

INTRODUCCIÓN

A pesar de la importancia que en salud pública tienen algunas especies del género *Lutzomyia* por el papel que desempeñan en la transmisión de enfermedades, la información básica sobre ciclo de vida es muy escasa, debido principalmente a la dificultad que existe para hacer observaciones

en el campo y mantener estos pequeños dípteros en condiciones de laboratorio. Menos de un 10% de las 400 especies registradas para el Nuevo Mundo han sido criadas por varias generaciones consecutivas en cautiverio (Christensen, 1972; Killick-Kendrick et al., 1977; Morales et al.,

Recibido: noviembre de 1999; aprobado para publicación: marzo de 2000.

¹ olgalu27@starmedia.com.

² mferro@hemagogus.ins.gov.co.

1984; Rangel et al., 1985; Neira et al., 1998; Ferro et al., 1998; Montoya et al., 1998; Cabrera et al., 1999). Algunas de las especies de Lutzomyia del grupo verrucarum, incluidas en la serie townsendi (L. spinicrassa, L. longiflocosa, L. youngi, L. torvida, L. quasitownsendi y L. townsendi), son asociadas frecuentemente con casos de leishmaniasis cutánea y mucocutánea, especialmente en focos de Leishmania (Viannia) braziliensis, Vianna 1911 (Lainson, 1983). Presentan una distribución restringida a Colombia, Venezuela y Costa Rica, sobre los valles interandinos alrededor de 1.500 m de altitud en áreas alteradas ecológicamente donde se cultiva principalmente café (Coffea arabica); registran la más alta densidad en periodos de precipitación de baja a moderada (Scorza y Rojas, 1988; Alexander et al., 1995; Pardo et al., 1999); entre ellas presentan casi siempre distribución alopátrica, pero comparten el hábitat con otras especies del grupo verrucarum del subgénero Helcocyrtomyia y ocasionalmente se registra la presencia de L. shannoni cuando los muestreos se realizan por debajo de 1.500 m. En nuestro país, algunos estudios de estos flebotominos generalmente se han llevado a cabo motivados por el incremento en el registro de casos de leishmaniasis (comunicación verbal del Laboratorio de Entomología del Instituto Nacional de Salud, INS), en el que se nota la presencia de una especie de la serie townsendi (Warburg et al., 1991; Tesh, 1986; Alexander et al., 1995; Ferro et al., 1998; Cárdenas et al., 1999) como la más abundante.

Con respecto a las especies objeto de estudio en el presente trabajo se conoce que L. spinicrassa, Morales, Osorno, Osorno & Hoyos 1969 es la única especie a la cual se le han aislado flagelados de L(V) braziliensis (Young et al., 1987; Feliciangeli et al., 1992; Maingon et al., 1993), lo que la convierte en el más probable vector de la enfermedad en Colombia y Venezuela. Su distribución geográfica corresponde a los departamentos de Norte de Santander y Boyacá. En el estudio realizado en el nororiente del país se encontró en

el área periférica del municipio de Durania (Norte de Santander) (datos no publicados, Laboratorio de Entomología del INS). Por su parte, ejemplares de L. quasitownsendi, Osorno, Osorno & Morales 1972, capturados en Landázuri (Santander), se encontraron naturalmente infectados con flegelados, lo cual la postula como posible vector de la enfermedad en esa localidad. En recientes estudios se registró su presencia en barrios periféricos de la ciudad de Bucaramanga (Sandoval et al., 1998). La distribución de esta especie se amplía a los departamentos de Boyacá y Norte de Santander. Finalmente, L. youngi, descrita originalmente por Feliciangeli y Murillo (1987), es considerado vector de L. (V) braziliensis en Venezuela, en Costa Rica está comprometida con la transmisión de L.(V) panamensis (Feliciangeli et al., 1992) y en Colombia parece estar desempeñando un papel importante en la transmisión de L(V) brazilienis en dos áreas endémicas de LC ubicadas en los departamentos de Antioquia (Wolff, 1994) y Valle del Cauca (Montoya et al., 1990).

En ensayos experimentales se ha observado la alta susceptibilidad para infectarse con diferentes especies de Leishmania (Feliciangeli, 1991); ensayos de este tipo se realizaron con L. longiflocosa y L. torvida (serie townsendi) (Santamaría et al., 1999). L. youngi es considerada en Venezuela como una especie suburbana (Castro y Scorza, 1977), y en nuestro país se registra su alto carácter endofílico (62.5%) (Alexander et al., 1995); este último comportamiento se ha observado en otras especies del grupo verrucarum (Pardo et al., 1999; Cárdenas et al., 1999).

Con el fin de contribuir con los estudios de bionomía adelantados hasta el momento, en el presente trabajo se determinó la duración promedio de cada uno de los estadíos del ciclo de vida de tres especies de *Lutzomyia* del grupo verrucarum serie townsendi, y adicionalmente se observó el promedio de huevos ovipositados y la longevidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las capturas de los flebótomos se realizaron entre abril y diciembre de 1997, de las 18:00 a las 22:00 horas, utilizando dos métodos de captura: trampa Shannon y cebo humano (tabla 1). Cada una de las especies aquí estudiadas son reportadas como predominantes en los sitios muestreados (Young, 1979; Warburg et al., 1991). Los ejemplares capturados se trasladaron al Laboratorio de Entomología en jaulas de muscelina suministrándoles agua y solución azucarada-saturada en motas de algodón.

Tabla 1. Ubicación de los sitios de captura

Especie Sitio de captura		Ubicación	Método de captura	
L spinicrassa	Guateque (Munanta)	1.690 msnm; 18.2 °C; 5° 1' 27" N, 73° 30' 36" O	Trampa Shannon, Cebo humano	
L quasitownsendi	Santana (San Pedro)	1.780 msnm; 18.0 °C; 6° 1' 15" N, 73° 29' 28" O	Trampa Shannon, Cebo humano	
L. youngi	Tulúa (reserva natural Mateguadua)	1.150 msnm; 24.0 °C; 4° 5' N, 76° 12' O	Trampa Shannon, Cebo humano	

Cría individual

Para calcular el promedio de duración de cada uno de los estadíos del ciclo de vida de las especies estudiadas, se expusieron en el laboratorio las hembras para la ingesta de sangre sobre un hámster anestesiado, por 40 minutos (se utilizó pentotal sódico 10 mg/kg del peso del animal) (Killick-Kendrick et al., 1977), a una temperatura entre 22 y 28 °C y una humedad relativa entre 90 y 98%. Las hembras alimentadas se pusieron individualmente en vasos de cría (Endris et al., 1982) y a continuación se les dio solución azucarada y agua. Una vez que la hembra ovipositava y moría se confirmaba su identificación, considerando la presencia de otras especies del género en el sitio de muestreo.

Con la ayuda de un pincel de cerdas finas se removieron los huevos depositados en las paredes del vaso y se contaron en su totalidad; luego se humedeció la base de yeso del vaso y estas muestras se llevaron al interior de un recipiente plástico provisto de tapa y posteriormente al interior de una incubadora. Cada una de las muestras se revisó diariamente con la ayuda de un estereomicroscopio. Después de la eclosión se registró el número de larvas obtenidas por día y a partir de este momento se suministró una pequeña alícuota de alimento preparado para las larvas de insectos del género Lutzomyia (Young et al., 1981; Ferro et al., 1998); de esta manera, es decir, registrando el número de individuos que pasaban al siguiente estadío en un día, se determinó el promedio de duración. La metodología adaptada para el presente trabajo corresponde a los fundamentos básicos establecidos por Modi y Tesh (1983).

Longevidad

En la medida en que emergían los adultos, una parte se dispuso para determinar la longevidad, separando los individuos nacidos el mismo día y registrando el día en el que morían (estas réplicas se mantuvieron bajo condiciones semejantes a las descritas anteriormente). Para confirmar la especie se tomó un macho de cada cría y otro 20% de estos imagos se criopreservó para posteriores estudios isoenzimáticos. Para reforzar la colonia tan sólo hubo material disponible de Lutzomyia quasitownsendi.

Determinación del material

Los ejemplares almacenados en alcohol al 70% se aclararon con KOH al 10% y fenol. Para la determinación taxonómica se observaron las principales estructuras diagnósticas, siguiendo la clave de Young y Duncan (1994). Como referencia se utilizó la colección del INS.

RESULTADOS

La duración promedio del ciclo de vida para cada una de las especies estudiadas, en su orden L. spinicrassa, L. quasitownsendi y L. youngi, correspondió a 75.47, 69.85 y 61.07 días respectivamente, promedios ubicados entre 46 y 95 días (valor mínimo y máximo); los promedios obtenidos para cada uno de los estadíos de las tres especies estudiadas fueron valores cercanos entre sí (figura 1, tabla 2). El número promedio de huevos por hembra silvestre en el orden mencionado fue 21.78, 27.55 y 20.65, respectivamente. El promedio respectivo de vida en días para los adultos machos (longevidad) fue de 11.1, 10.72 y 7.0; para las hembras, 9.3, 7.49 y 8.4. El porcentaje más alto de mortalidad, observado durante este estudio para las tres especies (hembras silvestres), ocurrió durante el estadío de huevo, con 38.9, 19.8 y 52.8%, respectivamente (tabla 3).

DISCUSIÓN

Los estudios sobre ciclos de vida de los flebótomos son muy pocos. Las especies más estudiadas son *Phlebotomus papatasi* y *Lutzomyia longipalpis* (Killick-Kendrick *et al.*, 1991) en el Viejo y el Nuevo Mundo, respectivamente; sin embargo, pese a los pocos antecedentes, los reportes publicados permiten considerar aspectos relevantes para el desarrollo de trabajos con otras especies, inicialmente para conocer su biología y luego para continuar con estudios que faciliten reconocer el compromiso en la epidemiología de las leishmaniasis.

Los promedios para el ciclo de vida de L. spinicrassa, L. quasitownsendi y L. youngi corresponden a valores cercanos entre sí; no obstante, L. youngi fue la especie que utilizó menor tiempo para completar su desarrollo. En Venezuela reportan la duración del ciclo de vida para esta especie con valores similares: Castro y Scorza (1977) observaron 63.4 días; Áñez y Oviedo (1985) observaron 66 y 56.8; y Nieves (1995),

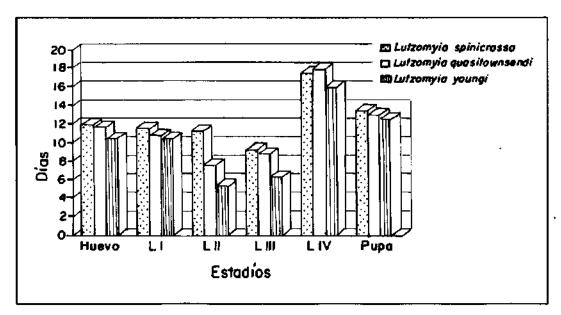


Figura 1. Comparación del ciclo de vida de Lutzomyia spinicrassa, Lutzomyia quasitownsendi y Lutzomyia youngi

Tabla 2. Ciclo de vida de tres especies de la serie townsendi: L. spinicrassa, L. quasitownsendi y L. youngi Lutzomyia spinicrassa

Estadíos	Tamaño de la muestra	Promedio	Desvinción estándar	Intervalo del 95%		Coeficiente de variación
				Limite inferior	Limite superior	
Huevo	306	12.01	2.28	11.8	12.2	19
Larva 1	278	11.61	2.90	11.3	11.9	25
Larva II	275	11.30	3.48	10.9	11.7	30.8
Larva III	273	9.25	2.31	10.0	9.5	25
Larva IV	252	17.6	2.90	17.2	17.9	16.5
Pupa	250	13.5	2.40	13.2	13.7	17.8

Lutzomyia quasitownsendi

Estadios	Tamaño de la muestra	Promedio	Desviación estándar	Intervalo del 95%		Coeficiente de variación
				Límite inferior	Límite superior	
Huevo	1193	11.67	1.9	11.6	11.8	16.3
Larva I	1160	10.71	1.59	10.8	10.6	14.8
Larva II	1131	7.52	1.38	7.4	7.6	18.4
Larva III	1127	8.79	1.47	8.7	8.9	16.7
Larva IV	1060	18.05	3.14	17.8	18.2	17.4
Pupa	997	13.11	2.29	13	13.2	17.5

Lutzomyia youngi

Estadios	Tamaño de la muestra	Promedio	Desviación estándar	Intervalo del 95%		Coeficiente de variación
				Límite inferior	Límite superior	
Huevo	205	10.38	0.7	10.3	10.5	6.7
Larva I	176	10.36	2.4	10	10.7	23.2
Larva II	169	5.4	1.5	5.2	5.6	27.8
Larva III	162	6.23	2.3	5.9	6.6	36.9
Larva IV	133	16.1	4.07	15.5	16.7	25.3
Pupa	126	12.6	3.1	12.1	13.1	24.6

Tabla 3. Porcentajes de mortalidad observados en cada uno de los estadíos de L. spinicrassa, L. quasitownsendi y L. youngi

Estadíos	Lutzomyia spinicrassa	Lutzomyia quasitownsendi	Lutzomyia youngi	
Huevo	38.9	19.8	45.9	
Larva I	9.1	2.7	13.7	
Larva II	1.08	2.5	3.97	
Larva III	0.7	0.35	4.1	
Larva IV	7.7	5.9	17.9	
Pupa	0.8	5.9	5.2	

62.2. Neira et al. (1998) determinaron la duración promedio para L. longiflocosa y L. torvida, especies de la misma serie, con valores por encima de los obtenidos en este estudio. Otros trabajos adelantados en este laboratorio con ejemplares del grupo verrucarum indican promedios de duración amplios (Morales et al., 1997) con respecto a especies de otros subgéneros. Considerando que la mayor parte de estas especies han presentado una prolongada duración desde huevo hasta la emergencia de los adultos, se recomienda el mejoramiento de las condiciones de cría en el laboratorio. La temperatura y la humedad relativa parecen ser los factores que influyen directamente en el tiempo de desarrollo de estas especies; al respecto, Cárdenas et al. (1999) indican en su trabajo que a mayor fluctuación de temperatura y baja humedad, el incremento del tiempo de duración puede alcanzar hasta dos semanas.

En las tres especies el estadío larval que requirió mayor tiempo para completar su desarrollo fue el IV, similar a lo registrado para otras especies de este género (Ferro et al., 1998; Neira et al., 1998). La mortalidad observada durante este periodo (larval) fue baja, probablemente porque la dieta larval suministrada haya ofrecido los nutrientes esenciales (proteínas) (Killick-Kendrick et al., 1997), que promovieron un desarrollo sincrónico y homogéneo. Este alimento, utilizado con pequeñas modificaciones para otras especies colonizadas en el laboratorio, ha producido efectos

semejantes (Ferro et al., 1998; Neira et al., 1998; Cabrera et al., 1999); sin embargo, esta dieta requiere otros ingredientes que generen una reducción del tiempo de desarrollo del ciclo de vida de estos insectos, especialmente sobre las larvas de IV estadío.

El elevado porcentaje de mortalidad durante el periodo de huevo para las tres especies estudiadas sugiere algunas probabilidades: prolongados periodos de desecación (Ward, 1985) al no haber suministro suficiente de humedad, o que la fertilización haya sido relativamente baja, teniendo en cuenta que las hembras fueron separadas individualmente (sin macho) después de alimentadas. Al respecto, Cárdenas et al. (1999) determinaron que la fertilización de los huevos aumentaba cuando reunían machos y hembras antes y después de la ingestión de sangre. Por otro lado, vale la pena mencionar que estas especies no presentan antecedentes de autogenia.

En conclusión, los promedios de ciclo de vida para las especies del género Lutzomyia serie townsendi son más largos que los observados en el laboratorio para otras especies; es aconsejable entonces realizar ensayos simultáneos en el laboratorio, a diferentes rangos de temperatura y humedad y con modificación en el contenido nutricional del alimento larval, con el fin de registrar alteraciones sobre el tiempo de desarrollo de los estadíos inmaduros y de esta manera generar

posiblemente mejores opciones que incidan en la disminución del tiempo consumido para completar sus ciclos de vida y lograr así establecer colonias por varias generaciones consecutivas.

REFERENCIAS

- Alexander B, Usma MC, Cadena H, Quesada BL, Solarte Y, Roa W, Montoya J, Jaramillo C. 1995. Phlebotomine sandflies associated with a focus of cutaneous leishmaniasis in Valle del Cauca, Colombia. Med Vet Entomol 9:273-278.
- Affez N, Oviedo M. 1985. Two new larval diets for rearing sandflies in the laboratory. Trans Royal Soc Trop Med Hyg 79:739-740.
- Cabrera OL, Neira M, Bello F, Ferro C. 1999. Ciclo de vida y colonización de Lutzomyia ovallesi (Diptera: Psychodidae), vector de Leishmania spp. en América Latina. Biomédica 19(4): 223-229.
- Cárdenas E, Ferro C, Corredor D, Martínez O, Munstermann L. 1999. Reproductive biology of Lutzomyia shannoni (Dyar) (Diptera: Psychodidae) under experimental conditions. J Vector Ecol 24 (2):158-170.
- Cárdenas R, Romo G, Santamaría E, Bello F, Ferro C. 1999. Lutzomyia longiflocosa (Diptera: Psychodidae) posible vector en el foco de leishmaniasis cutánea del municipio de Planadas, zona cafetera del Tolima. Biomédica 19(3):239-244.
- Castro TA, Scorza JV. 1977. Cultivo de Lutzomyia townsendi (Ortiz 1959) (Diptera: Psychodidae) a partir de una población alotrópica del estado de Mérida, Venezuela. Bol Dir Mal San Amb 17(3):224-229.
- Christensen HA. 1972. Colonization of Lutzomyia trinidadensis and L. vespertilionis (Diptera: Psychodidae). Ann Entomol Soc Amer 65(3):683-686.
- Endris RG, Perkins PV, Young DG, Johnson RN. 1982. Techniques for laboratory rearing of sand flies (Diptera: Psychodidae). *Mosquitos News* 42(3):400-407.
- Feliciangeli MD, Arredondo C, Ward R. 1992. Phlebotomine sand flies in Venezuela: review of the verrucarum species group (III part) of Lutzomyia (Diptera: Psychodidae) with description of a new species from Lara. J Med Entomol 29:5 729-744.
- Feliciangeli MD. 1991. Vectors of leishmaniasis in Venezuela. Parassitologia (Suppl 1):229-236.
- Ferro C, Cárdenas E, Corredor D, Morales A, Munstermann L. 1998. Life cycle and fecundity analisis of *Lutzomyia* shannoni (Dyar) (Diptera: Psychodidae). Mem Inst Oswaldo Cruz 93:195-199.
- Killick-Kendrick M, Killick-Kendrick R, Áfiez N, Nieves E, Scorza JV, Tang Y. 1997. The colonization of Lutzomyia youngi and the putative role of free-living nematodes in the biology of phlebotomine sandfly larvae. Parasite 4: 269-271.
- Killick-Kendrick R, Maroli M, Killick-Kendrick M. 1991. Bibliography on the colonization of phlebotomine sanflies. Parassitologia (Suppl 1):321-333.
- Killick-Kendrick R, Leaney AJ, Ready PD. 1977. The establishment, maintenance and productivity of a laboratory colony of Lutzomyia longipalpis (Diptera: Psychodidae). J Med Ent 13(4-5):429-440.

- Lainson R. 1983. The american leishmaniasis: some observations on their ecology and epidemiology. Trans Royal Soc Trop Med Hyg 77:569-596.
- Maingon R, Feliciangeli MD, Ward R, Chance M, Adamson R, Rodríguez N, Convit J, Petralanda J, Hernández A, Segovia M. 1993. Molecular approaches applied to the epidemiology of Leishmania in Venezuela. Arch Inst Pasteur Tunis 70:3-4, 309-324.
- Modi GB, Tesh RB. 1983. A simple technique for mass rearing Lutzomyia longipalpis and Phlebotomus papatasi (Diptera: Psychodidae) in the laboratory. J Med Entomol 20:568-569.
- Montoya J, Cadena H, Jaramillo C. Rearing and colonization of Luszomyia evansi (Diptera: Psychodidae), a vector of visceral Leishmaniasis in Colombia. Mem Inst Oswaldo Cruz 1998; 93(2):263-268.
- Montoya J, Jaramillo C, Palma G, Gómez T, Segura I, Travi B. 1990. Report of an epidemic outbreak of tegumentary leishmaniasis in a coffe-growing area of Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 85:1 119-121.
- Morales A, Suárez HM, Cabrera OL, Neira M, Bello F, Ferro C. 1997. Colonización de algunas especies de *Lutzomyia* de la serie townsendi, grupo verrucarum, presentes en Colombia (Diptera: Psychodidae). Biomédica 17(1):2.
- Morales A, Ferro C, De Rodríguez C. 1984. Establecimiento de una colonia de *Lutzomyia walkeri* (Newstead, 1914) (Diptera: Phlebotominae). *Biomédica* 4(1):37-41.
- Neira M, Díaz-Martínez A, Bello F, Ferro C. 1998. Estudio en condiciones de laboratorio de los ciclos de vida de Lutzomyia torvida y Lutzomyia longiflocosa (Diptera: Psychodidae), posibles vectores de Leishmania braziliensis en la zona cafetera colombiana. Biomédica 18:4 251-255.
- Nieves E. 1995. Problemas de colonización de especies flebotominas bajo condiciones de laboractorio con especial referencia a Lutzomyia youngi, Lutzomyia ovallesi y Lutzomyia migonei. Tesis, Universidad de los Andes, Santafé de Bogotá.
- Pardo R, Ferro C, Lozano G, Lozano CA, Cabrera OL, Davies C. 1999. Flebótomos (Diptera: Psychodidae) vectores de leishmaniasis cutánea y sus determinantes ecológicos en la zona cafetera del departamento del Huila. 26 Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología, SOCOLEN. pp. 147-163.
- Rangel EF, De Souza NA, Wermelinger ED, Barbosa AF. 1985. Establecimiento de colonia, em laboratorio, de *Lutzomyia* intermedia Lutz & Neiva, 1912 (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). Mem Inst Oswaldo Cruz 80:2 219-226.
- Sandoval M, Angulo VM, Gutiérrez R, Muñoz G, Ferro C. 1998. Especies de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) posibles vectores de leishmaniasis en la ciudad de Bucaramanga. Santander, Colombia. *Biomédica* 18:2 161-168.

- Santamaría E, Castillo M, Cárdenas R, Bello F, Ayala M, Ferro C. 1999. Competencia vectorial de las especies del grupo verrucarum (Diptera: Psychodidae) en un foco endémico de Leishmania braziliensis en Reventones, Cundinamarca. Biomédica 19(2):115-126.
- Scorza JV, Rojas E. 1988. Caficultura y leishmaniasis tegumentaria en Venezuela. Bol Dir Mal San Amb 28(3-4):114-127.
- Tesh R, Boshell J, Young DG, Morales A.. 1986. Biology or Arboledas virus, a new phlebotomus fever serogroup virus (Bunyaviridae: Phlebovirus) isolated from sand flies in Colombia. Am J Trop Med Hyg 35(6):1310-1316.
- Warburg A, Montoya J, Jaramillo C, Cruz AL, Ostrovska K. 1991. Leishmaniasis vector potential of *Lutzomyia* spp. in Colombian coffee plantations. *Med Vet Entomol* 5:9-16.
- Ward RD. 1985. Vector biology and control. Leishmaniasis. Elsevier, New York, pp.199-212.
- Wolff M. 1994. Flebotominos en el departamento de Antioquia: informe de la presencia de nuevas especies para la región. Entomólogo 22(77):2-6.

- Young DG, Duncan M. 1994. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Memories of the American Entomological Institute, number 54.
- Young DG, Morales A, Kreutzer RD, Alexander JB, Corredor A, Tesh RB. 1987. Isolations of Leishmania braziliensis from criopreserved colombian sand flies (Diptera: Psychodidae). J Med Entomol 24:587-589.
- Young DG, Perkins PV, Endris RG. 1981. A larval diet for rearing phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). J Med Entomol 18:446.
- Young DG. 1979. A review of the bloodsucking Psychodid flies of Colombia (Diptera: Phlebotominae and Sycoracinae). Tech Bull 806, Agric Exp Stations, IFAS, Univ. Florida, Gaines Ville, USA.