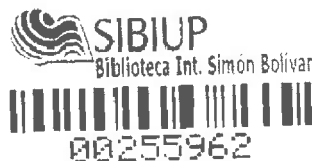




UNIVERSIDAD DE PANAMA
VICERRECTORIA DE INVESTIGACION Y POSTGRADO
PROGRAMA DE MAESTRIA EN ENTOMOLOGIA



COLONIZACION DE Lu. gomezi (Díptera: Psychodidae) Y SU CAPACIDAD
DE PICADA FRENTE A EXTRACTOS DE PLANTAS Momordica charantica y
Genipa americana COMO REPELENTES

Por:

Gloria Dávila

Tesis presentada como uno de los
requisitos para optar por el grado
de Master en Entomología Médica.

Panamá, República de Panamá

1986

16836

Abeyasis de Autor

26 FEB 2009

ST

DEDICATORIA

Esta tesis la dedico a mi esposo José N. De Obaldía C., quien en todo momento me estimuló a seguir adelante durante los años de estudio.

Asi como a mis queridas hijas, Aracelly, Tanya y Jovanna.

GLORIA

A G R A D E C I M I E N T O

Deseo expresar mi más profundo agradecimiento al Dr. Byron Chaniotis por sus desvelos, atinados consejos y palabras de aliento, que en todo momento supo prodigarme.

También deseo dejar constancia de mi agradecimiento al Dr. Abdiel J. Adames, Dr. Mahabir P. Gupta, Dr. Howard Christensen y Dr. Cheslavo Koritkowsky.

Así como a todos mis compañeros quienes conformaron mi grupo de estudio al cual pertenezco con orgullo.

INDICE GENERAL

	PAGINA
PORTADA.....	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
INDICE GENERAL.....	iv
INDICE DE FIGURAS.....	v
INDICE DE CUADROS.....	vi
INDICE DE GRAFICAS.....	vii
CAPITULO I	
INTRODUCCION Y ANTECEDENTES.....	1
CAPITULO II	
MATERIALES Y METODO	
1. Cría de <u>Lutzomyia gomezi</u>	12
1.1 Envase de cría.....	13
1.2 Jaula de alimentación.....	18
1.3 Transporte de chitras.....	22
1.4 Alimentación con azúcar.....	22
1.5 Oviposición.....	24
1.6. Alimentación de las larvas.....	24
1.7. Control de hongo.....	25
2. Evaluación de la actividad de los extractos vegetales	26
2.1. Material Vegetal.....	26
2.1.1. <u>Momordica charantica</u> (balsamino).....	27
2.1.2. <u>Genipa americana</u> (jagua).....	28

2.2. Preparación de extractos.....	31
2.3. Pruebas de evaluación de los extractos preparados.....	34
CAPITULO III	
RESULTADOS Y DISCUSION	
1. Método de cría.....	42
2. Pruebas de extractos de plantas como repelentes....	58
CAPITULO IV	
CONCLUSION	
1. Cría de <u>Lu. gomezi</u>	89
2. Pruebas de extractos de plantas como repelentes....	89
BIBLIOGRAFIA CITADA.....	91

INDICE DE FIGURAS

INDICE DE FIGURAS

	Página
Fig. 1. Envases utilizados en cría de <u>Lu. gomezi</u>	14
Fig. 2. Preparación de la tapa del envase de cría, muestra el orificio que fué cubierto con el nylon.....	15
Fig. 3. Tapa del envase de cría con organza y rollos de algodón.....	16
Fig. 4. Orificio en el fondo del envase de cría, con el propósito de permitir la entrada del agua y mantener la humedad necesaria.....	17
Fig. 5. Orificio necesario para introducir las chitras al envase de cría.....	20
Fig. 6. Jaula utilizada en la alimentación de adultas de <u>Lu. gomezi</u>	21
Fig. 7. Aspirador utilizado en el transporte de <u>Lu. gomezi</u>	23
Fig. 8. <u>Momordica charantica</u> (Linnaeus, 1953) (balsamino)	29
Fig. 9. <u>Genipa americana</u> (Linnaeus 1759) (jagua)....	30
Fig. 10. Caja de prueba para extractos de plantas como repelentes.....	36
Fig. 11. Huevo y corium de <u>Lu. gomezi</u>	44
Fig. 12. Larva vermiforme de <u>Lu. gomezi</u>	45
Fig. 13. Pupa obtecta de <u>Lu. gomezi</u>	46
Fig. 14. Equipo de cerámica utilizado por Hertig & Johnson (1961).....	51
Fig. 15. Jaula utilizada por el método de Hertig & Johnson (1961).....	52
Fig. 16. Envases utilizados por Chaniotis (1975).....	53
Fig. 17. Envases de cría de <u>Lu. gomezi</u> con hongos.....	56

INDICE DE CUADROS

INDICE DE CUADROS

	Página	
Cuadro No. 1	Número de envases de cría de <u>Lutzomyia gomezi</u> que evidenciaron crecimiento de <u>Aspergillus sp.</u> bajo diferentes aplicaciones de unidades de Micostatin (Nistatina).....	57
Cuadro No. 2	Resultados de capacidad de picada de <u>Lu. gomezi</u> a diferentes concentraciones de extractos de <u>Momordica charantica</u> (balsamino).....	61
Cuadro No. 3	Resultado del efecto de repelencia en diferentes concentraciones del extracto de <u>Momordica charantica</u> (balsamino) frente a <u>Lu. gomezi</u>	62
Cuadro No. 4	Resultados de capacidad de picada de <u>Lu. gomezi</u> a diferentes concentraciones de extractos de <u>Genipa americana</u> (jagua).....	65
Cuadro No. 5	Resultado del efecto de repelencia en diferentes concentraciones del extracto de <u>Genipa americana</u> (jagua) frente a <u>Lu. gomezi</u>	66
Cuadro No. 6	Resultado de capacidad de picada de <u>Lu. gomezi</u> a diferentes concentraciones del extracto de <u>Momordica charantica</u> (balsamino).....	70
Cuadro No. 7	Resultado del efecto de repelencia en diferentes concentraciones del extracto de <u>Momordica charantica</u> (balsamino) frente a <u>Lu. gomezi</u>	71
Cuadro No. 8	Resultado de capacidad de picada de <u>Lu. gomezi</u> a diferentes concentraciones del extracto de <u>Genipa americana</u> (jagua).....	74
Cuadro No. 9	Resultado de efecto repelente en diferentes concentraciones del extracto de <u>Genipa americana</u> (jagua) a frente a <u>Lu. gomezi</u>	75

Cuadro No. 10	Resultado de capacidad de picada de <u>Lu. gomezi</u> con dos concentraciones CR ₅₀ y CR ₉₅ del extracto de <u>Genipa americana</u> (jagua).....	79
Cuadro No. 11	Resultado del efecto repelente de <u>Genipa americana</u> (jagua) a dos concentraciones CR ₅₀ y CR ₉₅ frente a <u>Lu. gomezi</u>	80
Cuadro No. 12	Resultado de capacidad de picada de <u>Lu. gomezi</u> a dos concentraciones CR ₅₀ y CR ₉₅ de <u>Momordica charantica</u> (balsamino).....	82
Cuadro No. 13	Resultado del efecto repelente de <u>Momordica charantica</u> (balsamino) a dos concentraciones CR ₅₀ y CR ₉₅ frente a <u>Lu. gomezi</u>	83
Cuadro No. 14	Resultados de capacidad de picada de <u>Lu. gomezi</u> frente a un producto comercial (DEET) y al aceite Johnson para niños.....	86
Cuadro No. 15	Resultados del efecto repelente del producto comercial (DEET) y del aceite Johnson para niños frente a <u>Lu. gomezi</u>	87

INDICE DE GRAFICAS

INDICE DE GRAFICAS

		Página
Gráfica No. 1	Efecto Repelente de <u>Momordica charantica</u> (balsamino) MET II.....	69
Gráfica No. 2	Efecto Repelente de <u>Genipa americana</u> (jagua) MET II.....	73
Gráfica No. 3	Modelo de Regresión Lineal del porcentaje de Repelencia	76



CAPITULO I

INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

Lutzomyia gomezi (Nitzulescu, 1931) son pequeñas moscas hematófagas, conocidas en inglés como sand flies y en América como flebotomíneos, tatuquí, tatuquiras, mosquito palha, chitras*, etc. y pertenecen al orden Díptera, familia Psychodidae, sub familia Phlebotominae y género Lutzomyia.

Estos insectos han sido muy discutidos en estudios de taxonomía y sistemática realizados por Barretto (1955); Theodor (1965); Fairchild & Young (1973); Forattini (1973); Lewis et. al., (1977); Young (1979) y muchos otros.

En la Sub familia Phlebotominae encontramos muchos insectos que causan epizootias y conocidos vectores de enfermedades zoonóticas reportadas por Coutinho (1940); Adler & Theodor (1957); McConnell (1963); Johnson et. al., (1962); (1963); Tesh et. al., (1971); Telford et. al., (1972); Herrer & Christensen (1976); Lumsden & Evan (1979) y otros.

Miembros de los géneros Phlebotomus y Lutzomyia transmiten leishmaniasis, bartonelosis y virus en el hombre. También Endrotrypanum y Trypanosomas de peresozos, lagartijas y murciélagos, verificado en reportes de Hertig & McConnell (1963); Shaw (1964); Lewis (1966); Herrer & Christensen (1975); Faust et. al., (1975)

* Nombre común en Panamá.

y Christensen et. al., (1983). Los virus que producen fiebre papatasi o fiebre de los 3 días, importantes en la salud humana en el Viejo Mundo, fueron también aislados de chitras Panameñas (Tesh et. al., 1974).

La leishmaniasis cutánea, mucocutánea y visceral son enfermedades asociadas con los géneros Phlebotomus y Lutzomyia en las regiones del Viejo Mundo y neotropicales, respectivamente.

La distribución geográfica de los flebotomíneos americanos, que se asocian con la enfermedad, fueron estudiados por Martins & Morales Farias (1972); Forattini (1973); Young (1979) y otros científicos.

Lutzomyia se encuentran en muchas partes del Continente Americano, pero son más abundantes en zonas tropicales y sub tropicales. En Panamá son principalmente selváticas y muestran gran diversidad en cuanto a comportamiento y número de especies. Estudios realizados en áreas de la Zona del Canal sobre dinámica de población y comportamiento diario y estacional fueron realizados por Chaniotis et. al., (1971a; 1971b; 1972; 1974a).

En nuestro país la leishmania cutánea se ha convertido en un serio problema en los últimos años, señalándose un aumento progresivo de la

enfermedad. Darling (1910) reportó los primeros 31 casos autóctonos y después de 50 años Calero & Johnson (1953) reportaron 25 casos más. Hertig et. al., (1958) reportaron 100 casos en el reporte anual del Laboratorio Conmemorativo Gorgas (L.C.G.). Christensen et. al., (1983) señaló 658 casos entre 1979-1982, provenientes de áreas de la foresta panameña, de los cuales menos del 5% correspondió a leishmaniasis mucocutánea y el resto a leishmaniasis cutánea.

Reportes de L.C.G. indicaron 138 casos para 1983 y 106 casos para 1984 como leishmania confirmada. En 1985 la suma de casos clínicos y confirmados fué de 346 y de enero a junio de 1986 van reportados 199 casos de leishmaniasis en el L.C.G.

En el registro de los boletines epidemiológicos del Ministerio de Salud de la República de Panamá aparecen 667 casos en 1980; 803 en 1981; 735 en 1982; 1308 en 1983; 872 en 1984; 893 en 1985 y de enero a el mes de abril de 1986 van reportados 222 casos más.

Reportes del Ministerio de Salud y de los centros de salud muestran un aumento progresivo de casos durante los últimos años, que coinciden con la penetración del hombre de áreas no endémicas como Los Santos hacia áreas endémicas como Bayano y la Provincia de Darién.

La necesidad del hombre de buscar nuevas tierras cultivables y mejores condiciones de vida tiene un gran impacto en la epidemiología de la enfermedad. Los casos de leishmaniasis reportados son probablemente, una representación mínima de todos los casos que ocurren en el territorio panameño, debido a que la mayoría de las víctimas de leishmaniasis, son campesinos que viven en áreas remotas y carecen de facilidades para diagnosticar la enfermedad.

Uno de los vectores de Leishmania brasiliensis panamensis, parásito que causa la leishmaniasis cutánea en Panamá, es Lu. gomezi, de acuerdo a reportes de Johnson et. al.,(1962); Christensen et. al., (1983) y otros.

Lu. gomezi fué descrita por primera vez en Venezuela por Nitzulescu en 1931. Corresponde a una de las 74 especies de chitras que se encuentran en Panamá, mencionadas por Christensen et. al (1983) y de casi 300 especies reportadas en el Continente Americano. Su distribución geográfica se extiende desde El Salvador hasta Brasil de acuerdo a Young (1979) y en nuestro país es una especie muy común distribuída en todo el territorio nacional de acuerdo a Fairchild & Hertig (1948).

Con el propósito de conocer la biología de las chitras y llevar a cabo estudios de transmisión de enfermedades bajo condiciones controladas, se hace necesario establecer colonias en laboratorios. El primer intento de criar chitras fue realizado por Grassi (1907) en Italia, según Chaniotis (1986). Hertig & Johnson (1961a;b) establecieron las primeras colonias de chitras en Panamá. Ellos colonizaron chitras del género Lutzomyia, entre las cuales se encontraba Lu. gomezi, pero con una técnica muy elaborada, que representaba demasiado trabajo y muy costosa para la cantidad de chitras que eran obtenidas por generaciones. Estos científicos no tuvieron éxito al establecer colonias de Lu. trapidoi, Lu. panamensis y Lu. ylephiletor, que son especies muy importantes como vectores de leishmaniasis y virus en Panamá. Debido a la insuficiencia del método Hertig & Johnson, (1961), Chaniotis (1975) introdujo una nueva técnica, más sencilla, y en la cual obtenía mayor número de especímenes por generaciones, con mucho menor trabajo.

Chaniotis (1986) mejoró el método de cría con el uso de envases plásticos con capacidad de 0.95 dm^3 . Con este método obtuvo buena supervivencia de hembras y 2 a 3 ciclos gonotróficos en 35% y 8% de las hembras, respectivamente. La efectividad del método de cría para Lu. trapidoi, hace necesario, probarlo con otras especies de Lutzomyia, que sean considerados, probados vectores de enfermedades, tanto al hombre como a los animales.

Este trabajo de tesis se inició desde febrero de 1984, con el propósito de colonizar Lu. gomezi utilizando el método propuesto y probado por Chaniotis (1975). Luego de varios bioensayos se logró introducir el uso de Nistatina por difusión, lo que controló satisfactoriamente el Aspergillus y otros hongos, que muchas veces crecieron en los envases de cría e impidieron el desarrollo normal de las chitras inmaduras. La aplicación de este antimicótico, modificó y mejoró el Método Chaniotis (1975).

La colonia de Lu. gomezi fué establecida con el propósito de evaluar el comportamiento de las chitras, frente a extractos de plantas como repelentes. Los productos naturales son considerados menos tóxicos para los seres vivos y han sido muy estudiados para controlar y repeler insectos vectores de enfermedades. Jammu-Tawi (1982) y Department of Agriculture on Insects of Military Importanse (1983) fundamentan lo anteriormente expuesto.

Otra justificación de la presente tesis la encontramos en lo difícil, impráctico y costoso que resulta el control de chitras en la selva tropical (Herrer, 1956). Chaniotis et. al., (1982) realizaron un estudio piloto por control químico, contra chitras en un bosque húmedo de la Costa Atlántica de Panamá, con aplicaciones de Malathion en y luego de 9 meses de observaciones, encontraron una reducción de solo 30% en la población de especies antropofílicas en áreas limitadas.

Debido a que el control de chitras selváticas es problemático, el uso de repelentes como protección personal, adquiere mucha más importancia para evitar picadas y por ende las enfermedades que estos insectos pueden transmitir.

La necesidad de estudiar repelentes ha sido señalada a través de los años. Los entomólogos y los químicos han demostrado mucho interés por encontrar sustancias que repelen insectos picadores, con el propósito de prevenir enfermedades y molestias causadas por dichos insectos.

Fluno & Weidhaans (1968) estudiaron muchas sustancias químicas como Aceite de Citronella, Pennyroyal y Peppermint usados durante la Segunda Guerra Mundial, como medida de prevención contra mosquitos y ellos concluyeron que el químico más eficaz era el N, Ndiethylmetatoluamide (DEET).

Rutledge et. al., (1982) experimentaron con aceites de baño, (Skin-So-Soft) para repeler Aedes aegypti y obtuvieron resultados muy favorables.

Schmidt & Schmidt (1969) trabajaron con 9 químicos para repeler Phlebotomus papatasi y en sus experimentos encontraron a Diethyltoluamide, Ethoxy-diethylbenzamide y Chloro-diethylbensamide como los mas eficientes en aplicaciones de la piel.

Buescher et. al., (1982) evaluaron técnicas de dosis de respuestas y encontraron que DEET, Indalones y Citronella fueron los más efectivos para repeler Lutzomyia longipalpis en el hombre.

Schreck et. al., (1982) evaluaron 3 métodos de protección por sustancias químicas para prevenir picadas de Lutzomyia sp. en Panamá. Encontraron que el DEET presentó un coeficiente de protección de 99.2% contra el ataque de chitras, pero algunas áreas del cuerpo necesitaron mayor protección y recomendaron usar además de DEET otro repelente en el tratamiento de la ropa.

Por lo general los compuestos químicos han tenido buen resultado como repelentes , pero estos productos son incómodos, difícil de conseguir y presentan la limitación del costo para el hombre de campo.

En los últimos años muchos científicos han dedicado sus trabajos a descubrir sustancias naturales que sirvan como repelentes. El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos mediante "Agricultura Research Service and Forest Service", (1983) publicó un informe que resume la evaluación de 317 extractos de plantas como repelentes, contra Aedes aegypti, Anopheles quadrimaculatus, Anopheles albimanus y otros Nematóceras. Sin embargo no se incluyeron chitras del género Lutzomyia en este estudio.

Estudios etnobotánicos realizado en Panamá (Duke, 1972; Candanedo, 1977), y encuestas aplicadas en diferentes provincias indicaron que existen diversas plantas, que los nativos utilizan para evitar picadas. Sin embargo no se han llevado a cabo investigaciones científicas, para comprobar las plantas y su efecto, en el comportamiento de Díptera hematófaga. Este trabajo tiene como propósito principal, las evaluaciones de la actividad repelente de extractos de Genipa americana y de Momordica charantica frente a chitras de la especie Lu. gomezi.

La selección de estas dos plantas se basó en conversaciones con campesinos de Panamá, donde la leishmaniasis ocurre y la gente usa plantas para evitar picadas de chitras. Hay otras plantas que necesitan evaluación y posiblemente presentaran mejor capacidad de repelencia que las plantas escogidas. Creemos que las investigaciones en este campo de la ciencia podrían ser fructíferas, útiles y beneficiosas para nuestro país.

CAPITULO II

MATERIALES Y METODO

1. Cría de Lutzomyia gomezi

Chaniotis (1975) describió por primera vez la base de este método de cría, para Lutzomyia trapidoi (Fairchild & Hertig).

Lo modificó posteriormente en 1986.

La presente investigación se realizó en el insectario del edificio No. 5 de Corozal, que pertenece a Medicina Preventiva del Ejército Americano. Tenía dos ventanas localizadas en uno de los lados, lo que permitía la entrada de rayos solares y era posible mantener condiciones de radiación natural y fotoperiodicidad 12:12 horas.

Los adultos, que iniciaron la colonia, fueron colectados en el distrito de Capira, situado a 50 Km hacia el oeste de la ciudad de Panamá, en una localidad de 200m sobre el nivel del mar, donde existe un bosque tropical húmedo.

Con el propósito de garantizar que los especímenes colectados eran antropofílicos, se utilizó al hombre como cebo. Lu. gomezi fueron escogidos para iniciar la colonia, de acuerdo con lo recomendado por Chaniotis (1974b).

1.1 Envase de cría:

Los envases para la cría de Lu. gomezi eran de plástico, cilíndricos, desechables, con capacidad de 1 dm³ (8 cm de profundidad y 15 cm de diámetro) (Fig 1). El centro de la tapa se preparó con un corte circular de 11.5 cm de diámetro (Fig 2), en donde se colocó nylon de organza. Este tejido permitió la ventilación y la alimentación de las chitras. Los adultos se alimentaron con una solución saturada de sacarosa en pedazos de rollos de algodón (Fig3).

El azúcar como nutriente, es un requisito para mantener las chitras vivas, después de eclosión y antes de la alimentación con sangre (Chaniotis 1974c).

En el centro de la base del envase fué necesario abrir una circunferencia de 1.5 cm de diámetro (Fig 4), que permitió la entrada del agua y mantuvo la arena húmeda. Un pedazo de tela de nylon cubrió el orificio para evitar la salida de la arena.

Otro orificio de 0.7 cm de diámetro fué abierto en la parte lateral superior del envase(Fig 5), para permitir la introducción de chitras, que fué realizada con la ayuda de un aspirador. Este espacio permanecía cerrado con un tapón de algodón, cuando no se introducían los especímenes.

Dentro del envase colocamos arena cernida, la cual se colocó a 2.5 cm de espesor, sobre la base del mismo, Chaniotis (1975) señaló la necesidad del uso de la arena, con el propósito de mantener el microambiente óptimo para el desarrollo y crecimiento de los estados inmaduros. Luego de la arena se colocó papel de filtro, de tal manera que estuviera mojado y bien pegado en la arena.

1.2 Jaula de alimentación de adultos:

La jaula tenía forma de media luna, con medidas de 41 cm de largo y 30 cm de ancho (Fig 6). Fué construída con madera de plywood cubierta con nylon de organza. Atrás de la jaula había un espacio circular de 17 cm de diámetro, cubierto con una manga de tela que permitía la entrada de los envases y evitaba la salida de las chitras . La jaula era necesaria para alimentar las chitras adultas, con animales. Las

chitras se soltaron dentro de la jaula y se dejaron alimentar durante media hora, de un Cavia porcellus, (cuí o cobayo) anestesiado o amarrado.

1.3 Transporte de las chitras:

El transporte de las chitras desde la jaula hasta los envases de cría, se realizó con un aspirador de boca, el cual fué , un tubo de manguera de plástico transparente (60 cm de largo x 1.5 cm de diámetro) y un cilindro de vidrio (7 cm de largo x 1.5 cm de diámetro) (Fig 7). El tubo de vidrio se separó de la manguera con un pedazo de nylon de organza, con el propósito de evitar el paso de chitras a la manguera. El trabajo de succión de las chitras se debe hacer con mucho cuidado, para evitar malograr los especímenes. Una vez que las chitras fueron aspiradas con el tubo, el extremo del mismo se tapaba con el dedo índice y se transportaron los insectos a los envases plásticos, donde se llevaba a cabo la oviposición.

1.4 Alimentación con azúcar:

Chaniotis (1974 c) describió pruebas realizadas para alimentación de adultos de Lutzomyia con azúcares. Las chitras adultas se mantenían con solución concentrada de sacarosa en rollos de algodón para uso odontológico. El algodón se impregnaba con sacarosa y era reemplazado cada tres días.

1.5 Oviposición:

Cada envase recibía hasta 100 especímenes entre machos y hembras, los cuales estaban listos para oviposición. La mayoría de los huevos fueron ovipositados en el papel de filtro. Los huevos depositados en las paredes del envase, fueron transferidos sobre el papel filtro, con la ayuda de un pincel de cerdas de camello mojado. Esta operación necesitaba del uso de un estereoscopio.

1.6 Alimentación de las larvas:

Las dietas para estados inmaduros de Lutzomyia han sido estudiadas y discutidas por Gemetchu (1971) y Young et. al. (1981). En este trabajo esencialmente utilizamos la comida introducida por Young et.al.(1981), que consistió de una mezcla de comida de perro, comida de rata, hojas secas y heces de conejo. La comida de Young et. al.(1981) fué procesada por más de un mes, para eliminar la mayoría de los hongos. Una vez por semana los envases fueron revisados, con la ayuda del estereoscopio y se les aplicó cuidadosamente una pequeña cantidad de comida en forma pulverizada y seca.



1.7. Control del hongo:

Cuando los envases presentaban hongos, estos se controlaron con la aplicación de Nistatina (Micostatin), mediante difusión en la arena. Se realizaron pruebas con 40 envases de cría, debidamente preparados para Lutzomyia, en cuatro concentraciones diferentes de Nistatina y controles. Se utilizaron ocho envases para cada ensayo experimental. Los controles no tenían el fungicida y las demás pruebas se trabajaron con diferentes concentraciones del mismo.

Detalles del ensayo experimental

Controles: Se prepararon los controles sin Nistatina, solo con agua del grifo. Se realizaron ocho replicas para los controles.

Prueba 1: Se prepararon los envases y estos fueron humedecidos con agua que contenía 5 gotas de Nistatina por cada 500 ml de agua del grifo, equivalente la solución a 25,000 U de Nistatina. Se realizaron 8 réplicas con esta dilución.

Prueba 2: Se prepararon los envases y estos fueron humedecidos con agua que contenía 10 gotas de Nistatina por cada 500 ml de agua del grifo, equivalente la solución a 50,000 U de Nistatina. Se realizaron 8 réplicas con esta dilución.

Prueba 3: Se prepararon los envases y estos fueron humedecidos con agua que contenía 15 gotas de Nistatina por cada 500 ml de agua del grifo, equivalente la solución a 75,000 U de Nistatina. Se realizaron 8 réplicas con esta dilución.

Prueba 4: Se prepararon los envases y estos fueron humedecidos con agua que contenía 20 gotas de Nistatina por cada 500 ml de agua del grifo , equivalente la solución a 100,000 U de Nistatina. Se realizaron 8 réplicas con esta dilución.

Con estas pruebas se determinó la dosis necesaria para el control del hongo y el tratamiento posterior a los envases que presentaron hongos, se aplicó de acuerdo a las necesidades de cada envase por separado.

2. Evaluación de la actividad de los extractos vegetales

2.1. Material vegetal:

Las plantas utilizadas en este estudio, fueron escogidas, después de entrevistas con nuestros aborígenes y colonos. Realizamos 100 encuestas en ocho de las 9 provincias de la República de Panamá. De las cuales se escogieron dos de las tres primeras que resultaron favorecidas por las encuestas.

2.1.1 Momordica charantia (Linnaeus,1753) (Fig 8). Esta planta es conocida comunmente como balsamino en Panamá, pertenece a la familia Cucurbitaceae y fué identificada de acuerdo a Wunderlin (1973), por la Prof. Mireya D. Correa A., directora del Herbario de la Universidad de Panamá.

La planta fué colectada en un área rural del distrito de San Miguelito, Provincia de Panamá. Parte de la colecta reposa en el Herbario de PMA. , con la denominación y número de Dávila No. 1. Las hojas de la planta fueron procesadas por la Unidad de Investigaciones Farmacognósticas de la Universidad de Panamá, bajo la supervisión del Dr. Gupta y colaboradores. El material vegetal fué secado en un horno a 35 °C - 40 °C. Posteriormente se molió en un molino Willey y se extrajo un extracto claro por medio de percolación utilizando etanol 95%. El extracto etanólico se concentró en un evaporador rotatorio bajo vacío y luego se liofilizó hasta obtener el residuo totalmente seco. El disolvente utilizado, en la preparación de las soluciones probadas como repelentes, fueron alcohol etílico y agua destilada en partes iguales para este extracto de Momordica charantica.

2.1.2. Genipa americana (Linnaeus, 1759) (Fig 9) Esta planta es conocida comunmente como jagua en Panamá, pertenece a la familia Rubiaceae y fué identificada de acuerdo a Dwyer (1973) por la Prof. Mireya D. Correa A., directora del Herbario de la Universidad de Panamá. La planta fué colectada del patio de la Facultad de Derecho y Ciencias Políticas de la Universidad de Panamá. Parte de la colecta reposa en el Herbario PMA, con la denominación y número de Dávila No. 2.

Los frutos de esta planta fueron procesados, con el método explicado anteriormente para las hojas de Momordica charantica, por la Unidad de Investigaciones Farmacognósticas de la Universidad de Panamá, bajo la supervisión del Dr Gupta y colaboradores. El disolvente utilizado en la preparación de las soluciones probadas como repelentes fué el agua destilada.

2.2. Preparación de los extractos vegetales:

Primera dilución (tubo 1): Esta primera dilución fué preparada pesando 1 gm de la muestra deshidratada y liofilizada y se disolvió en 10 ml del disolvente utilizado para cada extracto. Este preparado correspondió a una solución al 10%, de la cual se aplicó 0.025 ml, equivalente a 2.5 mg/cm² para evaluar la actividad repelente del extracto, en cada una de las áreas del antebrazo.

Segunda dilución (tubo 2): Se transfirió 7.5 ml del tubo 1 más 2.5 ml del disolvente utilizado para cada extracto. Este preparado correspondió a una solución al 7.5%, de la

cual se aplicó 0.025 ml, equivalente a 1.87 mg/cm^2 para evaluar la actividad repelente del extracto, en cada una de las áreas del antebrazo.

Tercera dilución (tubo 3): se transfirió 5 ml del tubo 1 más 5 ml del disolvente utilizado para cada extracto. Este preparado correspondió a una solución al 5.0%, de la cual se aplicó 0.025 ml equivalente a 1.25 mg/cm^2 para evaluar la actividad repelente del extracto, en cada una de las áreas del antebrazo.

Cuarta dilución (Tubo 4): Se transfirió 2.5 ml del tubo 1 más 7.5 ml del disolvente utilizado para cada extracto. Este preparado correspondió a una solución al 2.5%, de la cual se aplicó 0.025 ml, equivalente a 0.625 mg/cm^2 para evaluar la actividad repelente del extracto, en cada una de las áreas del antebrazo.

Quinta dilución (Tubo 5): Se transfirió 1 ml del tubo 1 más 9 ml del disolvente utilizado para cada extracto. Este preparado correspondió a una solución al 1.0%, de la cual se aplicó 0.025 ml equivalente a 0.25 mg/cm^2 para evaluar la actividad repelente del extracto, en cada una de las áreas del antebrazo.

Sexta dilución (Tubo 6): Se transfirió 1 ml del tubo 5 más 9 ml del disolvente utilizado para cada extracto. Este preparado correspondió a una solución al 0.1%, de la cual se aplicó 0.025 ml, equivalente a 0.025 mg/cm^2 para evaluar la actividad repelente del extracto, en cada una de las áreas del antebrazo.

Séptima dilución (Tubo 7): Se transfirió 1 ml del tubo 6 más 9 ml del disolvente utilizado para cada extracto. Este preparado correspondió a una solución al 0.01%, de la cual se aplicó 0.025 ml equivalente a 0.0025 mg/cm^2 para evaluar la actividad repelente del extracto, en cada una de las áreas del antebrazo.

Octava dilución (Tubo 8): Se transfirió 1 ml del tubo 7 más 9 ml del disolvente utilizado para cada extracto. Este preparado correspondió a una solución al 0.001% , de la cual se aplicó 0.025 ml, equivalente a 0.00025 mg/cm^2 para evaluar la actividad repelente del extracto, en cada una de las áreas del antebrazo.

2.3 Pruebas de evaluación de los extractos preparados:

Para esta evaluación, se utilizaron dos métodos, con el objetivo de determinar, la capacidad de picada y la actividad repelente de los extractos de las plantas estudiadas.

Metodo I:

El recomendado por la ASTM (Sociedad Americana para Pruebas de Materiales), mediante la cual se pueden evaluar los materiales en el campo y en el laboratorio. La caja utilizada (Fig 10), es parte del método estandarizado, en la evaluación de productos no comerciales, como repelentes para Díptera , en pruebas de laboratorio.

Dicho método recomienda utilizar 0.025 ml en un área circular de 2.9 cm de diámetro y variar las concentraciones para cada una de las cinco áreas de la caja de prueba (Fig 10). Siguiendo lo recomendado, se aplicaron en cada una de las cinco áreas del antebrazo , el volumen correspondiente a 0.025 ml, de las soluciones a diferentes concentraciones, preparadas con el extracto de cada planta. Los disolventes utilizados en las pruebas, fueron alcohol etílico y agua destilada en partes iguales, para la preparación de las soluciones a evaluar de Momordica charantica y sola-

mente agua destilada, como disolvente para las soluciones de Genipa americana. Las soluciones, se prepararon con una anticipación menor de 24 horas y permanecían refrigeradas hasta el momento de usarlas.

Se trabajó con humanos voluntarios de ambos sexos, cuya edad oscilaba entre 30 - 50 años y que gozaran de perfecta salud.

Inicialmente se marcaron las 5 áreas en la región flexora del antebrazo, cada una de estas áreas recibían 0.025 ml de las soluciones preparadas, las cuales fueron: el control (sólo con el disolvente específico para cada planta) y las soluciones productos de las disoluciones efectuadas, de 2.5; 1.87; 1.25; y 0.625 mg/cm². Luego de aplicarse estos extractos, se esperaba que secaran.

En la caja (Fig 10) se introdujeron entre 15 a 20 hembras nulíparas de Lu. gomezi, que tenían entre 4 a 7 días de edad y habían sido mantenidas solamente con dieta de solución de sacarosa concentrada.

La caja se colocó en la región flexora del antebrazo y se mantuvo inmovilizada por 30 min, con ayuda de cintas.

Método II:

Método recomendado por Sokal & Rodlf (1979), en donde se

utilizaron las concentraciones de acuerdo con valores logarítmicos. Se evaluaron las cinco áreas del antebrazo, con la misma caja utilizada para el método I (Fig 10).

En este método, todas las áreas recibieron 0.025 ml de la misma solución, con igual concentración y simultáneamente en cada una de las mismas. Realizamos cinco réplicas simultáneas.

En las pruebas efectuadas trabajamos con 2 controles, uno las áreas libres (al desnudo) y otro con solo el disolvente. Además se evaluaron las áreas impregnadas con las soluciones de 2.5; 0.25; 0.025; 0.0025 y 0.00025 mg/cm². Se debe recordar, que cada prueba, tenía la réplica de las cinco áreas, con la misma solución aplicada. Las chitras y la colocación de la caja de prueba, fueron como en el Método I.

El tiempo para ambos métodos fue de 30 minutos y el número de réplicas fueron 10 para cada solución. Al final de cada experimento se examinó la región flexora del antebrazo bajo un estereoscopio, anotando el número exacto de picadas para cada área de prueba. De esta manera se calcularon por regla de tres, los porcentajes de picadas y la actividad repelente

correspondió a la diferencia con 100, de cada uno de los extractos frente a las chitras.

Entre las pruebas aplicadas tenemos, cálculo de la varianza de la pruebas realizadas, y el cálculo de Duncan con el objetivo de poder apreciar si realmente hay comparación entre las medias de las pruebas realizadas.

Se calculó la CR_{50}^* y la CR_{95}^{**} de acuerdo con valores probitas y regresión lineal. Las dosis de la CR_{50} y la CR_{95} con el método II fueron replicadas 20 veces, distribuidas en dos bioensayos, con el propósito de verificar los valores obtenidos.

Además se evaluaron con el Método II el efecto repelente del DEET en una concentración de 50% y el Aceite Johnson de uso comercial para niños, con el propósito de realizar otras comparaciones.

* Concentración que repele al 50% de las chitras.
** Concentración que repele al 95% de las chitras.

A los datos obtenidos se les calculó la mediana, la desviación estandar y el error estandar por prueba. La CR_{50} y CR_{95} se calculó por valores probitas y por la ecuación de regresión, calculándose además el coeficiente de determinación.

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSION

1. Método de Cría:

La cría de Lu. gomezi con el método de Chaniotis (1986) fue un éxito para llevar a cabo los experimentos de evaluación de repelentes naturales. La supervivencia de las chitras resultó satisfactorio.

Aproximadamente el 70% de las chitras que iniciaban la prueba permanecían vivas después de una semana de colocadas en los envases. Aquellas que se alimentaban a plenitud realizaron buena oviposición, después de la cual morían en la mayoría de los casos. Ponían un promedio de más o menos 30 huevos por cada hembra bien alimentada, los cuales eran ovipositados, en su mayoría, en la periferia lateral del papel de filtro, en los envases. Los huevos ovipositados en la pared del envase se trasladaron en el centro del papel filtro, lo que resultó satisfactorio para la cría.

Los huevos (Fig 11) eclosionaron entre 7 a 10 días después de la oviposición. Es importante señalar que el porcentaje de eclosión era de 65% a 80% y la eclosión no ocurrió simultáneamente. La humedad ambiental necesaria en el cría de Lu. gomezi correspondió a más del 85% de HR, el filtro y la arena se mantenían siempre mojados.

Las larvas vermiformes (Fig 12) en todos sus estadios eran muy activas, con movimientos ondulatorios. La humedad en la superficie de los envases de cría activó grandemente la actividad larvaria. La comida probada, dió buen resultado, en el desarrollo de estos inmaduros.

Los primeros estadios larvarios, aparecieron entre los 7 a 15 días luego de la oviposición. Los dos últimos estadios larvarios, aparecieron entre los 15 a 20 días luego de la oviposición, con un período de desarrollo larval de 20 a 23 días, con una temperatura ambiental entre 27-29°C.

La pupa obtecta (Fig 13) apareció entre los 18 a 26 días luego de la oviposición. El estado de pupa duró más o menos 8 días.

La emergencia de los adultos se inicia con los machos y posteriormente con machos y hembras. El ciclo de vida (adulto a adulto) se completó en un rango variable de tiempo, entre los 35 a 38 días, según la temperatura ambiental .

La eficacia del método se probó con 9 generaciones sucesivas de Lu. gomezi, sin problemas serios.

Al comparar los métodos Hertig & Johnson (1961) y de Chaniotis modificado (1986) para criar chitras antropofílicas, encontramos diferencias y ventajas que se resumen a continuación.

Hertig & Johnson (1961)

1. Equipo de cerámica (Fig 14)
2. Preparación de material con yeso, para adquirir porosidad necesaria en los envases.
3. Necesidad de esterilizar envases de cría en autoclave

Chaniotis modificado (1986)

1. Equipo de plástico desechable. (Fig 1)
2. Papel filtro y arena fina.
3. No hay necesidad de esterilizar en autoclave, solo se

- | | |
|--|---|
| durante 20 min a 15 lbs de presión. | lava la arena con agua caliente. |
| 4. Humedecer envases con mucho cuidado diariamente, para mantener la humedad óptima. | 4. La humedad la mantiene la arena cernida con atención semanal. |
| 5. Es necesario mantener los envases de cerámica sobre algodón húmedo, todo el tiempo. | 5. No es necesario mantener los envases sobre algodón húmedo o agua. |
| 6. Atención diaria, para mantener huevos, estados inmaduros y adultos. | 6. Atención semanal para mantener huevos, estados inmaduros y adultos. |
| 7. Aplicación de Micostatin con atomizadores, lo cual deteriora y mata las larvas. | 7. Aplicación de Micostatin por difusión del agua a través de la arena (substrato). |
| 8. Envase pequeño que solo permite 15 chitras. | 8. Envase grande que permite hasta 100 chitras. |

- | | |
|---|--|
| Necesidad de refrigerar las chitras a 4.5 C, con el propósito de aletargarlas y cambiar la tapa de los envases, al colocarle las pasas. | 9. No es necesario refrigeración, son los mismos envases para cría y para oviposición. |
| Uso de pasas tratadas con agua para la alimentación de adultos, lo que produce hongo. | 10. No usa pasas turgentes, usa rollos de algodón odontológico con solución de sacarosa, no produce hongo. |
| Se deduce del método mayor manipulación de los especímenes. | 11. No hay que manipular tanto los especímenes, lo que garantiza más la eficacia del método. |
| Jaula de alambre y nylon de marquissete más pequeña y por ente más difícil de manipular (Fig 15). | 12. Jaula de madera y nylon de organza, más grande, lo cual permite mejor manipulación (Fig 6). |

Chaniotis (1975)

1. Envases importados de Santa Mónica, California (Fig 16).
2. No controla el crecimiento del hongo.

Chaniotis modificado (1986)

1. Envases autóctonos desechables de helado.
2. Aplicación de Micostatin para control del hongo.

En los trabajos de colonización de Lutzomyia los hongos resultaron un serio problema. Hertig & Johnson (1961) en su método utilizaron Nistatina a manera de aspersión, lo que afectó grandemente la cutícula de los inmaduros y le causaban la muerte.

La presencia del hongo fue problemática para el buen desarrollo de los estados inmaduros y ocasionalmente mermaban la colonia. Una cepa de hongo aislada por el Departamento de Micología de la Facultad de Medicina, Universidad de Panamá, fue identificada como el género Aspergillus.

La presencia del hongo motivó que se realizaran pruebas para su control.

El Cuadro No. 1 indica las pruebas realizadas con el propósito de controlar los hongos que aparecen en los envases (Fig 17). En los envases controles, sin la aplicación de Nistatina (Micostatin) y en un tratamiento de 25,000 U de Micostatin, se evidenció hasta un 100% de invasión del hongo, lo que lógicamente afectó e impedía el desarrollo de los inmaduros. Con el propósito de encontrar una dosis mínima para controlar hongos, trabajamos con dosis de 50,000; 75,000 y 100,000 U de Micostatin, las cuales inhibieron el crecimiento del hongo, reduciendo el área de crecimiento entre 0 a 24% equivalente entre 0 a 30 cm². De tal manera que la

dosis que se escogió para el control de hongos fué de 50,000 U debido a que correspondía a la menor dosis necesaria para controlar el hongo, sin afectar a las larvas como ocurría en el método de Hertig & Johnson.

CUADRO No. 1

Número de envases de cría de Lutzomyia gomezi que evidenciaron crecimiento de Aspergillus sp. bajo diferentes aplicaciones de unidades de Micostatin (Nistatina)

UNIDADES DE MICOSTATIN	N	(0 - 4%)	(5 - 24 %)	(25 - 49%)	(50 - 74%)	(75 - 100%)
Control	8	0	1	1	2	4
25,000	8	0	1	1	4	2
50,000	8	5	3	0	0	0
75,000	8	4	4	0	0	0
100,000	8	6	2	0	0	0

2. Pruebas de la actividad de los extractos de plantas como repelentes

Entre las plantas que prevalecieron en la encuesta se escogió a Genipa americana (Linnaeus, 1759) (jagua) debido a que, a pesar de que el Este de la República de Panamá es un área endémica de leishmaniasis, los indios Chocoes tienen menor incidencia de la enfermedad. Los Chocoes utilizan pintura, con base del fruto de jagua, entre sus costumbres.

También, se escogió Momordica charantica (Linnaeus, 1753) (balsamino) debido a que la planta es muy conocida en nuestro país, donde se usa como medicina popular. Escobar (1972) establece que esta planta es utilizada en Haití como un insecticida general.

Se practicaron dos metodologías para evaluar la efectividad de cada una de las plantas, Buescher et. al. (1982), ensayaron el Método I con Lu. longipalpis frente a 9 repelentes de uso comercial. Utilizaron diluciones seriadas y alcohol absoluto como disolvente. Calcularon la DE_{50}^* y la DE_{95}^{**} para cada produc-

* Dosis Efectiva que repele el 50%
** Dosis Efectiva que repele el 95%

to y el número de Lu. longipalpis usados fué entre 5 a 30 especímenes para cada prueba.

En este trabajo con Lu. gomezi hemos utilizado siempre un mínimo de 15 especímenes y un máximo de 20 por considerar necesaria la mayor homogenidad en las pruebas realizadas.

Método I:

Los resultados de las pruebas de capacidad de picada para Lu. gomezi y el efecto repelente de las dos plantas estudiadas se reportan en los Cuadros 2, 3, 4 y 5.

El Cuadro No. 2 indica gran variabilidad en las réplicas de capacidad de picada para Lu. gomezi, frente al extracto de Momordica charantica con datos de ds mayores que la \bar{x} en las concentraciones de 1.25 y 2.5 mg/cm². El control registró un promedio igual 36.4% en la capacidad de picada. Las diluciones para estas pruebas correspondieron a valores muy cercanos a evaluar. El cálculo del error estandar en todas las diluciones es menor que la \bar{x} lo que representa una \bar{x} más precisa.

El Cuadro No. 3 indica una \bar{x} = 63.6% para el efecto repelente del control o sea solo las áreas con el disolvente utilizado, para las diluciones del extracto de Momordica charantica. Cuando un control, que en este caso fué alcohol etílico y agua destilada en

partes iguales, presenta un porcentaje tan alto de repelente, es difícil evaluar certeramente el efecto repelente del extracto de la planta, que es él que nos interesa. Además, las concentraciones de 5.0% (1.25 mg/cm^2); 7.5% (1.87 mg/cm^2) y 10.0% (2.5 mg/cm^2) registraron 86.8%; 90.9% y 97.7% de actividad repelente como \bar{x} , en las pruebas realizadas, lo que correspondió a porcentajes altos de repelencia para estas diluciones.

CUADRO No. 2

Resultados de capacidad de picada de Lu. gomezi a diferentes concentraciones de extractos de Momordica charantica (balsamino)

CONCENTRACION DEL EXTRACTO (%)	PORCENTAJE DE PICADA EN LAS 5 AREAS DEL ANTEBRAZO (t = 30 minutos)												
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉	R ₁₀	\bar{x}	ds	es
Control	44	33	55	17	20	40	45	40	30	40	36.4	11.6	2.37
2.5 (0.625mg/cm ²)	44	45	20	50	60	30	35	55	20	40	39.9	13.7	2.65
5.0 (1.25 mg/cm ²)	12	0	12	33	0	15	0	0	30	30	13.2	13.6	2.64
7.5 (1.87 mg/cm ²)	0	18	3	0	20	15	20	5	10	0	9.1	8.5	1.93
10.0 (2.5 mg/cm ²)	0	0	10	0	0	0	3	0	10	0	2.3	4.16	1.20

CUADRO No. 3

Resultado del efecto de repelencia en diferentes concentraciones del extracto de Momordica charantica (balsamino) frente a Lu. gomezi

CONCENTRACION DEL EXTRACTO (%)	PORCENTAJE DE REPELENCIA EN LAS 5 AREAS DEL ANTEBRAZO (t = 30 minutos)												
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	\bar{x}	ds	es
Control	56	67	45	83	80	60	55	60	70	60	63.6	11.62	2.38
2.5 (0.625mg/cm ²)	56	55	80	50	40	70	65	45	80	60	60.1	13.70	2.65
5.0 (1.25 mg/cm ²)	88	100	88	67	100	85	100	100	70	70	86.8	13.57	2.64
7.5 (1.87 mg/cm ²)	100	82	97	100	80	85	80	95	90	100	90.9	8.53	1.94
10.0 (2.5 mg/cm ²)	100	100	90	100	100	100	97	100	90	100	97.7	4.16	1.20

El análisis de varianza en relación a la actividad repelente del Cuadro No. 3, indica que existe diferencias significativas entre las concentraciones, ($p < 0.001$); aunque algunos datos de la actividad repelente del extracto, no superan a los datos obtenidos en las réplicas con el testigo. La comparación de las medias (\bar{x}) en este cuadro de acuerdo a la prueba de Duncan nos dice que las concentraciones de 10.0; 7.5 y 5.0% superan al control y la concentración de 2.5%; pero entre las primeras concentraciones no existe diferencia significativa (son iguales) así como la concentración de 2.5% no supera en la actividad del efecto repelente al control utilizado.

En los Cuadros No. 4 y 5 para evaluación de Genipa americana con la Método I, el \bar{x} del control fué de 69.5% en el efecto repelente, lo que también corresponde a nuestro juicio un efecto muy alto para el agua que fué el disolvente de la planta y control en la prueba. Se aprecia además poca variabilidad en las réplicas y las concentraciones 5.0%; 7.5% y 10% del extracto produjeron 79.6%, 90.0% y 96.8% de repelencia, respectivamente, debido posiblemente al microambiente en la caja de prueba.

El análisis de varianza muestra diferencia significativa ($p < 0.001$) entre los porcentajes de la actividad repelente

en las diferentes diluciones y el análisis de comparación múltiple de Duncan nos dice, que hay dos grandes grupos que realmente son diferentes, en los relacionados a las medias. Un grupo corresponde a las concentraciones de 10 y 7.5%, que representan valores mejores, superando al resto de las concentraciones. No existe diferencia de las concentraciones de 7.5 y 5.0%, aunque la 5.0% supera en datos aceptables a la concentración de 2.5%. Los resultados en las concentraciones de 2.5% y el control son iguales. No se puede diferenciar claramente el resultado de la \bar{x} del control, en comparación con la \bar{x} de la dilución 2.5%.

CUADRO No. 4

Resultados de capacidad de picada de Lu. gomezi a diferentes concentraciones de extractos de Genipa americana (jagua)

CONCENTRACION DEL EXTRACTO (%)	PORCENTAJE DE PICADA EN LAS 5 AREAS DEL ANTEBRAZO (t = 30 minutos)										es		
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10		\bar{x}	ds
Control	25	33	20	20	22	0	75	20	60	30	30.5	21.6	3.60
2.5 (0.625mg/cm ²)	34	17	40	55	34	40	25	60	20	30	35.4	13.9	2.68
5.0 (1.25 mg/cm ²)	25	33	40	25	11	30	0	0	10	30	20.4	14.1	2.71
7.5 (1.87 mg/cm ²)	13	17	0	0	11	20	0	20	10	10	10.1	7.9	1.84
10.0 (2.5 mg/cm ²)	0	0	0	0	22	10	0	0	0	0	3.2	7.3	1.74

CUADRO No. 5

Resultado del efecto de repelencia en diferentes concentraciones del extracto de Genipa americana (jagua) frente a Lu. gomezi

CONCENTRACION DEL EXTRACTO (%)	PORCENTAJE DE REPELENCIA EN LAS 5 AREAS DEL ANTEBRAZO										\bar{x}	ds	es
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10			
Control	75	67	80	80	78	100	25	80	40	70	69.5	21.6	3.6
2.5 (0.625mg/cm ²)	66	83	60	45	66	60	75	40	80	70	64.5	13.94	2.69
5.0 (1.25 mg/cm ²)	75	67	60	75	89	70	100	100	90	70	79.6	14.13	2.71
7.5 (1.87 mg/cm ²)	87	83	100	100	89	80	100	80	90	90	90.0	7.88	1.84
10.0 (2.5 mg/cm ²)	100	100	100	100	78	90	100	100	100	100	96.8	7.31	1.75

El Método I no corresponde a la metodología más apropiada a nuestro juicio para evaluar el efecto repelente de los extractos de las plantas, debido a que se imposibilita el cálculo de CR 50 pues las \bar{x} son mayores que el 50% de la actividad repelente de los extractos vegetales evaluados.

En contraposición con la Metodología II (Mehr et. al., 1986) en una evaluación de repelentes comerciales frente a acaros de la familia Argasidae, utilizaron satisfactoriamente los mismos valores logarítmicos presentados en la Metodología II. Lo que fundamenta la efectividad del método.

Los controles evaluados en la Metodología II demostraron 100% en la capacidad de picada de Lu. gomezi y demostraron no tener efecto de repelencia en cada una de las 5 áreas de prueba y lo que corresponden a valores óptimos para comparar. Estos valores indican que las chitras no son afectadas ni por el agua, ni el alcohol y que pican a plenitud cuando se aplican concentraciones similares en cada una de las 5 áreas de la caja de prueba.

En el Cuadro No. 6 se aprecia como disminuye la capacidad de picada de Lu. gomezi, frente al extracto de Momordica charantica de

80.9% como \bar{x} para 0.01% a 15.5% como \bar{x} para la concentración 1.00%. Es obvio la disminución de capacidad de picada del insecto directamente proporcional con el aumento en la concentración del extracto.

En el Cuadro No. 7 se registró satisfactoriamente un aumento del efecto repelente de Momordica charantica, de $\bar{x} = 19.5\%$ para 0.01% y $\bar{x} = 84.5\%$ para 1.00%, respectivamente.

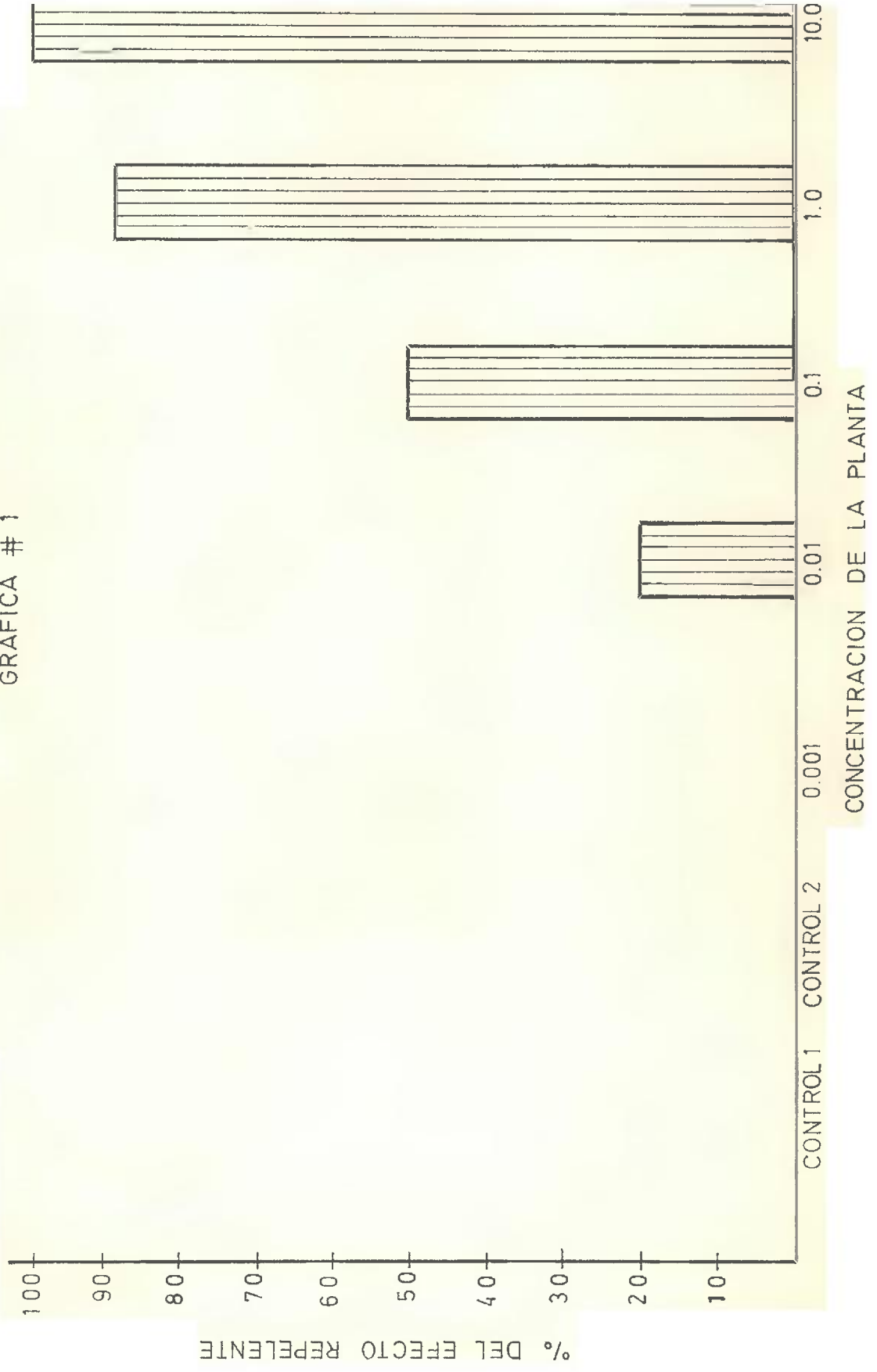
El análisis de varianza en el Cuadro No. 7 indica una buena diferencia significativa en las pruebas realizadas, ($p \leq 0.001$) lo que indica una probabilidad de error de uno en mil.

El análisis de comparación múltiple de las \bar{x} para la prueba de Duncan, nos establece 5 grupos bien marcados en cuanto a que los 5 son significativamente diferentes entre las \bar{x} del efecto repelente. Los grupos corresponden a 10.0; 1.00; 0.10; 0.01 y la concentración 0.001 con el control formarían un sólo grupo. No existe diferencia entre los controles y la concentración 0.001. Expresado en la Gráfica de Barra No. 1.

Metodología II:

Los resultados de las pruebas de capacidad de picada para Lu. gomezi y el efecto repelente de las dos plantas trabajadas están en los Cuadros 6, 7, 8 y 9.

EFFECTO REPELENTE DE MOMORDICA CHARANTICA (BALSAMINO) MET II
GRAFICA # 1

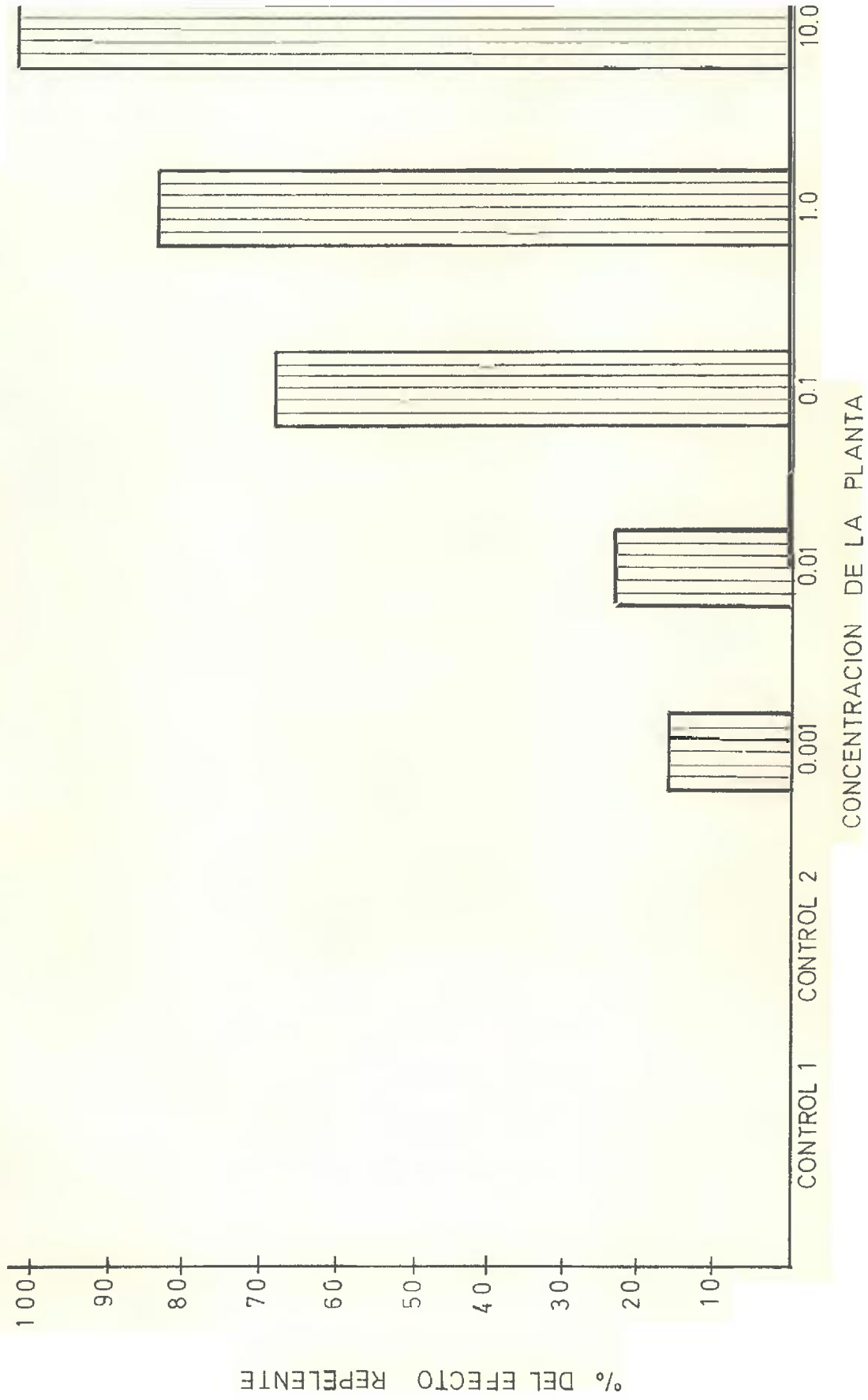


En el Cuadro No. 8 que representa la capacidad de picada Lu. gomezi, frente al extracto del fruto de Genipa americana, demuestra más efectividad en sus datos, al compararlos con los datos de Momordica charantica. El Cuadro No. 9 evidencia un aumento progresivo del efecto repelente, de Genipa americana, frente a las chitras. Demostrándose para 0.001%; \bar{x} = 14.5% de efecto repelente, 0.01% corresponde a \bar{x} = 23.2%, 0.10% a \bar{x} = 67.5% y para 1.00% la \bar{x} = 82.5% de efecto repelente. Registrándose en la concentración 10.0% un 100% de repelencia.

Los mejores datos los encontramos representados en el análisis de varianza, bajo este diseño experimental de áreas completamente al azar, indica diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) entre las concentraciones. El valor del coeficiente de variación fue de 11.08%, lo que indica un buen control experimental. Los cálculos estadísticos indicaron un $F = 196,82$ que representa una significancia de ($p < 0.0001$). El análisis de comparación múltiple de Duncan nos designa 6 grupos bien marcados que corresponden a cada una de las 5 concentraciones trabajadas y otro grupo corresponde a los controles con porcentajes de actividad repelente, lo que representan datos comparables en las pruebas.

La Gráfica No. 2 de barras indica el efecto repelente de Genipa americana, en cada una de las concentraciones relacionadas con el porcentaje de repelencia.

EFFECTO REPELENTE DE GENIPA AMERICANA (JAGUA) MET II
GRAFICA # 2



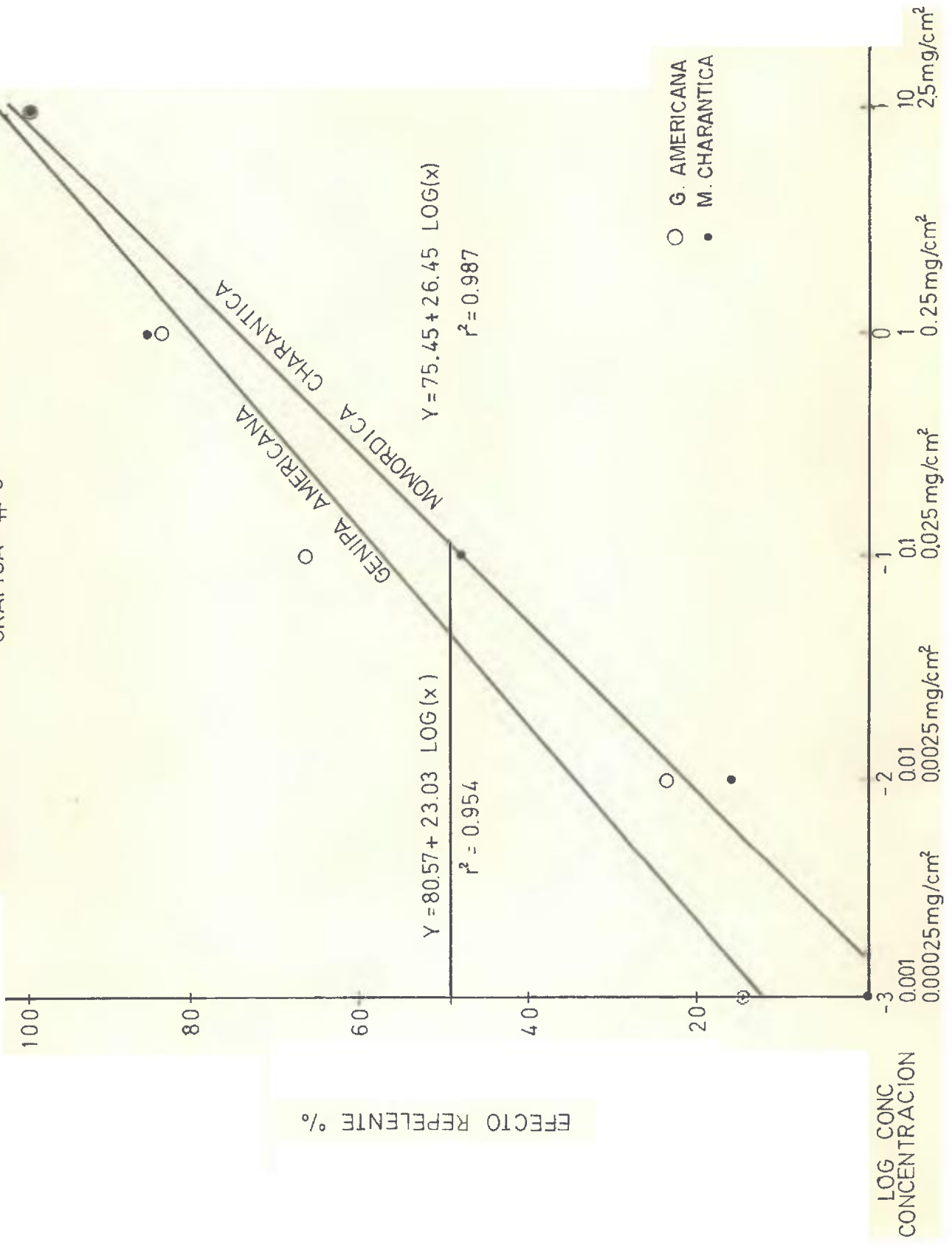
CUADRO No. 9

Resultado de efecto repelente en diferentes concentraciones del extracto de *Genipa americana* (jagua) frente a *Lu. gomezi*

CONCENTRACION DEL EXTRACTO (%)	PORCENTAJE DE REPELENCIA EN LAS 5 AREAS DEL ANTEBRAZO (t = 30 minutos)										\bar{x}	ds	es	
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉	R ₁₀				
Control ₁ (libre)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Control ₂ (disolvente)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.001	10	15	20	10	18	10	20	15	17	15	10	14.5	4.22	1.21
0.01	20	22	25	24	25	17	17	25	20	25	25	23.2	3.46	1.06
0.10	60	80	70	75	60	70	70	80	60	50	67.5	9.79	2.12	
1.00	90	80	75	85	90	75	90	85	80	75	82.5	6.35	1.59	
10.00	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0	0



MODELO DE REGRESION LINEAL DEL % DE REPELENCIA
 GRAFICA # 3



La CE_{50} y la CE_{95} se calcularon para el Método II mediante un modelo de regresión lineal, lo que nos explica el crecimiento lineal del efecto repelente, con un aumento en la concentración de los extractos de las plantas. En la Gráfica 3, para las pruebas con Genipa americana por cada unidad en el log de la concentración, el porcentaje aumentó 23.03, con un coeficiente de determinación de este modelo de $r^2 = 0.954$ el cual es altamente significativo.

Para las pruebas con Momordica charantica por cada unidad en log de la concentración, el porcentaje aumentó en 26.45, con un coeficiente de determinación para este modelo de $r^2 = 0.987$ el cual es altamente significativo. El Cuadro No. 10 y 11 representan el comportamiento de Lu. gomezi frente al extracto de Genipa americana. Lo promedios de la CR_{50} que satisfactoriamente debe ser la dosis que repele al 50% resultó con datos de 30.2% y 37.7% en relación a la capacidad de picada y 69.8% - 62.3% en cuanto al efecto repelente de las chitras frente a Genipa americana. Estas pruebas evidenciaron que la CR_{50} probada representa un efecto mayor en cuanto a que repelen a más del 50% de las Lu. gomezi. La concentración es más alta que la necesaria para repeler al 50% de las chitras. Lo que representan valores satisfactorios. La CR_{95} calculada se ajusta más a la realidad, encontrándose como

\bar{x} = 4.3% de capacidad de picada en el primer bioensayo y \bar{x} = 4.6% para el segundo bioensayo. El efecto repelente de la CR_{95} reportó 95.1% y 96.4% como \bar{x} para los dos bioensayos, datos que son satisfactorios para repeler al 95% de las Lu. gomezi. En la aplicación del extracto de Genipa americana se presenta el problema de la tinción por parte de la planta a la piel, queda una tonalidad azul negruzca que perdura por más o menos 4 días, en condiciones de lavados normales con agua y un suave jabón de cuerpo. Los extractos de Genipa americana fueron más eficaces que las pruebas con Momordica charantica. En Genipa americana encontramos valores de efecto repelente hasta para dilución de 0.001%, dato que no concuerda con pruebas similares para Momordica charantica. La CR_{50} para Genipa americana es de 0.085% y la CR_{50} para Momordica charantica es de 0.15%, una mayor cantidad en concentración del extracto.

Se evidencia que en iguales concentraciones de Genipa americana y Momordica charantica, la Genipa americana es mejor en su efecto repelente contra Lu. gomezi.

CUADRO No.10

Resultado de capacidad de picada de Lu. gomezi con dos concentraciones
CR50 y CR95 del extracto de Genipa americana (jagua)

CONCENTRACION DEL EXTRACTO (%)	BIOENSAYO	PORCENTAJE DE CAPACIDAD DE PICADA EN LAS 5 AREAS DEL ANTEBRAZO (t = 30 minutos)										\bar{x}	ds
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉	R ₁₀		
CR50 (0.085%) (0.02125 mg/cm ²)	1	10	40	20	50	60	40	50	20	12	0	30.2	20.3
	2	20	46	13	50	58	60	50	20	40	20	37.7	17.7
CR95 (6.25%) (1.5625 mg/cm ²)	1	2	5	0	10	15	3	0	4	10	0	4.3	5.15
	2	0	8	0	10	10	0	6	5	0	7	4.6	4.25

CUADRO No. 11

Resultado del efecto repelente de Genipa americana (jagua) a dos concentraciones CR50 y CR95 frente a Lu. gomezi

CONCENTRACION DEL EXTRACTO (%)	BIOENSAYO	PORCENTAJE DE REPELENCIA EN LAS 5 AREAS DEL ANTEBRAZO (t = 30 minutos)											
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉	R ₁₀	\bar{x}	ds
CR50 (0.085%) (0.02125 mg/m ²)	1	90	60	80	50	40	60	50	80	88	100	69.8	20.3
	2	80	54	87	50	42	40	50	80	60	80	62.3	17.75
CR95 (6.25%) (1.5625 mg/m ²)	1	98	95	100	90	85	97	100	96	90	100	95.1	5.15
	2	100	92	100	90	100	100	94	95	100	93	96.4	4.00

El Cuadro No. 12 y 13 en pruebas con Momordica charantica indicaron \bar{x} en el primer bioensayo de 30.7 y 34.7% de capacidad de picada; 67.6 y 67.0% como efecto repelente, con un efecto superior en repeler al 50% de las chitras. Los datos para la CR_{95} son muy heterógeneos para Momordica charantica $\bar{x} = 2.5$ y 12.5 en relación a la capacidad de picada. En los datos con Genipa americana encontramos mejores resultados. Pero con el balsamino no tenemos la limitante de la coloración por lo que representa un extracto superior en su uso natural como repelente. Con la CR_{95} $\bar{x} = 91.0\%$ y 94.0% para Momordica charantica que no produce ningun inconveniente en color, reportándose como un mejor extracto para evitar picadas.

CUADRO No. 12

Resultado de capacidad de picada de Lu. gomezi a dos concentraciones
CR50 y CR95 de Momordica charantica (balsamino)

CONCENTRACION DEL EXTRACTO (%)	BIOENSAYO	PORCENTAJE DE CAPACIDAD DE PICADA EN LAS AREAS DEL ANTEBRAZO (t = 30 minutos)											
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉	R ₁₀	\bar{x}	ds
CR50 (0.15%) (0.0375 mg/m ²)	1	16	20	8	20	46	40	25	20	50	62	30.7	17.57
	2	40	25	40	12	33	33	30	17	47	70	34.7	16.34
CR95 (6.25%) (1.875 mg/m ²)	1	0	10	5	0	10	0	0	0	0	0	2.5	4.25
	2	10	30	40	10	0	5	20	10	0	0	12.5	13.6

CUADRO No. 13

Resultado del efecto repelente de Momordica charantica (balsamino) a dos concentraciones
CR50 y CR95 frente a Lu. gomezi

CONCENTRACION DEL EXTRACTO (%)	BIOENSAYO	PORCENTAJE DE CAPACIDAD DE PICADA EN LAS 5 AREAS DEL ANTEBRAZO (t = 30 minutos)											
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉	R ₁₀	\bar{x}	ds
CR50 (0.15%) (0.0375 mg/cm ²)	1	84	92	54	75	50	38	60	75	60	88	67.6	17.87
	2	67	67	70	83	53	30	80	80	60	80	67.0	16.2
CR95 (7.5%) (1.875 mg/cm ²)	1	100	100	90	100	100	100	100	90	70	60	91.0	14.5
	2	90	100	95	100	80	90	100	100	90	95	94.0	6.58

Los Cuadros 14 y 15 indican la capacidad y la actividad repelente de las chitras, frente al aceite Johnson para uso comercial de niños, que evidenció una repelencia de 50% en concentración comercial. De manera tal que comparativamente con los extractos, no representa una gran ventaja. El DEET que es un producto comercial con demostrada eficacia para repeler Nematóceras, representó \bar{x} = 93.3 en el efecto repelente. Dato que comparativamente con los extractos pudiese ser ventajoso en el efecto repelente y minimizar la capacidad de picada para Lu. gomezi.

Analizando los resultados, encontramos que la concentración comercial del DEET es de 50%, lo que comparativamente favorece a los extractos de las plantas cuya concentración para la CR₉₅, que sería el dato comparable, representa un 6.25% para Genipa americana (con una \bar{x} = 96.4% de efecto repelente) y 7.5% para Momordica charantica (en \bar{x} = 94.0% de efecto repelente).

Ampliar estudios que evalúen a diferentes extractos de plantas, como repelentes de artrópodos hematófagos es un área de investigación muy prometedora.

El hombre del campo, con recursos económicos limitados y en muchos

casos no existentes, no puede depender del uso de repelentes comerciales (como DEET) que son costosos y difíciles de adquirir. El uso de plantas o de sus extractos, es la única manera para proteger al campesino, pero se necesita de mayor investigación por partes de científicos. El presente trabajo es el primer paso en esta dirección.

CUADRO No. 14

Resultados de capacidad de picada de Lu. gomezi frente a un producto comercial (DEET) y al aceite Johnson para niños

CONCENTRACION DEL PRODUCTO	PORCENTAJE DE PICADA EN LAS 5 AREAS DEL ANTEBRAZO										\bar{x}	ds
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉	R ₁₀		
DEET (50%)	10	5	7	5	6	9	4	5	10	6	6.7	2.21
Aceite Johnson para niños de uso comercial	60	30	55	30	35	50	40	45	60	40	44.5	11.41

CUADRO No. 15

Resultados del efecto repelente del producto comercial (DEET) y del aceite Johnson para niños frente a Lu. gomezi

CONCENTRACION DEL PRODUCTO	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉	R ₁₀	\bar{x}	ds
	PORCENTAJE DE PICADA EN LAS 5 AREAS DEL ANTEBRAZO										(t = 30 minutos)	
DEET (50%)	90	95	93	95	94	91	96	95	90	94	93.3	2.21
Aceite Johnson para niños de uso comercial	40	70	45	70	65	50	60	55	40	60	55.5	11.41

CAPITULO IV

CONCLUSION

1. Cría de *Lutzomyia gomezi*

En el presente trabajo podemos concluir que el método Chaniotis (1975) sirve para criar otras especies del género *Lutzomyia* que no sea solo *Lu. trapidoi*, probada en 1975 y 1986. Con base a este método se ha logrado tener 9 generaciones sucesivas de *Lu. gomezi*.

El método es modificado con la aplicación de 50,000 U de Nistatina (Micostatin de uso pediátrico) para el control de hongos. Dosis que no afecta el desarrollo de los inmaduros de *Lutzomyia*.

2. Pruebas de extractos de plantas como repelentes

En la República de Panamá, el aborígen y el colono se preocupan por molestias, causadas debido a picaduras de Nematóceras. En la encuesta aplicada, podemos concluir que existen plantas utilizadas para evitar dichas picadas.

En el presente trabajo hemos probado extractos de *Momordica charantica* y de *Genipa americana*, dos de las plantas usadas más comunmente y hemos logrado dosis que repelen al 50% y al 95% de las chitras de la especie *Lu. gomezi*.

Como conclusión final tenemos que la CR_{50} y la CR_{95} para Momordica charantica corresponden a 0.15% (equivalente a 0.0375 mg/cm^2) y 7.5% (equivalente a 1.875 mg/cm^2) respectivamente. La CR_{50} y la CR_{95} para Genipa americana corresponden a 0.085% (equivalente a 0.02125 mg/cm^2) y 6.25% (equivalente a 1.5625 mg/cm^2), respectivamente.

Los extractos trabajados hasta el momento, deben ser evaluados con otras especies de Artrópodos, vectores de enfermedades al hombre y animales. Además, creemos que hay mucha oportunidad de encontrar otras plantas autóctonas en Panamá, con propiedades de repelencia contra artrópodos, mucho mejor que las dos plantas que hemos probado en este trabajo con límites de tiempo y recursos financieros.

BIBLIOGRAFIA CITADA

ADLER, S., & Theodor, O. 1957. Transmission of disease agents by Phlebotomine sand flies. Annual Review of Entomology 2:203 - 226.

Anónimo. 1916. American Society for testing and materials. Standard methods field testing topical applications of compound as repellents for medically important and pest arthropods (including insects, ticks and mites): 1 mosquitoes. Annual book. E: 939 - 953.

Anónimo. 1975. American Association for the Advancement of Science. Implication of Phlebotomus sand flies as vector of Bartonellosis and Leishmaniasis as Early as 1764. 190: 154 - 155.

Anónimo. 1916. American Society for testing and materials. Standard test methods for Laboratory testing of non-commercial mosquito repellent formulations on the skin. Annual book. E : 951 - 983

Anónimo. 1983. Department of Agriculture. Semi annual report of entomological research by the U S. Department of Agriculture on insects of Military importance. No. 82 (2) - 83 (2). 1 - 138 Pg.

Annual report. 1983 - 1984. Gorgas Memorial Laboratory.

BARRETO, M. P. 1955. Sobre a sistemática da Sub - flia Phlebotominae Rondani (Diptera: Psychodidae). Rev. Brasil. Ent. 3: 173 - 190.

Boletín Epidemiológico. 1980 Ministerio de Salud. Vol. IV. (Nos. 1 - 12; enero - diciembre).

_____. 1981. Ministerio de Salud . Vol. V. (Nos. 1 - 12; enero - diciembre).

_____. 1982. Ministerio de Salud . Vol. VI. (Nos. 1 - 12; enero - diciembre).

_____. 1983. Ministerio de Salud . Vol. VII.
(Nos. 1 - 12; enero - diciembre).

_____. 1984. Ministerio de Salud . Vol. VIII.
(Nos. 1 - 12; enero - diciembre).

_____. 1985. Ministerio de Salud . Vol. IX.
(Nos. 1 - 7; enero - julio).

BUESCHER, M. D., Rutlege, L. C., Wirting, R.A., Glackin, K. B., & M. A. Mousa. 1982. Laboratory of repellents against Lutzomyia longipalpis (Diptera: Psychodidae). J. Med. Entomol. 19: 176 - 180.

CALERO, C. M. & C. N. Johnson. 1953. Cutaneous Leishmaniasis in the Republic of Panama report of Twenty-fives cases. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2: 628 - 633.

CANDANEDO, S. 1977. "Hacia un compendio etnofarmacognóstico de Panamá". Trabajo de graduación. Universidad de Panamá, Panamá.

CHANLOTIS, B. N., James, N. M. Correa, M. A. Tesh, R. B. & K. M. Johnson. 1971a. Natural Population dynamics of Phlebotomine sand flies in Panama J. Med. Entomol. 8: 339 - 352.

CHANLOTIS, B. N., Correa, M. A. Tesh, R. B. & K. M. Johnson. 1971b. Daily and seasonal manbiting activity of Phlebotomine sand flies in Panama. J. Med. Entomol. 8: 415 - 420.

CHANLOTIS, B. N., Correa, M. A. Tesh, R. B. & K. M. Johnson. 1972. Diurnal resting of Phlebotomine sand flies in Panamanian. Tropical Forest. J. Med. Entomol. 1: 91 - 98.

CHANLOTIS, B. N., Correa, M. A. Tesh, R. B. & K. M. Johnson. 1974a. Horizontal and vertical movements of Phlebotominae sand flies in Panamanian rain forest. J. Med. Entomol. 11: 369 - 375.

CHANLOTIS, B. N.. 1974b. Use of external characters for rapid

identification of Phlebotominae sand flies in vector studies. J. Med. Entomol. 11: 501.

CHANLOTIS, B. N. 1974c. Sugar - feeding behavior of Lutzomyia trapidoi (Diptera - Psychodidae) under experimental conditions. J. Med. Entomol. 11: 73 - 79.

CHANLOTIS, B. N. 1975. A new method for rearing Lutzomyia trapidoi (Diptera - Psychodidae), with observations on its development and behavior in the laboratory. J. Med. Entomol. 12: 183 - 188.

CHANLOTIS, B. N. Parson, R. E., Harlan, H. J., & M. A. Correa. 1982. A pilot study to control Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a neotropical rain forest. J. Med. Entomol. 19: 1 - 5.

CHANLOTIS, B. N. 1986. Successful colonization of the sand fly Lutzomyia trapidoi (Diptera: Psychodidae), with enhancement of its gonotrophic activity. J. Med. Entomol. 23: 163 - 166.

CHRISTENSEN, H. A., Fairchild, G. B., Herrer, A., Johnson, C. M. Young, D. G. & A. M. Vásquez. 1983. The ecology of cutaneous Leishmaniasis in the Republic of Panama. J. Med. Entomol. 20: 463 - 484.

COUTINHO, J. O. 1940. Localizacao de forma em leptomonas possivelmente de Leishmania brasiliensis, no faringe do Phlebotomus pessoai naturalmente infectado. Anis da Faculdade de Medicina da Univerdidade de Sao Paulo 16: 163 - 171.

DARLING, S. T. 1910. Autochthnous oriental sore in Panama. Trans. Soc. Med. Hyg. 4: 60 - 63.

DUKE, J.A. 1972. Isthmian Ethnobotanical Dictionary 8210 Murphy Road, Fulton, Md. 20759.

DWYER, J. D. 1973. Flora of Panama. Ann. Missouri Bot. Gard. 67: 182 - 184.

- ESCOBAR, N. 1972. Flora tóxica de Panamá. Editorial Universitaria. Pg. 86.
- FAIRCHILD, G. B. & M. Hertig. 1948. Notes on the Phlebotomus of Panama (Diptera - Psychodidae) III. Ann. Ent. Soc. Am. 41: 247 - 257.
- FAIRCHILD, G. D. & D. G. Young. 1973. Studies of Phlebotomine sand flies; annual report. University of Florida, Department of Entomol. and Nematolog. 43 pgs.
- FAUST, E. C., Russell, P. F. & R. C. Jung. 1975. Parasitología Clínica. Editora Salvat. 888 pgs.
- FLUNO, J. A. & D. Weidhaas. 1968. Saving your skin insect repellents. US. Dept. of Agriculture. 293 - 296.
- FORATTINI. O. P. 1973. Entomología Médica. Editora Edgar Blucher Ltda. 4to. Vol. 4. 658 pgs.
- GEMETCHU, T. 1971. Liver and yeast as larval diets in colonization of sand fly (*P. longipes*). Tras. Roy. Soc. Trop. Fred. Hyg. 65: 682 - 683.
- HERRER, A. 1956. Phlebotomus y DDT en el Perú. Experimentos sobre control de la verruga y la uta. Revista de Medicina experimental (Lima) 10: 99-137.
- HERRER, H. & H. A. Christensen. 1975. Implication of Phlebotomus sand flies as vector of Bartonellosis and Leishmaniasis as early as 1764. Science 190: 154 - 155.
- HERRER, H. & H. A. Christensen. 1976. Natural cutaneous Leishmaniasis among dogs in Panama. A. J. Trop. Med. Hyg. 25: 59 - 63.
- HERTIG, M. C., Fairchild G. B. & P. Johnson. 1958. Leishmaniasis transmission reservoir project. In the 30th annual report.

- HERTIG, M. C. & P. Johnson. 1961a. The rearing of Phlebotomus sand flies (Diptera: Psychodidae) I. Technique. Ann. Ent. Soc. Amer. 54: 753 - 764.
- HERTIG, M. C. & P. Johnson. 1961b. The rearing of Phlebotomus sand flies (Diptera: Psychodidae) II Development and behavior of Panamanian sand flies in laboratory culture. Ann. Entomol. Soc. Am. 54: 764 - 776.
- HERTIG, M. C. & E. Mc Connell. 1963. Experimental infection of Panamanian Phlebotomus sand flies with Leishmania. Exp. Parasitology. 14: 2 - 106.
- JAMMU TAWI. 1982. Regional Research Laboratory. Cultivation & utilization of medicinal plants. C. K. Atal & B. M. Kapur. 877 pgs.
- JOHNSON, P. T., Mc Connell, E. & M. Hertig. 1962. Natural and experimental infections of Leptomonad flagellates in Panama Phlebotomus sand flies. J. Parasitology. 48: 158.
- JOHNSON, P. T., Mc Connell, E. & M. Hertig. 1963. Natural infections of Leptomonad flagellates in Panamanian Phlebotomus sand flies. Exp. Parasitology. 14: 107 - 122.
- LEWIS, D. J. 1966. Mechanical transmission of Leishmania. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 60: 419.
- LEWIS, D. J., Young, D. G., Fairchild, G. B. & D. M. Minter. 1977. Proposals for stable classification of Phlebotomine sand flies (Diptera - Psychodidae) Syst. Entomol. 2: 319 - 332.
- LUMSDEN, W. H. & D. A. Evans. 1979. Biology of the kinetoplastida. Academic Press Inc. New York. 738 pgs.
- MARTINS, A. V. & E. N. Morales - Farias. 1972. Sobre a distribuicao geográfica dos flebotomíneos americanos (Diptera - Psychodidae - Phlebotominae). Rev. Brasil. Biol. 32: 361 - 371.

- Mc CONNELL, E. 1963. Leptomonads of Wild - Caught Panamanian Phlebotomus: culture and animal inoculation. Exp. Parasitology. 14: 123 - 128.
- MEHR, Z. A. Rutledge, L. C., Morales, E. L. & J. L. Inase. 1986. Laboratory evaluation of commercial and experimental repellents against Ornithodoros parkeri (Acari: Argasidae). J. Med. Entomol. 23: 136 - 140.
- RUTLEDGE, L. C. Wirtig, R. A. & M. D. Buescher. 1982. Repellent activity of proprietary bath oil (Skin - So-Soft). Mosq. News. 42: 557 - 559.
- SCHMIDT, M.L & J.R. Schmidt. 1969. Relative effectiveness of chemical repellents against Phlebotomus papatasi (Scopoli). J. Med. Entomol. 6 : 79 - 80.
- SCHRECK, C. E., Kline, D. L., Chaniotis, B. M., Wilkinson, N., Mc Govern, T. P. & D. E. Weidhaas. 1982. Evaluation of personal protection methods against Phlebotomine sand flies including vector of Leishmaniasis in Panama. Am. J. Trop. Med. Hyg. 3: 1046 - 1053.
- SHAW, J. J. 1964. A possible vector of Endotrypanum schaudinni of the sloth, Choloepus hoffmanni, in Panama. Nature (London) 201: 417 - 418.
- SOKAL, R. R. & F. J. Rohff. 1979. Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica. Ediciones H. Blume. Madrid. 832 pgs.
- TELFORD, S.R., Herrer, A. & H. A. Christensen. 1972. Enzootic cutaneous leishmaniasis in eastern Panama. III. Ecological factors relating to the mammalian host. Ann. Trop. Med. Parasitology. 66: 173 - 179.
- TESH, R. B., Chaniotis, B. N., Aronson, M. D. & Johnson, K. M. 1971. Natural host preferences of Panamanian phlebotomine sand flies as determined by precipitin test. Am. J. Trop. Med. Hyg., 20: 150 - 156.

- TESH, R. B. Chaniotis, B. N. Peralta, P.H. & K. M. Johnson.
1974. Ecology of viruses isolated from Panamanian
Phlebotomine sand flies. Am. J. Trop. Med. Hyg. 23: 258 -
269.
- THEODOR, O. 1965. On the classification of american
Phlebotomine. J. Med. Entomol. 2: 171 - 197.
- WUNDERLIN, R. 1973. Flora of Panama. Ann. Missouri. Bot. Gard.
60: 155 - 167.
- YOUNG, D. G. 1979. A review of the bloodsucking Psychodid flies
of Colombia (Diptera: Phlebotominae and Sycoracinae) Bulletin
806. Department of Entomology and Nematology. University of
Florida, Gainesville, Florida 32611. 1 - 263.
- YOUNG, D. G., Perkins P.V. & R.G. Endris. 1981. A larval diet for
rearing phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). J.
Med. Entomol. 18: 446.



Fig 17. Envases de cría de Lu. gomezi con hongos.



Fig 16. Envases utilizados por Chaniotis (1975).



Fig 15. Jaula utilizada por el método de Hertig & Johnson (1961).



Fig 14. Equipo de cerámica utilizado por Hertig & Johnson (1961).



Fig 14. Equipo de cerámica utilizado por Hertig & Johnson (1961).



1mm

Fig 13. Pupa obtecta de Lu. gomezi.



20000x

Fig 12. Larva vermiforme de Lu. gomezi.



Fig 11. Huevo y corium de Lu. gomezi.



Fig 10. Caja de prueba para extractos de plantas como repelentes.



24cm

Fig 9. Genipa americana (Linnaeus, 1759) (jagua).



| 5cm

Fig 8. Momordica charantica (Linnaeus, 1953) (balsamino)



Fig 7. Aspirador utilizado en el transporte de Lu. gomezi.

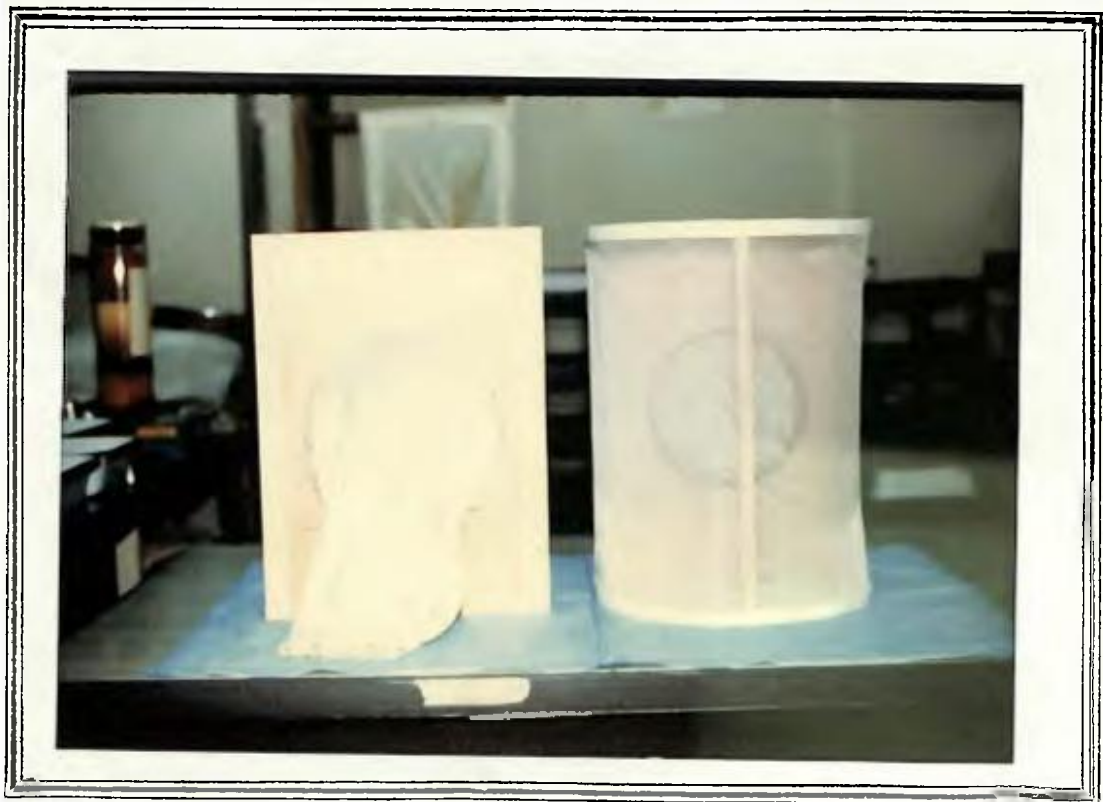


Fig 6. Jaula utilizada en la alimentación de adultas de Lu. gomezi.



Fig 5. Orificio necesario para introducir las chitras al envase de cría.

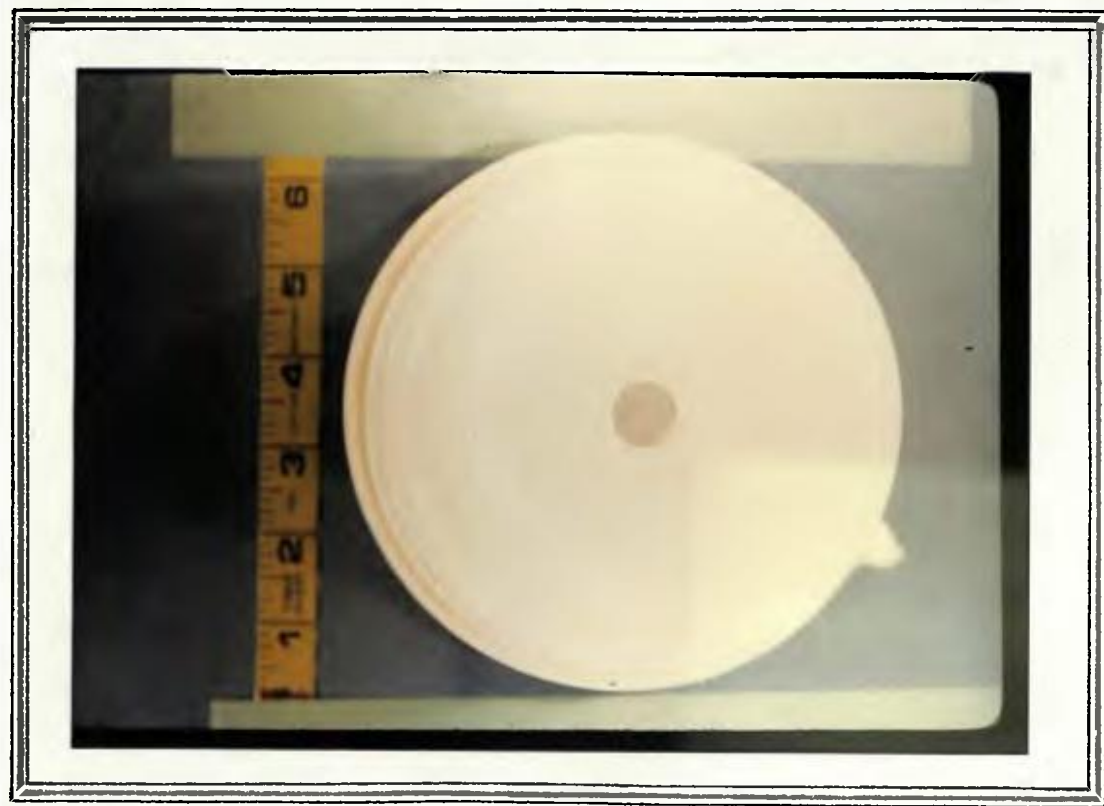


Fig 4. Orificio en el fondo del envase de cría, con el propósito de permitir la entrada del agua y mantener la humedad necesaria.



Fig 3. Tapa del envase de cría con organza y rollos de algodón.



Fig 3. Tapa del envase de cría con organza y rollos de algodón.

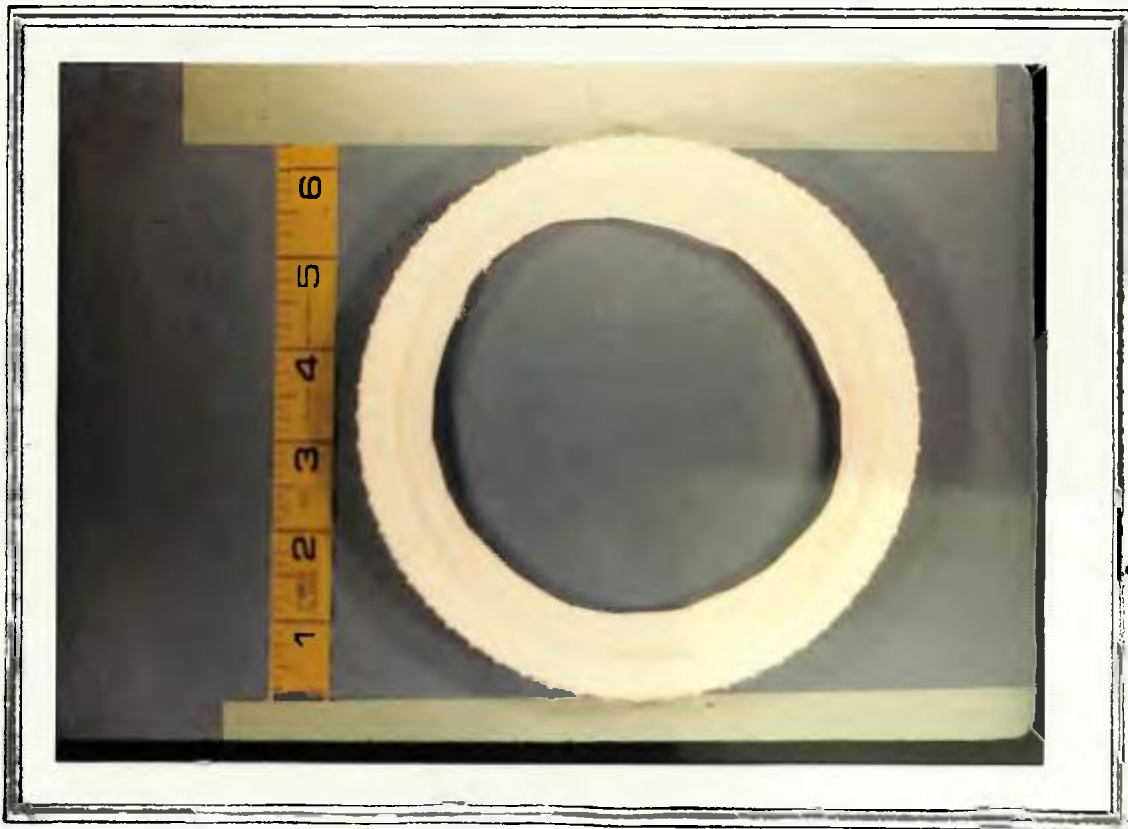


Fig 2. Preparación de la tapa del envase de cría, muestra el orificio que fué cubierto con el nylon.



Fig 1. Envases utilizados en cría de Lu. gomezi.