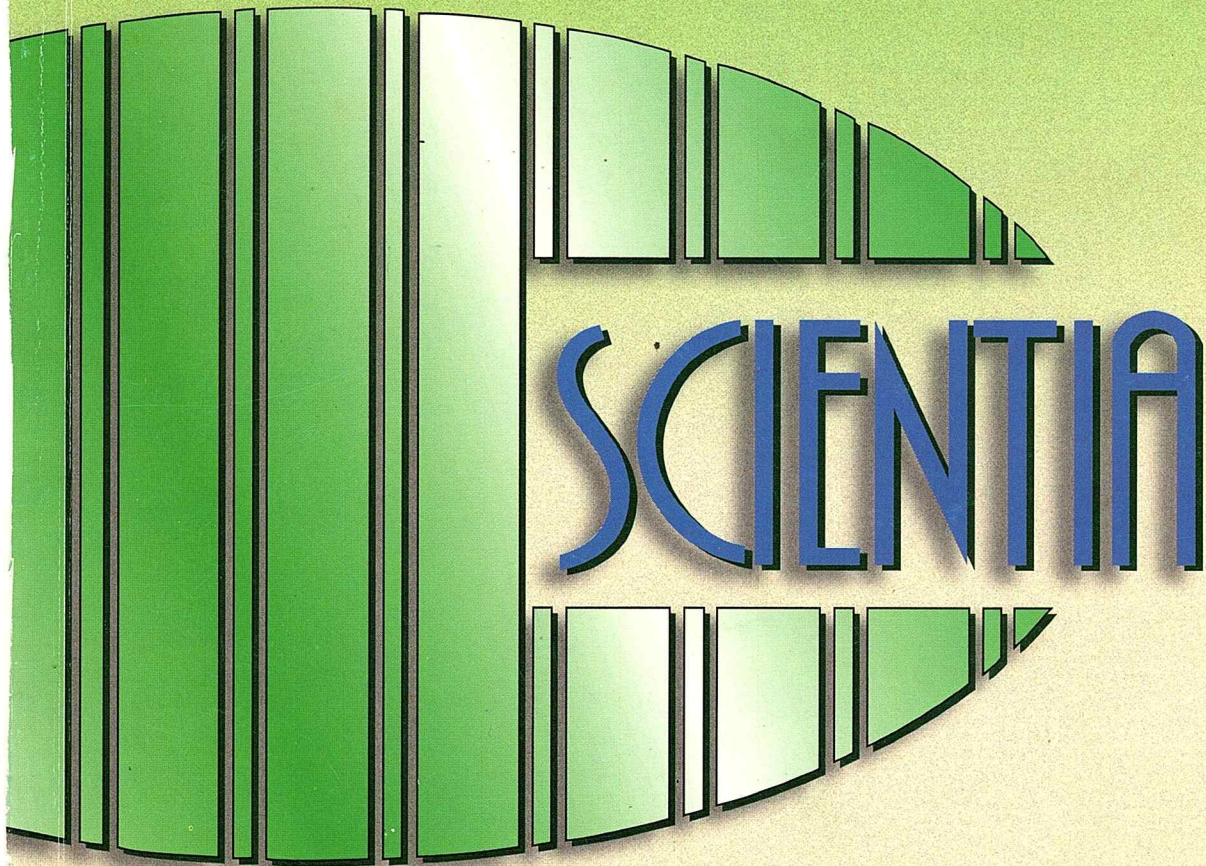


ISSN 0258-9702

**REVISTA DE  
INVESTIGACIÓN DE LA  
UNIVERSIDAD DE PANAMÁ**



---

Vol. 15 • No. 2 • Diciembre de 2000



## **CONSEJO EDITORIAL**

### **DIRECTORA**

Margarita Cornejo

### **EDITOR**

Dr. Alfredo Figueroa Navarro

Prof. Jorge Castillo  
Facultad de Economía

Dr. Plinio Valdés  
Facultad de Medicina

Dr. Raúl De Los Ríos  
Facultad de Odontología

Prof. Haydée Watson  
Facultad de Ciencias Naturales,  
Exactas y Tecnología

Ing. Luis Carlos Salazar  
Facultad de Ciencias Agropecuarias

Dra. Vilma Turner  
Facultad de Farmacia

Dra. Marina de Laguna  
Facultad de Enfermería

**Portada, diseño y diagramación:**  
Novo Art, S.A.

Impreso en Panamá  
250 ejemplares



**Revista de Investigación de la  
Universidad de Panamá**



Publicación de la Vicerrectoría  
de Investigación y Postgrado



## AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD DE PANAMÁ

Julio Vallarino  
RECTOR

Argentina Ying de Turner  
SECRETARIA GENERAL

Jorge Cisneros  
VICERRECTOR ACADÉMICO

Eduardo Durán  
VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO

Franklin Ward  
VICERRECTOR ADMINISTRATIVO

Elvia de De Los Ríos  
VICERRECTORA DE EXTENSIÓN

Edwin Díaz  
VICERRECTOR DE ASUNTOS ESTUDIANTILES

Osman Robles  
DIRECTOR GENERAL DE SEDES Y EXTENSIONES DOCENTES

## NOTA EDITORIAL

Los temas que se abordan en este ejemplar corresponden a diversas actividades relacionadas con el quehacer científico.

Se presenta en este número de **Scientia**, un estudio del efecto de la sal de cocina sobre el desarrollo de las hembras del mosquito *Aedes aegypti* con el propósito de encontrar un método inocuo de control de plagas; en especial para este organismo que ejerce un profundo impacto en la salud pública. Este trabajo se presenta con el interés que tienen los entomólogos en contribuir a la búsqueda de alternativas que permitan una mejor solución a este problema en nuestro país.

Los esfuerzos investigativos continúan en el área de los invertebrados y en este caso se evalúa el extracto de la raíz de *Lonchocarpus penthaphyllus* en el control de chitras de *Lutzomya sp.*, organismo vector de la leishmaniasis. En los últimos años, en el Parque Nacional Altos de Campana, se ha reportado un aumento en el número de casos de leishmaniasis, brindando así este esfuerzo del control biológico una pesquisa que busca fórmulas que permitan su limitación. En el ámbito de los estudios referentes a los insectos acuáticos, cabe mencionar, el estudio reportado por un grupo de investigadores del Centro Regional Universitario de Veraguas (CRUV). Donde se registra el número de especies presentes en un afluente del Río Lirí. El mismo contribuye a fortalecer el entendimiento de los estudios en este campo que, además de diferenciar el comportamiento de estos ejemplares permite identificar las especies indicadoras de la presencia de actividades de carácter antropogénico.

Es relevante señalar el esfuerzo conjunto realizado entre la Universidad de Oriente en el Estado Sucre, en Venezuela y la Universidad de Panamá respectivamente, en el estudio de metales pesados en animales marinos, que permitan una mejor comprensión del papel de estos organismos en las evaluaciones ambientales. Los trabajos conjuntos sobre todo entre países hermanos, fortalecen las políticas de la revista y definen rumbos de colaboración entre nuestros vecinos.

Finalizamos esta publicación con sendos artículos: uno sobre virología animal y otro sobre arqueofísica. En el primero se abre toda una gama de nuevas posibilidades a través del estudio de la biología de virus en bovinos,

para abordar las enfermedades que nos agobian en este siglo XXI, entre otras el HIV/Sida y HTLV. Nuevamente y con gran satisfacción se publica otro artículo en este número en donde otro país hermano contribuye a realzar el valor científico de la revista. Participan la Universidad de Panamá y la Universidad de Costa Rica, respectivamente.

El artículo de física aplicada se refiere a detección arqueológica, especialmente ligado a las propiedades magnéticas de las rocas en el subsuelo. Con esta técnica se desarrolla una herramienta de valor para el estudio del efecto del hombre en muestras que contribuyen a conocer nuestro pasado. Esta colaboración proviene del Centro de Investigaciones con Técnicas Nucleares.

La Vicerrectoría de Investigación y Postgrado, de la Universidad de Panamá, aprovecha la oportunidad para invitar a los investigadores de sus facultades, institutos, centros de investigación, centros regionales y extensiones, a que remitan sus trabajos a la revista **Scientia** para su publicación. Esta invitación es extensiva a los investigadores de las restantes universidades e instituciones nacionales y extranjeras que se dediquen al cultivo de actividades análogas relativas a la Ciencias Naturales, Exactas, Biomédicas, Agronómicas, de la Tierra y la Tecnología.

**EFFECTO DE LA SALINIDAD SOBRE EL DESARROLLO GONADAL DE LAS HEMBRAS DEL MOSQUITO *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE)**

**IVÁN G. LUNA, LIZBETH R. GONZÁLEZ y JAMES I. COLOMA**

Programa Centroamericano de Maestría en Entomología,  
Vicerrectoría de Investigación y Postgrado,  
Universidad de Panamá.

**RESUMEN**

El efecto de la sal de cocina sobre el desarrollo gonadal del mosquito *Aedes aegypti* fue estudiado con el propósito de encontrar un método inocuo de controlar esta plaga. Con este propósito, se midieron el número y tamaño de los adultos emergidos en las siguientes soluciones salinas: 0; 0,4; 0,6; 0,8% de NaCl. Asimismo se determinó el efecto de las mismas sobre el desarrollo gonadal midiendo el número y tamaño de los ovocitos; así como la duración del ciclo gonadotrófico. Nuestros resultados mostraron la disminución en el número y tamaño de los adultos emergidos con el incremento de la concentración salina del medio. Asimismo, este aumento produjo la reducción en el número y tamaño de los huevos. Sin embargo, la salinidad no afectó la duración del ciclo gonadotrófico. Estos resultados son explicados mediante la canalización de la energía ante una situación estresante. Aparentemente, la mayor parte de ésta es empleada para contrarrestar el choque osmótico; aunque una parte de ella se canaliza para obtener huevos maduros que garanticen la perpetuación de la especie.

**PALABRAS CLAVES**

Fisiología, osmoregulación, diptera, *Aedes aegypti*.

## INTRODUCCIÓN

Los mosquitos constituyen el grupo de insectos más importantes concerniente a la salud pública, siendo cosmopolitas y de gran capacidad adaptativa. En el mundo existen 3065 especies de este grupo distribuidos en las seis zonas biogeográficas, de las cuales 253 especies están representadas en Panamá. Ellos pertenecen a la Familia Culicidae, Suborden Nematocera y Orden Diptera.

El mosquito *Ae. aegypti*, probablemente, tuvo su origen en el África, donde se encuentran sus tres variedades o subespecies: *Ae. aegypti* (forma típica), *Ae. aegypti queenslandensis* y *Ae. aegypti formosus*. Únicamente las dos primeras formas se encuentran en el continente americano (Nelson, 1986).

Tradicionalmente esta especie se ha conocido como el transmisor del virus del dengue y la fiebre amarilla. Su papel como vector de esta última enfermedad se demostró por primera vez entre 1900-1901 en Cuba. Posteriormente, en Australia, 1906, se sospechó su injerencia en la transmisión de la fiebre del dengue, siendo confirmada en 1916 (Pratt *et al.* 1966).

El *Ae. aegypti* se encuentra en la República de Panamá donde hasta mediados del siglo XX representó una plaga que producía gran cantidad de muertes. Por ejemplo, la fiebre amarilla fue una de las causas por la cual los franceses tuvieron que abandonar la construcción del Canal a fines del siglo XIX. La última epidemia de dengue tuvo lugar a inicios de la década de los 40 durante la Segunda Guerra Mundial. Desde entonces, las intensas y exitosas campañas anti *aegypti* han evitado brotes adicionales. A partir de ese decenio, debido a vigorosa campaña, este mosquito fue erradicado de nuestra república. Sin embargo, en agosto de 1985, nuestro país fue reinfestado por esta especie, debido, lo más probable, a la introducción de llantas para reencauche procedentes de los Estados Unidos. La reaparición de este mosquito en nuestra tierra fue preocupante debido a la tradición de tránsito de nuestro país, en el cual pueden llegar personas con el virus del dengue y reinfestarlos. Como era de esperar, esta reinfestación ocurrió cuando, en los últimos tres meses del año 1993 aparecieron catorce personas infectadas por este mosquito en San Miguelito. Muchos corregimientos alcanzaron altos índices de infestación entre 16 a 34%, por encima del 5% que es el valor significativo epidemiológico (Ministerio de Salud, 1988).

Los operativos de control a nivel nacional no han sido satisfactorios y la situación se agrava, ya que el mosquito ha extendido su radio de acción.



Actualmente, en Panamá los principales obstáculos en el control del mosquito *Ae. aegypti* han sido la capacidad del huevo de resistir largos períodos de sequía y la resistencia de las larvas y adultos a los principales insecticidas de uso convencional.

De acuerdo a Christopher (1960), la propagación de esta especie depende de tres factores: la presencia de sangre para el desarrollo de los huevos de las hembras, agua limpia para el desarrollo larval y una temperatura adecuada para el desarrollo de sus actividades. Como es de suponer, cualquier método de control se debe realizar sobre el segundo factor. De esta manera, los métodos de control más utilizados son el químico, el físico y el biológico. El primero se realiza con insecticidas residuales, es decir, que persisten por varios meses en el ambiente. Por ejemplo, el malatión y el temefos. El físico consiste en la reducción de fuentes o criaderos con la participación de la comunidad. En tanto que, en el biológico, se emplean agentes biológicos para disminuir la densidad poblacional de una especie.

Beadle, en 1939, fue el primero en demostrar que las larvas de mosquitos de agua salada presentan mecanismos de osmoregulación que no se encuentran en las formas larvales de dulceacuícola. Sohal y Copeland (1966) demostraron que las larvas de *Ae. aegypti* absorben agua e iones inorgánicos del medio ambiente hipotónico a través de sus papilas anales. Trabajos como los de Nayar y Sauerman (1974), Kardatzke (1989) y Luna (1995) han demostrado que tanto las larvas como los adultos de los mosquitos son afectados cuando se exponen a concentraciones salinas fuera de lo normal. Entre los efectos señalados por estos autores tenemos: alta mortalidad larval, asincronía en el desarrollo larval y reducción en el tamaño de los adultos. Lo que se pudiera emplear como un medio de control químico inocuo para los mosquitos.

*Ae. aegypti* es una especie de mosquito peculiar. Sus larvas requieren de agua limpia para su supervivencia, la cual obtiene en los ambientes domiciliarios (Christophers, 1960, Nelson, 1984). Estudios realizados por Luna (*datos no publicados*) señalan que esta especie sólo resiste concentraciones salinas de 0,8% (8 ‰), lo que la hace una especie con larvas susceptible a la salinidad del medio. Por lo tanto, eso nos lleva a pensar que la sal de cocina pudiera ser empleada como un método de control de esta plaga. De esta manera nuestro objetivo va dirigido básicamente a determinar la influencia de diferentes concentraciones de NaCl en el desarrollo ovárico de las hembras de esta especie y su efecto sobre el tamaño, forma y cantidad de huevos en desarrollo.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Área de trabajo:

Esta investigación fue realizada en el insectario del antiguo Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria (SNEM). Los especímenes se mantuvieron a  $30 \pm 2$  °C con una humedad relativa mayor de 70% y con un ciclo de 24 horas de iluminación.

### Material biológico:

Los especímenes fueron obtenidos de la colonia de *Ae. aegypti*, cepa Amelia Denis de Icaza, que se mantiene en el SNEM.

### Diseño experimental:

Cien huevos de *Ae. aegypti* fueron puestos a eclosionar por triplicados en recipientes de espuma plástica (*foam*) de 680,4 g con las bocas cubiertas con tela de tul y con 300 mL de las siguientes concentraciones salinas: 0%, 0,4%; 0,6%; 0,8%; 1,0%, 1,2% de NaCl. Las larvas emergidas fueron alimentadas con 0,15 g de levadura y su desarrollo hasta la etapa de pupa. Para las secciones siguientes sólo se trabajaron con las concentraciones salinas que presentaron suficiente cantidad de pupas para los experimentos; o sea, 0; 0,4,0,6 y 0,8% de NaCl. Estas pupas se repartieron aleatoriamente en seis cámaras de emergencia (jaulas de 30,48 cm x 30,48 cm) por cada salinidad; aproximadamente 20 pupas por jaula. Por lo tanto, este diseño comprendió 24 jaulas o unidades experimentales. Los mosquitos emergidos de todas estas cámaras fueron alimentados con miel de abeja como fuente de carbohidrato. Tres de las jaulas fueron seleccionadas al azar y sus hembras fueron alimentadas con sangre de cobayo (control); mientras que las restantes no recibieron este tratamiento (experimental). A las hembras que recibieron el tratamiento de sangre se le permitió alimentarse hasta observar su abdomen distendido a tres cuartos (3/4) de su volumen. Después de las 24 horas se procedió a disectar diariamente el abdomen de 16 hembras por salinidad por 4 días (96 horas) (4 hembras por réplica) donde se revisó su estadio gonadotrófico usando el criterio de Polovodova (Detinova, 1962; 1968). Asimismo, se midió su largo y número en los estadios  $C_4$  o  $C_5$  en cada salinidad. Para la disección de las hembras y tinción de los huevos se empleó el método sugerido por Best (1990). En este experimento también se midió por cada salinidad el número de adultos emergidos, el tamaño del cuerpo y el largo de las alas de dichos adultos.

### Análisis estadístico:

Las variables obtenidas de los adultos emergidos se analizaron mediante una prueba de ANOVA completamente al azar, usando como unidades experimentales las cámaras de emergencia y, como variable, el largo promedio de los huevos, el tamaño del cuerpo y largo de las alas de los adultos. El largo promedio de los huevos, debido a su variabilidad, se transformó usando el logaritmo natural. La duración y estadios del ciclo gonadotrófico fueron analizados mediante un ANOVA bifactorial de medidas repetidas. Las medias fueron comparadas mediante la prueba Honesta de Tukey. Todos los análisis estadísticos se realizaron usando el paquete STATISTICA® (Statistica, 1995).

### RESULTADOS

El porcentaje de emergencia de adultos en cada salinidad disminuye en número significativamente a medida que aumenta la salinidad ( $F_{5,12,5\%} = 1996$ ,  $p = 0,000$ ) (Figura 1). La prueba Honesta de Tukey señala tres grupos de salinidades: 0-0,4%, 0,6%, 0,8% y 1-0,2%. En cuanto al comportamiento del tamaño de los adultos, la Figura 2 indica un patrón semejante al anterior, el tamaño del cuerpo disminuye significativamente con el incremento de la salinidad ( $F_{5,12,5\%} = 176,2$ ;  $p = 0,000$ ). El comportamiento de las salinidades es semejante al anterior, en el cual observamos tres grupos: el primero constituido por las concentraciones 0-0,4%, el segundo por 0,6% y el último por 0,8-1,0%.

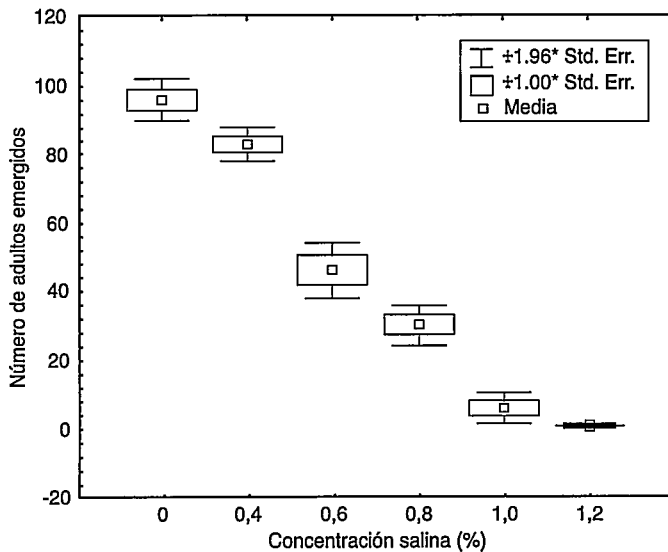
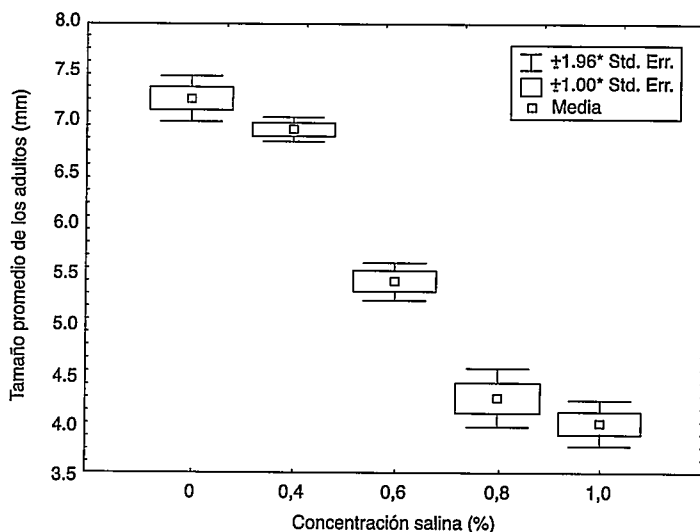


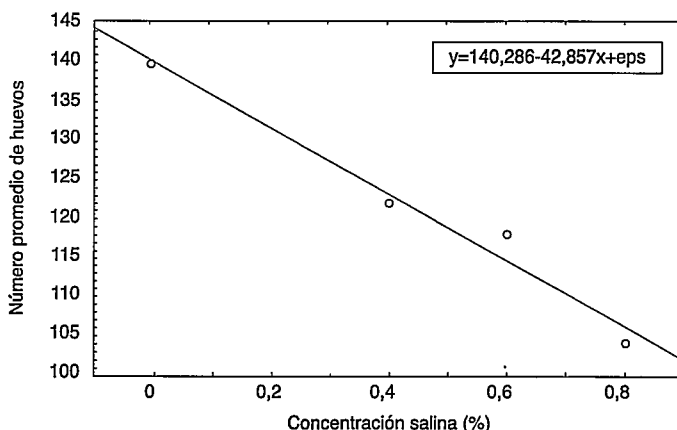
Figura 1. Comparación de la emergencia de los adultos de acuerdo a la concentración salina, observándose que ésta disminuye con el aumento de la salinidad.

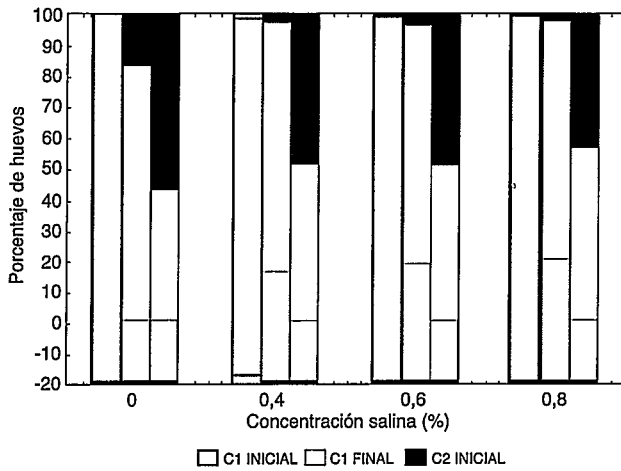
**Figura 2.**  
Comportamiento del tamaño de los adultos emergidos de acuerdo a la concentración salina donde se aprecia que el tamaño de ellos disminuye con la salinidad.



Con respecto a los huevos (Figura 3) se aprecia que el número promedio de ellos por hembra alimentada con sangre disminuye significativamente con respecto a la salinidad ( $F_{4,12,5\%} = 999,999$ ;  $p = 0,000$ ). La Figura 4 nos muestra que, en las hembras no alimentadas con sangre (control), los huevos no prosperaron más allá del estadio  $C_2$  inicial en todas las concentraciones salinas. Asimismo, la salinidad no afectó la proporción de los estadios de los ovocitos por hora ( $F_{18, 72,5\%} = 0,9275$ ;  $p = 0,549$ ). De esta manera, en todas las salinidades los huevos a las 24 horas se encontraban en estadio  $C_1$  inicial, que se caracteriza porque los folículos son esféricos con ocho células no diferenciadas y epitelio cúbico regular simple. A las 48 horas, la mayoría de los ovocitos estaban en  $C_1$  final (70-80%) y algunos en  $C_2$  inicial, cuyo epitelio folicular se encuentra más definido con células no drizas diferenciadas y sin gránulos de vitelo.

**Figura 3.**  
Número promedio de huevos de acuerdo a la concentración salina.

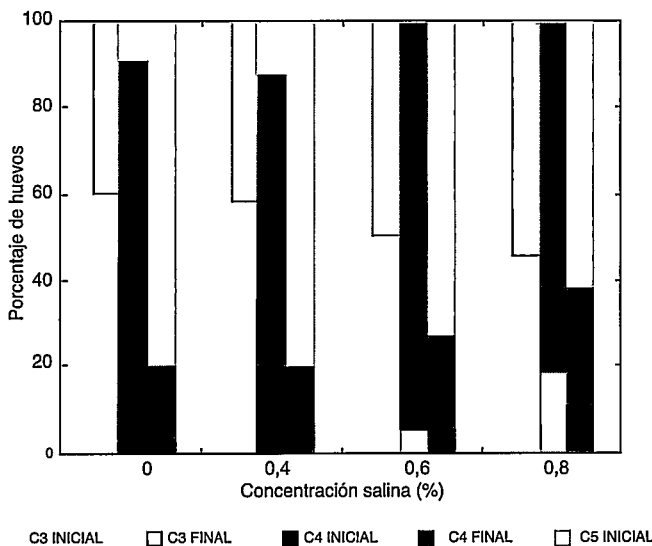




**Figura 4.**

Porcentaje de huevos por estadio en las hembras no alimentadas con sangre de acuerdo a la concentración salina. La primera barra de cada conjunto de concentraciones representa el tiempo de 24, la segunda de 48, la tercera de 72 y la cuarta de 96 horas.

En tanto que, a las 72 horas, una mayor parte de los huevos estaba en estadio  $C_2$  inicial (50%) con minúsculos gránulos de vitelo en el citoplasma del óvulo. Por último, a las 96 horas, la mayoría de los huevos se encontraba en estadio  $C_2$  inicial, permaneciendo en esta condición durante todo el tiempo del estudio. En el caso de las hembras alimentadas con sangre, el análisis estadístico indica, al igual que en las hembras no alimentadas, la ausencia de influencia de la salinidad sobre el ciclo gonadotrófico ( $F_{36, 117,5\%} = 1,269$ ;  $p = 0,172$ ). Como se aprecia en la Figura 5, debido a la ingesta de sangre los huevos a las 24 horas se encuentran en un estadio más avanzado ( $C_3$  inicial o  $C_3$  final), llegando a las 96 horas a una alta proporción de huevos  $C_5$  a las 96 horas, los cuales están listos para ovipositar.



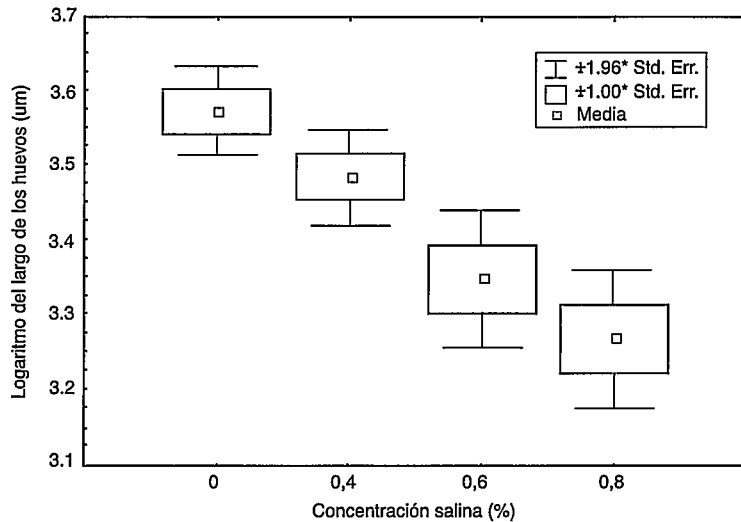
**Figura 5.**

Porcentaje de huevos por estadio en las hembras alimentadas con sangre de acuerdo a la concentración salina. La primera barra de cada conjunto de concentraciones representa el tiempo de 24, la segunda de 48, la tercera de 72 y la cuarta de 96 horas.

En cuanto al largo promedio de los huevos, (Figura 6) éstos muestran una disminución estadísticamente significativa de esta variable con respecto a la salinidad ( $F_{3, 589, 5\%} = 15,93; p = 0$ ). La comparación de sus medias nos revela dos grupos de tratamientos. Uno constituido por las bajas concentraciones (0 y 0,4%), donde los largos fueron mayores, y el otro por las dos más altas (0,6% y 0,8%).

**Figura 6.**

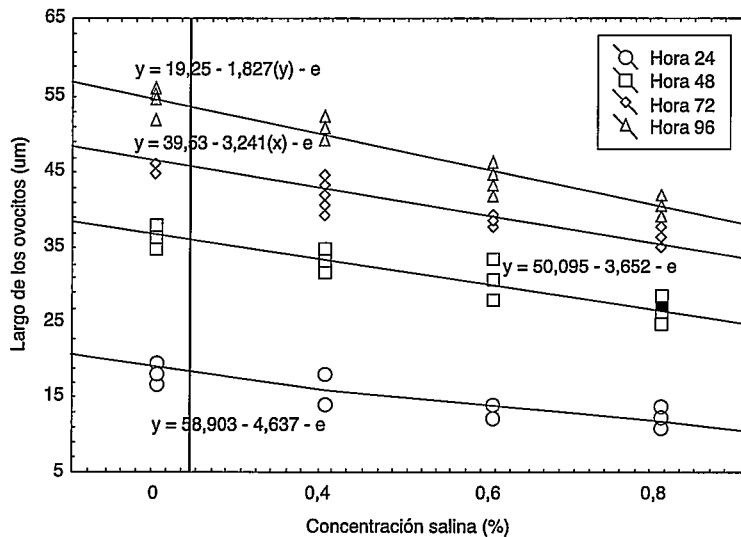
Relación entre el largo de los huevos y la concentración salina donde se aprecia la disminución del tamaño con respecto a la salinidad.



La Figura 7 representa el comportamiento del largo de los ovocitos de acuerdo a la concentración salina y el tiempo, donde se puede apreciar que la tendencia anterior se mantiene en todas las salinidades. Sin embargo, los tamaños tienden a ser iguales a medida que pasa el tiempo y aumenta la salinidad. ( $F_{9, 228, 5\%} = 26,6; p = 0$ ).

**Figura 7.**

Relación entre el largo de los huevos y la concentración salina de acuerdo a la hora.





## DISCUSIÓN

Las mortalidades de las larvas con respecto a la concentración salina de nuestros resultados coinciden con las obtenidas por Wigglesworth (1938). Las larvas resistieron las concentraciones hipotónicas; sin embargo, la mortalidad se incrementó en las soluciones mayores de 0,75% NaCl. De acuerdo a este investigador, las larvas de *Ae. aegypti* son organismos osmoreguladores que mantienen la presión osmótica de su hemolinfa en 0,75% de NaCl, hasta que el medio se vuelve hipertónico con respecto a la hemolinfa, lo que produce consecuentemente la muerte de las larvas cuando la concentración externa de NaCl sobrepasa el 1% de NaCl.

Nuestros resultados muestran que el aumento de la concentración salina no sólo afecta las larvas sino la fisiología del adulto de esta especie. Por ejemplo, la emergencia de los adultos tiende a disminuir, los adultos son más pequeños, el tamaño de los ovocitos disminuye y la cantidad de huevos ovipositados es menor. Esto coincide con las observaciones hechas por Russell (1979), en *Anopheles annulipes* y *Anopheles amictus hili*, y Parker (1982), en *Ae. dorsalis*, que registraron una reducción significativa del largo de las alas y el número de los huevos con respecto al aumento de la salinidad del medio. Asimismo, Consoli (1980), en *Ae. fluviatilis*, encontró una baja preferencia de oviposición por aguas con salinidades arriba de 0,5% y una disminución en el porcentaje de eclosión de los huevos cuando se incrementó la salinidad.

Con respecto a la emergencia de los adultos, la Figura 1 muestra un descenso de ella con la concentración salina hasta 1% de NaCl, en la cual se acerca a cero. Este resultado difiere del obtenido por Consoli (1980) en *Ae. fluviatilis*, en el cual la tasa de emergencia fue igual en todas las salinidades probadas (de 0 a 2%). Lo que quiere decir que nuestra especie es más sensible a los cambios de salinidad. Esto puede ser debido a una mayor exigencia de *Ae. aegypti* por hábitat de agua limpia que esta especie; a pesar que el rango de tolerancia a la salinidad de ambas es semejante. Consoli (1980) señala que *Ae. fluviatilis* es una especie que se desarrolla tanto en ambientes naturales como artificiales, estando en proceso de domicia-liación. Esto difiere de nuestra especie, *Ae. aegypti*, la cual es más exigente prefiriendo ambientes más artificiales, los cuales sólo puede obtener cerca del hombre. Quizás, lo que *Ae. fluviatilis* refleja es la falta de adaptación a ambientes artificiales en la emergencia de los adultos.

La salinidad afecta el tamaño de los adultos emergentes. El tamaño de ellos tiende a disminuir cuando aumenta la salinidad. Esto ha sido obser-

vado por Russell (1979) en *Anopheles annulipes* y *A. amictus* y por Parker (1982) en *Ae. dorsalis*.

Con respecto al desarrollo de los huevos, nuestros datos revelan una fuerte influencia de la salinidad sobre esta actividad. El número y tamaño de ellos disminuyó con el incremento de la concentración salina. Este mismo fenómeno ha sido observado en *A. annulipes* y *A. amictus* por Russell (1979), en *Ae. fluviatilis* por Consoli (1980) y *Ae. dorsalis* por Parker (1982).

El efecto de la salinidad sobre el desarrollo gonadotrófico de los huevos no mostró diferencias significativas en los dos grupos de hembras, alimentadas y no alimentadas con sangre. La única diferencia se observó, como era de esperar, en el estado de madurez de los ovocitos. Los huevos en las hembras alimentadas se encontraron en un estadio más avanzado que las no alimentadas. Sin embargo, en todas las salinidades el desarrollo tomó aproximadamente el mismo tiempo.

Todos estos cambios pueden ser explicados en términos energéticos. Sohal y Copeland (1966) observaron que la absorción de sales a través de las papilas anales en las larvas de *Ae. aegypti* se realiza mediante el plegamiento de la membrana celular y el aumento del número de mitocondrias. Un incremento de la salinidad del medio trae como consecuencia la disminución de estas estructuras. De esta manera, se puede apreciar las implicaciones energéticas del proceso de osmoregulación. Esto quiere decir que para el mantenimiento de un medio isotónico en la hemolinfa de estos insectos en un medio hipotónico se requiere de energía.

A pesar que el trabajo de Sohal y Copeland (1966) indica una disminución en el empleo energético cuando las larvas están en un medio hipertónico, nuestros resultados señalan que otras actividades fisiológicas se ven afectadas por el estrés osmótico. Por ejemplo, disminuye el número de adultos emergentes y su tamaño. Asimismo, en las hembras se reduce el número y tamaño de los huevos. Esto puede ser explicado por el hecho que los sistemas biológicos invierten energía para contrarrestar un estrés (Moberg, 1985). Los insectos de agua dulce, como es el caso del *Ae. aegypti*, al estar en un medio altamente diluido están luchando contra la pérdida de sales, por lo tanto ellos producen una orina diluida. Por consiguiente, ellos deben obtener éstas del medio ambiente a través de los alimentos y órganos especiales donde hay células de cloro, como las papilas anales de los mosquitos. En este último caso, ellas son obtenidas

por transporte activo (Sohal y Copeland, 1966; Clements, 1992; Chapman, 1998). De tal manera, la habilidad de mantener su medio constante es excelente mientras se encuentre dentro del rango normal donde se desarrolla la especie (Chapman, 1998). De este modo, su hemolinfa se mantiene hipertónica con respecto al medio y serían osmoreguladores. Sin embargo, como señala Chapman (1998), si son sometidos a un medio hipertónico, la regulación se rompe y la hemolinfa rápidamente se torna isotónica con respecto al medio (Shaw y Stobbart, 1963), trayendo como consecuencia lo que hemos visto en nuestros resultados. De acuerdo a Wigglesworth (1938), la concentración isotónica de la hemolinfa de *Ae. aegypti* es 0,75% (6  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de sodio). Por lo tanto, al subir esta concentración cuando las larvas son sometidas a un medio hipertónico se produce un choque osmótico que afecta la fisiología de las larvas. De esta manera, la larva debe canalizar su energía para tratar de contrarrestarlo. Por esta razón se ve afectado el tamaño de los adultos y el número y tamaño de los huevos. Sin embargo, como la reproducción es el objetivo de todos los seres vivos, una parte de la energía de sistema todavía se emplea para este propósito, manteniéndose el ciclo gonadotrófico. Debido a esto, los cambios de las concentraciones salinas no afectaron la duración de este ciclo. Como vimos en las Figuras 4 y 5, a pesar que se aumentó la salinidad, no hubo diferencia en los ciclos gonadotrófico, indicando que a pesar del choque osmótico una parte de la energía está siendo canalizada hacia la actividad vital de reproducción de la especie.

## CONCLUSIÓN

Este estudio revela que el aumento de la salinidad produce en *Ae. aegypti* una disminución en el tamaño y emergencia de los adultos. En tanto que este factor ocasiona una baja en el número y tamaño de los huevos. Sin embargo, éste no afecta la duración del ciclo gonadotrófico.

## SUMMARY

### EFFECT OF SALINITY ON THE GONADAL DEVELOPMENT OF FEMALE MOSQUITOES *Aedes aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE)

The role of common salts on the gonadal development of *Aedes aegypti* was studied in order to develop a control method of this pest. The number and size of adults emerged from the following saline solutions: 0; 0,4; 0,6; and 0,8% NaCl was recorded. Saline concentration effect over gonadal development was measured using the number, size, and duration of

the gonadal phase of the oocytes. A decrease of the number and size of the adult was observed according to the increase of the salinity. The oocytes were smaller and the number lesser as saline concentration increased. However, the duration of the gonadotrophic cycle was similar in all concentrations tested. Our results showed that osmotic stress acts on the reproductive activity of the female of *Ae. aegypti*. Apparently, energy in the animal is used to balance the osmotic stress; even though, part of it is used to keep gonadotrophic cycle to warrant eggs to the next generation.

#### KEYWORDS

Physiology, osmoregulation, sodium chloride, Diptera, *Aedes aegypti*.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEADLE, L.C. 1939. Regulation of the haemolymph in the saline water mosquito larvae *Aedes detritus*. *Edw. J. Exp. Biol.* 16: 354-362.

BEST, M.M. 1990. **Evaluación de dos Métodos en la Determinación de la Edad Fisiológica en *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae) en Condiciones de Laboratorio.** Universidad de Panamá. Tesis de Maestría, 75 pp.

CLEMENTS, A. 1992. **The Biology of Mosquitoes.** 1ª edición. Vol 1: Chapman & Hall. Gran Bretaña, 509 pp.

CONSOLI, R.A.G. 1980. Influência da salinidade no desenvolvimento de *Aedes fluviatilis* (Lutz, 1904) em laboratorio (Diptera: Culicidae). *Rev. Brasil. Biol.* 40: 39-43.

CHAPMAN, R.F. 1998. **The Insect: Structure and Function.** 4ª edición, Cambridge, Gran Bretaña: Cambridge University Press. 770 pp.

CHRISTOPHER, S.R. 1960. ***Aedes aegypti* (L.), The Yellow Fever Mosquito.** Cambridge, Massachusetts: Cambridge University Press. 939 pp.

DETINOVA, T.S. 1962. Methods of determining the physiological age of female *Anopheles*. Age-grouping methods in diptera of medical importance. **World Health Organization. Monograph Ser.** 47: 69-77.

DETINOVA, T.S. 1968. Age structure of insect populations of medical importance. *Ann. Rev. Entomol.* 13: 427-450.

KARDATZKE, J. 1989. Effect of juveniles exposure to NaCl on adult size and fecundity of snow melt *Aedes*. **J. Amer. Mosquitoes Control Asoc.**, 5, 608-660.

LUNA, I.G. 1995. Efecto del NaCl sobre el desarrollo larval de cinco especies de *Culex spp* en las lagunas de oxidación en Miraflores (Diptera: Culicidae). **Scientia**. (Panamá), 9, 49-57.

MINISTERIO DE SALUD. 1988. **El *Aedes aegypti* nos Amenaza**. Educación para la salud. Ministerio de Salud. 12 pp.

MOBERG, G. 1985. **Animal Stress**. Cap. 3, 23-35 Bethesda, Maryland: American Physiological Society, 324 pp.

NAYAR, J.K. y SAUERMAN, D.M. 1974. Osmoregulation in larvae of the salt-marsh mosquito *Aedes taeniorhynchus*. **Entomol. Exp. Appl.**, 17, 367-380.

NELSON, M. 1986. ***Aedes aegypti*: Biología y Ecología**. Organización Panamericana de la Salud. Washington D. C. 89 pp.

PARKER, B. M. 1982. Temperature and salinity as factors influencing the size and reproductive potentials of *Aedes dorsalis* (Diptera: Culicidae). **Ann. Entomol. Soc. Amer.**, 75, 99-101.

PRATT, H., LIHIG, J. y KENT, S. 1966. Biology and habits of the Yellow Fever. **Mosquitoes News**. 2, 325-350.

RUSSELL, R.C. 1979. A study of the influence of some environmental factors on the development of *Anopheles annulipes* Walker and *Anopheles amictus hilli* Woodhill and Lee (Diptera; Culicidae). Part 2. Influence of salinity, temperature and larval density during the development of the immature stages on adult fecundity. **Gen. Appl. Entomol.**, 11, 42-45.

SHAW, J. y STOBART, R.H. 1963. Salt and water balance: Excretion. 3:189-258. En Rockstein, M. (Ed.) **Physiology of the Insecta**. Academic Press, Nueva York.

SOHAL, R.S. y COPELAND, E. 1966. Ultrastructural variations in the anal papillae of *Aedes aegypti* (L.) at different environmental salinities. **J. Insect Physiol.**, 12, 429-439.

STATISTICA. 1991. **Statistica**. Vol. I: General Conventions. 1, 1691-1801. StatSoft. Oklahoma.

WIGGLESWORTH, V.B. 1938. The regulation of osmotic pressure and chloride concentration in the haemolymph of mosquito larvae. **J. Exp. Biol.**, 15, 235-247.

#### **AGRADECIMIENTO**

Deseamos agradecer por su valiosa ayuda a las siguientes personas del Servicio de Erradicación de la Malaria (SNEM): Licenciado Arsenio García, Armando Blas.



**EVALUACIÓN DEL EXTRACTO DE LA RAÍZ DE  
*Lonchocarpus penthaphyllus* EN EL CONTROL DE  
LAS CHITRAS (*Lutzomyia* spp.), VECTORES  
DE LA LEISHMANIASIS**

**PERCIS GARCÉS**

Departamento de Zoología,  
Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología,  
Universidad de Panamá.

**RESUMEN**

El presente estudio se realizó en el Parque Nacional Altos de Campana, sitio donde en los últimos años se ha reportado un significativo aumento en el número de casos de leishmaniasis. El propósito del presente estudio es el de evaluar la eficiencia del extracto alcohólico obtenido de la raíz de *Lonchocarpus penthaphyllus* en el control de las chitras (*Lutzomyia* spp.), debido a que, en este lugar, se presentan siete de las especies relacionadas con la transmisión de la leishmaniasis y, además, porque el área cuenta con una elevada población de vectores. Se pretende, de esta manera, encontrar una respuesta satisfactoria para controlar la presencia de los vectores en la vivienda del hombre y así contribuir a disminuir la incidencia de la enfermedad en nuestras áreas rurales. Para lograr estos objetivos, se reprodujo la vivienda humana en medio de un área boscosa, mediante la colocación de nueve sistemas construidos de PVC, con un arreglo de dos sistemas por concentración ascendente de 0,125 partes por mil (ppm), 0,25 ppm y 0,5 ppm, respectivamente, mientras que los controles fueron rociados con alcohol etílico al 95%. En total se recolectaron 319 chitras distribuidas en siete especies. En cuanto a la detección de chitras en los sistemas, se encontró la menor cantidad de ejemplares en los sistemas con concentración de 0,5 ppm; seguida de las de 0,25 ppm y 0,125 ppm. En

tanto que, en los controles, se registró el mayor número de ejemplares, representados por las especies *Lutzomyia ylephiletor* y *Lutzomyia cruciata*.

## **PALABRAS CLAVES**

Evaluación del extracto, *Lonchocarpus pentaphyllus*, *Lutzomyia*, vectores y leishmaniasis.

## **INTRODUCCIÓN**

La leishmaniasis es una enfermedad causada por diferentes especies de protozoarios del género *Leishmania* la cual es transmitida por chitras hematófagas del género *Lutzomyia*. En el caso específico de la leishmaniasis cutánea, la misma se caracteriza por producir lesiones ulcerativas en la piel, principalmente en las partes expuestas del cuerpo como son la cara, los brazos y las piernas y, de acuerdo a la cantidad de úlceras, puede causarle serios perjuicios sociales al enfermo (Bresson, 1996). La percepción que se tenía de la misma, en Panamá, durante la primera década del siglo XX, aparentemente era muy escasa, como se desprende de los bajos registros documentados (Darling, 1910; Herrick, 1910; Darling y Connor, 1911; Bates, 1913; Calero y Johnson, 1953). No obstante, a partir de las décadas del 70 y 80, los registros de leishmaniasis sobrepasan los 600 casos anuales (Christensen *et al.*, 1983) y los informes de la década de los 90 reportan más de 1000 casos anuales (Boletín Epidemiológico, 1997).

El número de casos de esta enfermedad, como se puede apreciar, ha aumentado en forma alarmante en nuestro país por diversas razones, entre las que se puede considerar el hecho de que los afectados acuden con más frecuencia a los Centros de Salud en busca de asistencia médica y que el personal de salud diagnostica más prontamente la enfermedad y la registra. Por otra parte, ha aumentado la actividad migratoria de grupos humanos susceptibles hacia zonas rurales endémicas. De allí que una forma práctica de evitar este notable incremento es disminuyendo el contacto entre el hombre y los vectores de la enfermedad, tomando las medidas preventivas y curativas pertinentes. Para ello, nos hemos propuesto explorar la utilidad que nos pueda proporcionar nuestra flora nativa, y específicamente la planta *Lonchocarpus pentaphyllus* (Poiret), en la búsqueda de sustancias bioactivas capaces de ser empleadas para controlar los vectores de la leishmaniasis. La necesidad de encontrar y utilizar plantas, con propiedades bioactivas, podría ser una forma de ayudar a proteger la salud de las personas que, en nuestro medio, están expuestas al contacto con vectores, principalmente los niños y niñas de nuestro país. La presen-

te investigación se realizó con el objetivo de evaluar el efecto que el extracto alcohólico de la raíz de *Lonchocarpus penthaphyllus* (Poiret) tiene para el control de *Lutzomyia spp.*, a concentraciones de 0,125 ppm, 0,25 ppm y 0,5 ppm.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Área de estudio:

El Parque Nacional Altos de Campana (PNAC) está localizado en el Corregimiento de Campana, Distrito de Capira, Provincia de Panamá, aproximadamente a 60 km de la ciudad capital entre las coordenadas 8°30' 44" N y 79°49'57" W. La mayor parte de este Parque está enmarcada en la cadena de montaña de la división continental. El mismo posee una extensión de casi 48,16 km<sup>2</sup>, y, en cuanto a su estructura boscosa, ésta se caracteriza por presentar tres zonas de vida, a saber: Bosque Húmedo Tropical, Bosque muy Húmedo Tropical y Bosque premontano (RENAIRE/MIDA, 1975).

### Metodología:

Con el propósito de reproducir en el medio boscoso la vivienda humana se colocaron nueve sistemas construidos con tubos de PVC de 61 x 61 x 61 cm, recubiertos con una fina malla de tul, que simulaba las paredes de una casa y que, además, permitía la entrada de las chitras al sistema. En cada sistema se introdujo una rata albina *Sprague dowley*, la cual funcionó como atrayente (cebo) para las chitras (*Lutzomyia spp.*) y como organismo liberador de CO<sub>2</sub>. Las ratas fueron colocadas en celdas de malla de alambre para gallina con dos hilos por pulgada de cada lado y puestas sobre las trampas de aceite vegetal contenidas en bandejas de aluminio para retener las chitras (trampas Disney). Las trampas de aceite estuvieron suspendidas del suelo con horquetas a diferentes alturas debido al desnivel del suelo y para evitar que las hormigas invadieran los sistemas. Junto a las ratas se colocaron lámparas de queroseno, que también contribuyeron como atrayente de las chitras.

Los sistemas fueron rociados con 15 mL del extracto alcohólico obtenido de la raíz de *Lonchocarpus penthaphyllus* con las concentraciones de 0,125 ppm, 0,25 ppm y 0,5 ppm; impregnando con ellas tanto la superficie externa como interna de la malla. De cada concentración se hicieron dos réplicas. Los sistemas de control fueron rociados con etanol al 95%, solvente utilizado en la preparación del extracto. Como medida de protección contra las lluvias, los sistemas fueron cubiertos con un techo plástico de dos caídas, evitando así la inundación de las bandejas.

Las chitras atrapadas fueron colocadas sobre un trozo de papel filtro e introducidas en viales pequeños, para su posterior identificación en el Laboratorio del Programa de Maestría en Entomología, localizado en la Universidad de Panamá.

El estudio se llevó a cabo de enero a junio de 1997, e incluyó seis muestreos de dos días continuos cada 15 días. Ocho de estos muestreos se hicieron durante la temporada seca y cuatro en la lluviosa. Los sistemas se colocaron desde las 6:00 p.m. hasta las 6:00 a.m. del día posterior.

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante las pruebas estadísticas ANOVA para un Bloque al azar y la prueba *a posteriori* de Duncan (Sokal y Rohlf, 1979).

## RESULTADOS

Durante los meses de muestreos se registraron un total de siete especies de *Lutzomyia* (Cuadro 1). De ellas *Lutzomyia ylephiletor* fue la más abundante con un total de 210 chitras, representando el 66%. Seguida, en orden descendente, por *Lutzomyia cruciata* con 39 chitras representando el 12% y *Lutzomyia sanguinaria* con 35 ejemplares correspondiendo al 11%. En tanto que de la especie *Lutzomyia trapidoi* se detectaron 22 ejemplares los que representaron menos del 10%. Por último, aparecen en menor cantidad *Lutzomyia panamensis*, *Lutzomyia pessoana* y *Lutzomyia gomezi* que, juntas, representaron apenas el 4%.

Las diferentes capturas de chitras colectadas, en las diversas concentraciones durante los seis meses que comprendió el estudio se sintetizan en el Cuadro 2. La distribución de frecuencia de las chitras colectadas por concentración demostró que a 0,5 ppm el número de ejemplares fue el menor con 19, seguida de las concentraciones 0,25 ppm y 0,125 ppm con 47 y 35 ejemplares, respectivamente.

### Cuadro 1.

Total de especies capturadas versus concentración de extractos alcohólicos de *Lonchocarpus penthaphyllus*.

Especie	(0,125 ppm)	(0,25 ppm)	(0,5 ppm)	Control	Total	%
<i>Lutzomyia ylephiletor</i>	14	27	17	152	210	66
<i>Lutzomyia cruciata</i>	8	9	1	21	39	12
<i>Lutzomyia sanguinaria</i>	7	8	1	19	35	11
<i>Lutzomyia trapidoi</i>	4	1	0	17	22	<10
<i>Lutzomyia panamensis</i>	0	2	0	4	6	<10
<i>Lutzomyia pessoana</i>	2	0	0	3	5	<10
<i>Lutzomyia gomezi</i>	0	0	0	2	2	<10
Total	35	47	19	218	319	100

Por otro lado, los meses en que se registraron las mayores incidencias de chitras fueron enero (111 ejemplares), marzo (42 ejemplares) y abril (107 ejemplares). Al comparar los resultados obtenidos a las diferentes concentraciones con el tratamiento de control se nota una mayor incidencia de insectos para todos los meses (Cuadro 2).

**Cuadro 2.**

Total de chitras capturadas por concentraciones de extractos alcohólicos de *Lonchocarpus penthaphyllus* versus meses del año 1997.

Mes	(0,125 ppm)	(0,125 ppm)	(0,5 ppm)	Control	Total de chitras	%
Enero	10	32	4	65	111	35
Febrero	3	0	5	27	35	11
Marzo	8	5	8	21	42	13
Abril	12	5	1	89	107	34
Mayo	2	3	1	11	17	5
Junio	0	2	0	5	7	2
Total	35	47	19	218	319	100

El Cuadro 3 muestra cómo se distribuyen. La distribución de especies de *Lutzomyia* durante los seis meses de muestreos se presenta en el Cuadro 3, destacándose el hecho de que algunas fueron más frecuentes que otras.

**Cuadro 3.**

Frecuencia de las especies más capturadas vs. concentración.

Mes	Especies	(0,125 ppm)	(0,25 ppm)	(0,5 ppm)	Control
Enero	<i>Lutzomyia ylephiletor</i>	4	18	4	47
	<i>Lutzomyia cruciata</i>	0*	7	0	1*
	<i>Lutzomyia sanguinaria</i>	3	5	0	8
	<i>Lutzomyia trapidoi</i>	2	1*	0	5
Febrero	<i>Lutzomyia ylephiletor</i>	0	0	5	18
	<i>Lutzomyia sanguinaria</i>	2	0	0	2*
	<i>Lutzomyia trapidoi</i>	0	0	0	4
Marzo	<i>Lutzomyia ylephiletor</i>	5	2	6	8
	<i>Lutzomyia cruciata</i>	2	1	1*	7
	<i>Lutzomyia sanguinaria</i>	0	2	1*	5
	<i>Lutzomyia trapidoi</i>	1*	0	0	1*
Abril	<i>Lutzomyia ylephiletor</i>	5	4	1	73
	<i>Lutzomyia cruciata</i>	5	1*	0	9
	<i>Lutzomyia ylephiletor</i>	0	2	1*	5
Mayo	<i>Lutzomyia cruciata</i>	0	0	0	2
	<i>Lutzomyia sanguinaria</i>	1	1	0	2
	<i>Lutzomyia panamensis</i>	1	0	0	1*
Junio	<i>Lutzomyia ylephiletor</i>	0	2*	0	3*

\*Especie poco frecuente.

Sobresale el hecho de que, en la concentración más alta (0,5 ppm), se registró el menor número de chitras e igual situación podría haberse registrado para la concentración 0,25 ppm a no ser por la elevada captura de *Lutzomyia ylephiletor* que se dio en el mes de enero, lo que aparentemente coincidió con las condiciones climáticas del medio que favorecieron el incremento de su población lo cual puede deberse a la relativa abundancia poblacional que existe en esta zona. Así, por ejemplo, especies como *Lutzomyia ylephiletor*, *Lutzomyia cruciata* y *Lutzomyia sanguinaria* son las más abundantes en el medio boscoso del Parque Nacional Altos de Campana.

## DISCUSIÓN

### Acerca del extracto de *Lonchocarpus*:

El análisis químico de las plantas del género *Lonchocarpus* indica la presencia de compuestos que actúan como veneno de contacto, estomacal y como inhibidores (Matsumura, 1975). De la serie de compuestos aislados con alto poder insecticida se destacan los flavonoides, los isoflavonoides, los alcaloides y la rotenona. Este último caso constituye el compuesto químico aislado con mayor frecuencia, y sus concentraciones difieren en las diversas partes de las plantas (frutos, hojas, semillas, tallos y raíces). Se han reportado, además, otras sustancias asociadas, aunque de menor efecto insecticida llamadas rotenoides (Bernal y Correa, 1992).

### Frecuencia de captura:

Nuestro estudio mostró una baja frecuencia en el número de chitras capturadas, así como del número de especies. Este resultado contrasta con los resultados reportados por Morales y Araúz (1998), quienes atraparon 4820 ejemplares agrupados en 26 especies, mientras que nosotros capturamos 319 chitras distribuidas en siete especies. Las especies más abundantes fueron *Lutzomyia ylephiletor* con 210 ejemplares (66%); seguidas en orden descendente por *Lutzomyia cruciata* con 39 (12%) y *Lutzomyia sanguinaria* con 35 (11%) (Cuadro 1). Ambos grupos coincidimos en cuanto a las especies más abundantes se refiere, la cantidad de los ejemplares documentada por ellos fue mayor, tal como se aprecia en el caso de *Lutzomyia ylephiletor* (3210 ejemplares) y *Lutzomyia sanguinaria* (424 ejemplares). Sin embargo, es posible que esta notable diferencia se deba a que ellos utilizaron trampas New Jersey y Disney simultáneamente y a la posible acción del extracto de la planta usado como repelente durante nuestro estudio. Durante éste las mayores poblaciones correspondieron a las especies *Lutzomyia ylephiletor*, *Lutzomyia cruciata* y *Lutzomyia san-*



*guinaria*, hecho que nos permite reafirmar que estas especies son las más abundantes en dicho Parque y es entonces hacia ellas donde urge orientar las acciones de control. Tanto *Lutzomyia ylephiletor* como *Lutzomyia sanguinaria* han sido incriminadas como vectores biológicos de la leishmaniasis (Christensen *et al.*, 1983). El estudio evidenció una baja presencia de chitras en las trampas (Cuadro 1), por lo cual es posible que este rasgo esté asociado, de alguna forma, al extracto empleado. Esto es compatible con la observación de que la aplicación del mismo, durante dos días continuos, promueve que en el primero se recolectaran más chitras que durante el segundo.

#### **Frecuencia de chitras versus concentración del extracto:**

Cuando se analiza el total de chitras capturadas por concentraciones (Cuadro 2), es notorio que existe algún grado de variación entre el número de individuos capturados y la concentración empleada (0,125 ppm, 0,25 ppm y 0,5 ppm). Es así que podemos anotar que a la concentración más elevada (0,5 ppm) se presentó el menor número de chitras (19 ejemplares), seguida de la más baja (0,125 con 35 ejemplares) y la intermedia (0,25 con 47 ejemplares). De las tres concentraciones empleadas, la intermedia mostró una mayor presencia de chitras que la mínima (0,125). De manera que pareciera no existir un efecto marcado para estas dos concentraciones; por ello, concluimos que ambas concentraciones tienden a manifestar efectos similares. El análisis estadístico del efecto de las concentraciones de extracto no mostró diferencias significativas ( $p > 0,05$ ), por lo que asumimos que el uso de cualquiera de las concentraciones aquí empleadas daría resultados satisfactorios para repeler las chitras presentes en el medio boscoso.

Por otro lado, se observaron diferencias significativas entre todas las medias analizadas incluyendo los controles ( $p < 0,05$ ). Mientras que la prueba *a posteriori* de Duncan arrojó diferencias significativas entre controles y los tratamientos ( $p < 0,05$ ). La diferencia observada puede estar asociada al efecto ejercido por el extracto de *Lonchocarpus penthaphyllus* utilizado, que en cierto modo limitó la presencia de las chitras en el interior de los sistemas. En cuanto al efecto que el extracto puede ejercer sobre las chitras, incluye efecto de contacto o a través de algún grado de efecto repelente sobre el vector. El presente experimento no fue diseñado para descartar estas dos posibilidades. Sin embargo, es un hecho muy corroborado que *Lonchocarpus penthaphyllus* posee rotenona y que este compuesto químico es altamente tóxico para una gran mayoría de insectos de los órdenes Hemíptera, Lepidóptera y Díptera (Bernal y Correa, 1992).

El hecho de que después de la primera aplicación la población de chitras disminuya considerablemente es en cierta forma alentadora porque coincide con nuestros propósitos futuros, es decir, proteger la vivienda humana de los vectores de leishmaniasis.

#### Presencia de chitras y la estación del año:

La actividad de las chitras, en términos generales, varió considerablemente durante los seis meses que duró el estudio, lo cual puede deberse a condiciones climáticas del momento tanto como a la utilización del extracto botánico. Así podemos observar que el mes de enero presentó la mayor captura de chitras en el tratamiento de control a la concentración 0,125 ppm, precisamente, al inicio de la temporada seca, cuando las poblaciones de estos insectos tienden a disminuir (Cuadro 3). No obstante, es necesario aclarar que, durante este mes, ocurrieron lluvias esporádicas lo cual pudo haber favorecido, de algún modo, las condiciones de humedad y temperatura (22,5 °C) lo que consecuentemente aumentó el número de algunas especies de chitras. En este sentido, es importante resaltar que muchas especies presentan fluctuaciones poblacionales atendiendo a las temporadas lluviosa y seca (Chanotis *et al.*, 1971, 1972; Christensen *et al.*, 1983; Escobar, 1989).

El mes que presentó la segunda mejor captura fue abril (107 ejemplares), el cual constituye el mes de transición entre la temporada seca y la lluviosa; la temperatura para este mes fue de 26,4° C. La captura registrada este mes fue muy similar a la presentada en el mes de febrero, cuando los controles registraron el mayor número de ejemplares y de igual manera la especie dominante fue *Lutzomyia ylephiletor*. Este mismo tipo de resultado coincide parcialmente con lo reportado por otros autores, que señalan que las poblaciones de chitras tienden a ser abundantes al final de la temporada seca y al inicio de la temporada lluviosa (Christensen *et al.*, 1983).

En cuanto a los resultados obtenidos en los controles, éstos registraron la mayor presencia de chitras (218 ejemplares totales) representando el 66% del total de las capturas. Esta relativa abundancia de chitras en los controles puede ser considerada como un indicador realista de la posible existencia de cierto grado de repelencia en el extracto de la raíz de *Lonchocarpus penthaphyllus* en contra de los vectores de la leishmaniasis (Cuadro 2). No obstante haber alcanzado estas diferencias, nos preocupa el hecho de que para todas las concentraciones, incluyendo la más alta, hubo presencia de chitras. Es decir, que las chitras de todas maneras

entraron a los sistemas para alimentarse de las ratas. Lo que sugiere que debemos seguir aumentando progresivamente las concentraciones hasta lograr obtener la concentración óptima, a fin de ponerlas a disposición en la estrategia de control de las chitras.

La relación de la captura total de chitras en función de la presencia de las chitras en el interior de los sistemas, atendiendo a la concentración y a los controles fue en orden ascendente: 0,5 ppm (0,07:1); 0,125 ppm (0,11: 1); 0,125 ppm (0,14: 1) y los controles (0,66: 1).

A pesar de estos resultados satisfactorios, es evidente que otros factores externos pudieran haber influido en estos resultados; tales como la distribución de los sistemas experimentales en el área boscosa. Esto es que la colocación de los sistemas en el espacio no coincidió con la distribución natural de las chitras en sus hábitat. Los factores climáticos también pueden ejercer un efecto perturbador en el experimento, por ejemplo, las lluvias intensas y los vientos fuertes afectan de manera directa la actividad de las chitras, ocasionando que su actividad sea nula o escasa cuando uno o ambos factores inciden. Según Fajardo (1991), los patrones de lluvias modifican las condiciones de los criaderos de chitras. La lluvia beneficia cuando ocurre en forma moderada, pero es perjudicial cuando inunda los suelos. En el caso de las chitras adultas, las mismas tienden a protegerse contra las fuertes lluvias refugiándose debajo de las hojas o entre las ranuras de los troncos de los árboles. Además de estos factores, otros como la temperatura, humedad e intensidad de luz también pueden determinar la presencia de chitras en un área determinada (Richards, 1964).

Otro factor que determina la presencia de las chitras en el área boscosa son los sitios de cría y los suelos. Rutledge y Ellenwood (1975) señalan, al respecto, que la estabilidad y distribución del suelo están determinadas por las lluvias, las pendientes y la elevación; dado que el suelo es el sitio de cría de algunas especies de chitras, éste representa, por tanto, un factor de importancia para su ecología. Adicionalmente, Christensen *et al.*, (1983) indican que los sitios de cría de mayor preferencia por parte de las chitras son troncos en descomposición, hojarasca y madrigueras cuyos suelos contienen grandes cantidades de materia orgánica. De modo que éstas buscan refugios entre la vegetación del bosque. De hecho, algunos compuestos inorgánicos, presentes en el suelo, pudieran ser más bien factores limitantes en el desarrollo de las chitras; así, pues, suelos como los del PNAC, con concentraciones altas o moderadas de K, Mg, Ca, Zn, materias orgánicas, y con alto contenido de materia orgánica, y con pH 6,6;

se pueden considerar óptimos para el desarrollo de las larvas de las chitras, mientras que sus bosques sirven de refugios a las elevadas poblaciones de adultos.

## CONCLUSIÓN

En síntesis, del total de las siete especies presentes en los sistemas con diversas concentraciones, las más frecuentes fueron *Lutzomyia ylephiletor*, *Lutzomyia cruciata* y *Lutzomyia sanguinaria*. Es obvio, que la especie *Lutzomyia ylephiletor* es la más abundante en el PNAC, por lo que el riesgo de transmisión de la enfermedad, al menos por parte de esta especie, es alto. Sin embargo, es un hecho conocido que otras especies, como *Lutzomyia sanguinaria*, *Lutzomyia trapidoi* y *Lutzomyia panamensis*, aún en números bajos, también pueden transmitir la enfermedad.

Al hacer una evaluación de nuestros resultados, observamos que, en los sistemas a los cuales se les aplicó el extracto, la cantidad de chitras fue mucho menor que la obtenida en los controles; por ello reafirmamos que el extracto ejerció algún tipo de control sobre las chitras. Por lo tanto, pensamos que *Lonchocarpus penthaphyllus* puede ser usada en la preparación de extractos para extraerle sus metabolitos bioactivos, a fin de que puedan ser usados en la formulación sintética de repelentes e insecticidas que ayuden a disminuir la presencia de las chitras en la vivienda del hombre. Para ello, es fundamental realizar una adecuada extracción e identificación de las sustancias presentes en esta planta, puesto que el uso responsable de las mismas puede ser una alternativa para disminuir la contaminación ambiental que se viene dando desde hace mucho tiempo con el uso inadecuado de productos organoclorados y organofosforados los cuales son perjudiciales a la salud humana. En cierta forma, esta alternativa podría ser más viable al ser menos costosa y más prometedora ya que no contamina el ambiente pudiendo proteger por más tiempo a las personas de escasos recursos.

## SUMMARY

### EVALUATION OF THE EXTRACT OF THE ROOT OF *Lonchocarpus penthaphyllus* IN THE CONTROL OF SANDFLIES (*Lutzomyia spp.*), THE LEISHMANIASIS VECTORS

This study was carried out at the Altos de Campana National Park, site where actually the number of cases of leishmaniasis has increased. In order to evaluate the efficiency of alcoholic extract obtained from the

*Lonchocarpus pentaphyllus* root in the *Lutzomyia* spp. control. To reach this goal, a system using PVC that simulated the man housing inside the forest was built. To each system one of the following set of alcoholic solution of the root was applied: 0,125 ppm, 0,25 ppm or 0,5 ppm. As control, an ethanol 95% solution was applied to one of such systems. 319 sandflies distributed in seven species were collected in this study. The lesser amount of flies was caught at 0,5 ppm and the greatest number was obtained at 0,125 ppm. In the control system, the most abundant species were *Lutzomyia ylephiletor* and *Lutzomyia cruciata*.

#### KEYWORDS

Extract evaluation, *Lonchocarpus pentaphyllus*, *Lutzomyia*, leishmaniasis.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BATES, L.B. 1913. Leishmaniasis (Oriental Sore) of the nasal mucous. **Proceed. Canal Zone. Med. Assoc.** 5, 83-84.

BERNAL, H.Y. y CORREA, J.E. 1992. **Especies Vegetales Promisorias de los Países del Convenio Andrés Bello**, España, Edr.Guadalupe, Lda. SECAB.Tomo VIII. 368-387pp.

BOLETÍN EPIDEMIOLOGICO. 1997. Incidencia de la Leishmaniasis en Panamá. **Centro Conmemorativo Gorgas** 21(5).

BRESSON, A. 1996. Division of control of tropical diseases: Leishmaniasis. **Organización Mundial para la Salud (OMS)**.

CALERO, C. y JOHNSON, C.M. 1953. Cutaneous leishmaniasis in the Republic of Panama: A report of twenty-five cases. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 2, 628-633.

CHANLOTIS, B.N., NEELY, J.M., CORREA, M.A., TESH, R.B. y JOHNSON, K.M. 1971. Natural population dynamics of phlebotomine sandflies in Panama. **J. Med. Ent.** 8, 339-352.

CHANLOTIS, B.N., TESH, R.B., CORREA, M.A. y JOHNSON, K.M. 1972. Diurnal resting sites of Phlebotomine sandflies in a panamanian tropical forest. **J. Med. Ent.** 9, 91-98.

CHRISTENSEN, H.A., FAIRCHILD, G.B., HERRER, A., JOHNSON, C.M. y YOUNG, D.G. 1983. The ecology of cutaneous leishmaniasis in the Republic of Panama. **J. Med. Ent.** 20:463-484.

DARLING, S.T. 1910. Autochthonous Oriental Sore in Panama. **Trans. Soc. Trop. Med. Hyg.** 4: 60-63.

DARLING, S.T. y CONNOR, R.C. 1911. A case of Oriental Sore (dermal leishmaniasis) in a native colombian. **J. Am. Med. Assoc.** 56: 1257-1258.

ESCOBAR, J.P. 1989. **Variación estacional, distribución vertical actividad rodentofílica de *Lutzomyia olmeca bicolor* y *Lutzomyia panamensis* (Diptera: Psychodidae), Gamboa-Panamá.** Tesis de Maestría, Universidad de Panamá. Panamá, República de Panamá. 59 pp.

FAJARDO, P.O. 1991. **Especies de *Lutzomyia* presentes en el ambiente intradomiciliar y peridomiciliar en un foco endémico de la Leishmaniasis cutánea en Panamá.** Tesis de Maestría, Universidad de Panamá, República de Panamá. 66 p.

HERRICK, A.B. 1910. An unusual type of Oriental Sore. **Proceed. Canal Zone Med. Assoc.** 3, 21-25.

MATSUMURA, F. 1975. **Toxicology of Insecticides.** Department of Entomology. University of Wisconsin - Madison. 94-98 p.

MORALES, I.Z. y ARAÚZ, E.A. 1998. **Determinación de Phlebotominae: *Lutzomyia spp.* (Diptera: Psychodidae) en el Parque Nacional Altos de Campana.** Tesis de Licenciatura, Escuela de Biología. Universidad de Panamá.

RENARE/MIDA (Dirección Nacional de Recursos Naturales Renovables Ministerio de Desarrollo Agropecuario). 1975. **Plan de Manejo y Desarrollo del Parque Nacional Altos de Campana, República de Panamá.**

RICHARDS, P.W. 1964. **The Tropical Rain Forest. An Ecological Study.** Londres: Cambridge University Press. 450pp.

RUTLEDGE, L.C. y ELLENWOOD, D.A. 1975. Production of Phlebotomine Sandflies on the open forest floor in Panama: The Species Complement. **Envir. Ent.**, 4, 71-77.

SOKAL, R.R. y ROHLF, F.J. 1979. **Biometría.** 1ª Edición. Madrid: H. Blume Ediciones. 832 pp.



## ENTOMOLOGÍA

3

### **INSECTOS ACUÁTICOS DE LA QUEBRADA EL SALTO, EN EL DISTRITO DE LAS PALMAS, PROVINCIA DE VERAGUAS, REPÚBLICA DE PANAMÁ**

**VITERBO RODRÍGUEZ, MARICÉ BARRERA y YENISSET DELGADO**

Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología,  
Centro Regional Universitario de Veraguas,  
Universidad de Panamá,  
Santiago de Veraguas, Panamá.  
E-Mail: viterbor@hotmail.com

#### **RESUMEN**

Con la finalidad de determinar las familias y géneros de insectos acuáticos de la Quebrada El Salto, en el Distrito de Las Palmas, Provincia de Veraguas, desde el mes de enero a mayo de 1998, se recolectaron 9 órdenes agrupados en 37 familias y 59 géneros. Los insectos fueron colectados con una red tipo D-net, con una malla de 1 mm. de apertura y se utilizaron pinzas en el substrato rocoso. Los órdenes más representativos en cuanto al número de familias y géneros fueron: Hemíptera con 7 familias y 18 géneros; Coleóptera con 7 familias y 14 géneros; Díptera con 6 familias y 6 géneros; Tricóptera con 6 familias (géneros sin determinar); Odonata con 5 familias y 9 géneros, y Efemeróptera con 4 familias y 10 géneros. Los órdenes menos representativos fueron los Plecóptera y Neuróptera, con una familia y un género, y el orden Lepidóptera con una familia.

#### **PALABRAS CLAVES**

Insectos acuáticos, Quebrada El Salto, Las Palmas.

#### **INTRODUCCIÓN**

Los insectos incluyen cerca del 80% de la totalidad de las especies del filum Arthropoda; de allí que, siendo tan numerosos, su distribución y

adaptación a los diversos medios que habitan sean igualmente variados. Llegan a ser abundantes en charcos, estanques, pantanos de agua dulce y hasta los formados por agua salobre; sin embargo, son pocos los insectos adaptados a las aguas marinas (Gaviño *et al.*, 1990).

Menos del uno por ciento (1%) del total de especies registradas se encuentran vinculadas al agua durante su ciclo de vida; así tenemos que casi todas las especies de los órdenes Odonata, Plecóptera, Efemeróptera y Tricóptera, tienen su desarrollo en los ambientes acuáticos. Son órdenes relativamente pequeños y están en números significativamente reducidos cuando se les compara con los grandes órdenes Hemíptera, Lepidóptera, Coleóptera, Hymenóptera y Díptera donde sólo un pequeño porcentaje de especies son acuáticas (Pennack, 1978).

Los hábitats acuáticos contienen menos oxígeno que los ambientes terrestres, aún bajo las condiciones más favorables. Así, el contenido de oxígeno disuelto en el agua es a menudo altamente variable y en algunos hábitats puede estar ausente. Esta condición particular en ambientes acuáticos demanda de los insectos diversas opciones para la obtención del oxígeno mediante un sistema traqueal eficiente. Los insectos acuáticos poseen un sistema respiratorio que les permite obtener y transportar el abundante oxígeno desde la atmósfera. Sin embargo, los insectos que emplean oxígeno disuelto en el agua presentan una situación muy diferente (Eriksen *et al.*, 1988).

Los ecosistemas terrestres, al igual que los acuáticos muestran una cadena de alimentación evidente. Las algas y demás plantas acuáticas constituyen la fuente productora del ecosistema; luego continúan los consumidores primarios, representados por insectos vegetarianos, eg., el orden Lepidóptera. Entre los depredadores clásicos del ecosistema están los órdenes: Odonata, Hemíptera, Coleóptera, y en especial el orden Neuróptera. Un tercer grupo de consumidores son aquellos que deshacen restos de otros organismos asentados en el substrato transformándolos en detritus; pertenecen a ellos los órdenes Efemeróptera, Díptera, Tricóptera y Plecóptera (Merritt y Cummins, 1988).

Los ecosistemas acuáticos continentales, lóticos y lénticos, más que ningún otro ecosistema, son los que han sufrido con mayor intensidad el impacto causado por la actividad humana en las últimas décadas. Los desechos industriales y domésticos de una población cada vez más creciente tienen como destino final los ríos y, en último término, el mar. Por ello, el uso de macroinvertebrados acuáticos, como indicadores de la calidad del

agua, tiene cada vez mas aceptación entre los ecólogos y es uno de los métodos usados en la evaluación del impacto ambiental causado por el desarrollo de la ingeniería moderna (construcción de represas, minas, carreteras y otros), que en alguna forma afectan los ecosistemas acuáticos (Roldán, 1988).

Las investigaciones sobre estos temas, por lo general, son realizadas por estudiantes de tesis, proyectos hidroeléctricos y empresas mineras entre los cuales podemos mencionar los de: Wittgreen y Villanero (1998); Araúz (1995); Arosemena (1995); Mendieta y García (1987); Murgas y Pinto (1987); Altamar y García (1985); Urriola y Chan (1981); Álvarez *et al.*, (1980). Urge que más investigadores realicen estudios sobre estos temas ya que nos brindan información sobre las condiciones biológicas de nuestros recursos hídricos.

El objetivo del presente trabajo es determinar cuáles familias y géneros de insectos acuáticos están presentes en la Quebrada El Salto, Distrito de Las Palmas, Provincia de Veraguas.

## **PARTE EXPERIMENTAL**

### **Área de estudio:**

La Quebrada El Salto es un afluente del Río Lirí, declarada mediante la Resolución No. J.D-014-94, del 3 de febrero de 1994, como "Área Natural Recreativa del Salto de Las Palmas". Está localizada en el corregimiento cabecera del Distrito de Las Palmas, Provincia de Veraguas, cuyas coordenadas geográficas medias son: 8° 8' 8" de Latitud Norte y 81° 26' 45" de Longitud Oeste. Es de gran belleza escénica, posee atractivos para el deporte y la recreación, ubicada entre arbolados y rastrojos, con una longitud de 4 km y 130 metros sobre el nivel del mar. La temperatura media anual del lugar fluctúa entre los 26° y 27 ° C; la zona de vida a la que pertenece el área corresponde al bosque húmedo tropical. Está constituida por una cascada con una superficie de 751 metros y 4 metros de profundidad máxima; la altura de caída libre de la cascada es de unos 35 metros (Instituto Geográfico Nacional Tommy Guardia, 1988).

### **Trabajo de campo:**

Fueron seleccionadas 8 estaciones para el estudio de campo; cada una incluyó 20 metros lineales a lo largo de la corriente, tomándose en éstas datos de temperatura, pH, substrato y vegetación circundante. Las estaciones fueron distanciadas 20 metros una de la otra, a lo largo del curso de la quebrada.

Los estudios de campo cubrieron un período de cinco meses: desde enero hasta mayo de 1998; en la Quebrada El Salto, en Las Palmas, se realizaron 18 giras en total. Los muestreos fueron en horas diurnas, una vez por semana. La recolección se hizo alternadamente: una semana en las estaciones 1, 2, 3, 4 y la siguiente en las estaciones 5, 6, 7, 8. El tiempo de muestreo fue de media hora en cada estación cubriendo toda el área.

Las muestras fueron obtenidas mediante una red tipo D-net, con una malla de 1 mm, que se utilizó para realizar *barridos* en el fondo y a lo largo de la orilla, en los que se atraparon insectos que se encontraban en los substratos arenoso, fangoso y adheridos a tallos, hojas y raíces de plantas sumergidas. También procedimos a levantar las piedras, en los substratos rocosos, con el propósito de sacar los insectos de sus refugios y capturarlos con pinzas entomológicas. Los especímenes recolectados se depositaron en viales plásticos con alcohol etílico al 70% y unas 3 ó 4 gotas de glicerina, para mantener blandas y flexibles las estructuras de los organismos (Roldán, 1988). Las muestras obtenidas fueron trasladadas a la Sala de Colecciones Referenciales de Zoología y Botánica del Centro Regional Universitario de Veraguas, donde procedimos a determinar cada espécimen encontrado utilizando las siguientes claves: Needham y Needham (1978); Roldán (1988); Edmunds (1988); Westfall (1988); Polhemus (1988); Pennack (1978) y McCafferty (1981).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El trabajo de investigación dio como resultado la determinación de 9 órdenes de insectos acuáticos, agrupados en 38 familias y 59 géneros. Distribuidos de la siguiente manera: hemíptera, 7 familias y 18 géneros; coleóptera, 7 familias y 14 géneros; díptera, 6 familias y 6 géneros; tricóptera, 6 familias; odonata, 5 familias y 9 géneros; efemeróptera, 4 familias y 10 géneros; plecóptera y neuróptera con una familia y un género cada una, y lepidóptera con una familia. (Cuadro 1).

La mayor variedad de familias y géneros de los órdenes de insectos encontrados la presentó el orden Hemíptera cuyas familias Gerridae, Naucoridae y Veliidae se encontraron con frecuencia en todas las estaciones, siendo el género *Gerris* el más común entre los gérridos. Otros géneros fueron: *Eurygerris*, *Limnogonus*, *Trepobates*, *Metrobates* y *Brachymetra*. Los Naucoridae más comunes fueron los géneros *Pelocoris* y *Cryphocricos*; otros géneros fueron: *Limnocoris* y *Ambrysus*. Entre los vélidos el más común fue el género *Rhagovelia*; otros fueron: *Microvelia* y *Stridulivelia*.

**Cuadro 1.**

Insectos acuáticos capturados en la Quebrada El Salto, en Las Palmas.

Orden	Sub-Orden	Familia	Género		
EPHEMENOPTERA		BAETIDAE	<i>Bateéis</i>		
			<i>Baetodes</i>		
			LEPTOPHLEBIIDAE	<i>Moribaetis</i>	
				<i>Dactylobaetis</i>	
			TRICORYTHIDAE	<i>Thraulodes</i>	
				<i>Traverella</i>	
				<i>Terpides</i>	
				<i>Leptohyphes</i>	
				<i>Tricorythodes</i>	
				<i>Euthyplocia</i>	
ODONATA	ZIGOPTERA	EUTHYPLOCIIDAE	<i>Euthyplocia</i>		
		CALOPTERYGIDAE	<i>Calopteryx</i>		
			COENAGRIONIDAE	<i>Hetaerina</i>	
				<i>Argia</i>	
				<i>Acanthagrion</i>	
				<i>Hesperagrion</i>	
			ANISOPTERA	MEGAPODAGRIONIDAE	<i>Megapodagrion</i>
				LIBELLULIDAE	*
				GOMPHIDAE	<i>Agriogomphus</i>
					<i>Phyllogomphoides</i>
			<i>Progomphus</i>		
			<i>Anacroneuria</i>		
PLECOPTERA	MEGALOPTERA	PERLIDAE	<i>Corydalus</i>		
NEUROPTERA		CORYDALIDAE	<i>Corydalus</i>		
HEMIPTERA	NEPOMORPHA	NAUCORIDAE	<i>Pelocoris</i>		
			<i>Limnocoris</i>		
				<i>Cryphocricos</i>	
				<i>Ambrysus</i>	
				<i>Belostoma</i>	
				<i>Lethocerus</i>	
				<i>Ranatra</i>	
				<i>Gelastocoris</i>	
			GERROMORPHA	GELASTOCORIDAE	<i>Gerris</i>
				GERRIDAE	<i>Eurygerris</i>
			<i>Limnogonus</i>		
			<i>Trepobates</i>		
			<i>Metrobates</i>		
			<i>Brachymetra</i>		
			<i>Stridulivelia</i>		
			<i>Microvelia</i>		
			<i>Rhagovelia</i>		
			<i>Mesovelia</i>		
COLEOPTERA		MESOVELIIDAE	*		
		DYTISCIDAE			
		GYRINIDAE	<i>Andogyrus</i>		
		HYDROPHILIDAE	<i>Hydrobiomorpha</i>		
			<i>Tropisternus</i>		
		DRYOPIDAE	<i>Dryops</i>		
	<i>Pelonomus</i>				
	<i>Ancyronix</i>				
	<i>Disersus</i>				

Cuadro 1. (Continuación)

Orden	Sub-Orden	Familia	Género
COLEOPTERA		ELMIDAE	<i>Cylloepus</i>
			<i>Gonielmis</i>
			<i>Optioservus</i>
			<i>Zaitzevia</i>
			<i>Eulimnichus</i>
TRICHOPTERA		LIMNYCHIDAE	<i>Eulimnichus</i>
		PSEPHENIDAE	<i>Acneus</i>
			<i>Psephenus</i>
			*
			*
			*
			*
			*
			*
			*
DIPTERA	NEMATOCERA	CHIRONOMIDAE	<i>Chironomus</i>
		CULICIDAE	<i>Culex</i>
		DIXIDAE	<i>Dixella</i>
		SIMULIIDAE	<i>Simulium</i>
		TIPULIDAE	<i>Hexatoma</i>
	BRACHYCERA	STRATIOMYIDAE	<i>Odontomyia</i>
			*
LEPIDOPTERA		PYRALIDAE	*

\* Géneros sin determinar.

Las familias menos comunes fueron: Belostomatidae con los géneros *Belostoma* y *Lethocerus*; Nepidae con el género *Ranatra*; Gelastocoridae con el género *Gelastocoris*; y Mesoveliidae con el género *Mesovelia*.

Estos resultados coinciden con los trabajos realizados por Wittgreen y Villanero (1998) en el Río La Villa, cuyos hemípteros constituyen uno de los grupos más abundantes, con 14 géneros y 8 familias. El estudio adelantado por Murgas y Pinto (1987), en Río Grande, también coincide en que los hemípteros representan uno de los grupos más dominantes.

El segundo orden que presentó mayor variedad de familias y géneros fueron los coleópteros con 14 géneros distribuidos en 7 familias, cuya familia Psephenidae fue la más común en todas las estaciones con su género *Psephenus*; otro género determinado fue *Acneus*. La familia que presentó el mayor número de géneros fue Elmidae cuyo género más común fue; *Cylloepus*; otros fueron: *Ancycronix*, *Disersus*, *Gonielmis*, *Optioservus* y *Zaitzevia*. La familia Dryopidae, con sus géneros *Pelonomus* y *Dryops*, fue encontrada en cinco estaciones.

Las familias menos comunes fueron Hydrophilidae con los géneros *Hidrobioromorpha* y *Tropisternus*; Dysticidae con géneros sin determinar; Limnymphidae con su género *Eulimnichus*; y Gyrinidae con el género *Andogyrus*.

Según Roldán (1988), la mayoría de los coleóptera acuáticos viven en aguas continentales lólicas y lénticas, representadas por ríos, quebradas, riachuelos, charcas, lagunas, aguas temporales, embalses y represas. También se les ha encontrado en zonas ribereñas tanto de ecosistemas lólicos como lénticos. Este autor, en su trabajo realizado en Colombia, encontró familias como Elmidae; Psephenidae, Gyridae, Limnephilidae, Dryopidae. Su investigación permite registrar una similitud con lo encontrado en nuestro estudio. Consistentemente González *et al.*, (1981), en el Río Frijoles, en Panamá, obtuvieron como resultado que el orden coleóptera fue uno de los más abundantes. Araúz (1995), en el Río Chico en Chiriquí, encontró que la familia Elmidae fue la más abundante en cuanto al número de individuos, seguida de Psephenidae e Hydrophilidae, respectivamente.

Del orden Díptera encontramos 6 familias y 6 géneros, cuya familia Chironomidae fue la más común con el género *Chironomus* presente en 6 estaciones. Otras familias menos comunes fueron Stratiomyidae, con el género *Odontomyia*; Tipulidae, con *Hexatoma*; Culicidae, con *Culex*; Dixidae, con *Dixella*; Simuliidae, con su género *Simulium*. Wittgreen y Villanero (1998) sólo encontraron ejemplares del orden díptera dentro de la familia Chironomidae con el género *Chironomus* en el Río La Villa en Los Santos. En forma similar Araúz (1995) reportó en el Río Chico las familias Chironomidae; Culicidae, Simuliidae, Stratiomyidae, Dixidae, Tipulidae lo que guarda concordancia con lo encontrado en el presente estudio.

En investigaciones realizadas en el área de Gamboa, en Panamá, el género *Culex* resultó ser el más abundante, siendo una especie típica de ambientes en proceso de descomposición, ya que existe una gran cantidad de material degradándose, producto de las plantas acuáticas que se descomponen por procesos naturales o por influencia de herbicidas. Es importante señalar que una de las razones, por la cual se registran altas poblaciones de larvas de la familia Culicidae en la maleza acuática, se debe a que este hábitat les suministra alimento y medio apropiado para realizar gran parte de sus actividades metabólicas, disponibilidad de oxígeno y protección, lo cual bloquea el paso de depredadores (Rogers, 1996).

Los tricópteros fueron determinados sólo hasta familia; debido a su complejidad se identificaron 6 familias: Hydropsychidae, Phyllopotamidae y Polycentropodidae; abundantes en todas las estaciones. Las familias menos comunes fueron Glossosomatidae, Anomalopsychidae y Leptoceridae.

dae. Los tricópteros son insectos que se caracterizan por hacer casas o refugios que construyen en el estado larval. Las casas portátiles les sirven de protección en su búsqueda de alimento. La mayoría viven en aguas corrientes, limpias y oxigenadas, debajo de piedras, troncos y material vegetal; algunas especies viven en aguas quietas y remansos de ríos y quebradas (Roldán, 1988). Araúz (1995), durante un estudio en el Río Chico, Provincia de Chiriquí, encontró que, en el grupo de los tricópteros, las familias más abundantes fueron Hydropsychidae y Leptoceridae, mientras que, para La Quebrada El Salto, Hydropsychidae fue una de las más comunes. Además, otras familias encontradas en menor abundancia en el Río Chico fueron Glossosomatidae, Phyllopotamidae y Polycentropodidae.

El orden Odonata estuvo representada en nuestras muestras por los dos subórdenes Zigóptera con tres familias y 6 géneros; y Anisóptera con dos familias y tres géneros. Las familias de zigópteros fueron: Calopterygidae con los géneros *Calopteryx* y *Hetaerina*; Coenagrionidae fue la más común con su género *Argia* encontrada en todas las estaciones. Otros géneros encontrados fueron: *Acanthagrion*, *Hesperagrion*; y la familia Megapodagrionidae con el género *Megapodagrion*. Las familias de anisópteros fueron: Libellulidae, la más común encontrada en todas las estaciones; y Gomphidae que se ubicó en 7 estaciones, con sus géneros: *Agriogomphus*, *Phyllogomphoides* y *Progomphus*. En el Río Chico se localizaron las familias Calopterygidae, Coenagrionidae dentro de los zigópteros y las familias Libellulidae y Gomphidae dentro de los anisópteros (Araúz, 1995). En el trabajo realizado por Wittgreen y Villanero (1998) en el Río La Villa hallaron los géneros *Progomphus* y *Agriogomphus* de los anisópteros, y de los zigópteros los géneros *Argia* y *Hetaerina*. Murgas y Pinto (1987), en Río Grande, en Coclé, encontraron la familia Libellulidae, única determinada en el orden Odonata. Los Odonata también fueron uno de los órdenes más abundantes encontrados por González *et al.*, (1981) en el Río Frijoles, Parque Nacional Soberanía.

El orden Efemeróptera fue el más comúnmente encontrado durante el muestreo en todas las estaciones; determinamos cuatro familias y 10 géneros. La familia Leptophlebiidae fue la más común con su género *Thraulodes*; otros géneros fueron: *Traverella* y *Terpides*. La familia que presentó la mayor variedad de géneros fue Baetidae con *Baetis*, *Baetodes*, *Moribaetis* y *Dactylobaetis*. Las familias menos comunes fueron: Tricorythidae con los géneros *Leptohyphes* y *Tricorythodes*; Euthyplociidae con *Euthyplocia*. En pesquisas realizadas por Araúz (1995) en el Río Chico, se encontraron las familias Baetidae, Leptophlebiidae; Tricorythidae,



tres de las cuatro familias registradas en nuestro trabajo. En el Río Frijoles, González *et al.*, (1981), encontraron que, de los insectos acuáticos de mayor abundancia, el orden Efemeróptera fue predominante en cuanto al número de individuos.

Del orden Plecóptera fue recolectada una sola familia, Perlidae y un género *Anacroneuria*, el cual predominó en todas las estaciones. Según González *et al.*, (1981), en el Río Frijoles, los plecópteros constituyeron uno de los órdenes menos abundantes, habiendo discordancia en comparación con nuestro trabajo ya que éstos fueron comunes en todas las estaciones.

Del orden Lepidóptera sólo determinamos una familia que fue Pyralidae; éste fue el orden menos predominante; también lo fue para Murgas y Pinto (1987) en el Río Grande en Coclé, y para Araúz (1995) en el Río Chico.

Dentro de los neurópteros determinamos una sola familia, la Corydalidae con el género *Corydalus*. Esta familia fue común ya que existe en todas las estaciones. En el Río La Villa en Los Santos, la familia Corydalidae y su género *Corydalus* fue reportado por Wittgreen y Villanero (1998). En el caso de este orden Neuróptera, Araúz (1995) concluyó que su distribución fue limitada, ya que sólo fueron reportados para las aguas corrientes; además, es baja su abundancia al ubicarse solamente una familia, la Corydalidae. En el Río Frijoles, este orden fue uno de los que presentó menor cantidad de individuos (González *et al.*, 1981).

## CONCLUSIONES

En la Quebrada El Salto, en Las Palmas de Veraguas, determinamos 9 órdenes, 38 familias y 59 géneros de insectos acuáticos.

Dentro de los insectos acuáticos más comunes, capturados en todas las estaciones, figuran: los efemerópteros con cuatro familias y diez géneros, destacándose la familia Leptophlebiidae.

Los hemípteros presentaron la mayor variedad de familias y géneros con dieciocho géneros distribuidos en siete familias.

Los Odonatas fueron el segundo orden más sobresaliente, con cinco familias y nueve géneros, representados por la familia Coenagrionidae.

Los órdenes que presentaron menor variedad de familias y géneros fueron: Plecóptera y neurópteros, con una familia y un género; y el orden lepidóptero con una familia.

## **SUMMARY**

### **AQUATIC INSECTS OF QUEBRADA EL SALTO, IN THE DISTRICT OF LAS PALMAS, PROVINCE OF VERAGUAS, REPUBLIC OF PANAMA**

With the aim to determine the families and genus of aquatic insects present in the Quebrada El Salto, in the District of Las Palmas, Province of Veraguas, since the month of January to May of 1998, in 9 orders assorted in 37 families and 59 genus were collected. The insects were collected with a type of D-net with a mesh of 1 mm., and pincers were used in the rocky substrate lodge. The most representatives orders related to the number of families and genus were: Hemiptera with 7 families and 18 genus; Coleoptera with 7 families and 14 genus; Diptera with 6 families and 6 genus; Trichoptera with 6 families (genus without determination); Odonata with 5 families and 9 genus, and Ephemeroptera with 4 families and 10 genus. The less representative orders were the Plecoptera and Megaloptera, with a family and genus, and the order Lepidoptera with a family.

## **KEYWORDS**

Aquatic insects, Quebrada El Salto, Las Palmas.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.**

ALTAMAR, A. y GARCÍA, V. 1985. **Cría en el Laboratorio, Estudio de la Ecología y del Ciclo de Vida del Orden Ephemeroptera (Insecta) en el Río La Puente, Panamá.** Tesis de Licenciatura, Escuela de Biología, Universidad de Panamá. 89 pp.

ÁLVAREZ, L., AMORES, R., PACHECO, R., ÁGUILA, Y. y RIVERA, R. 1980. **An Ecological Study of the San Félix River in Western Panama, Republic of Panamá.** RTZ-Development Enterprise, Inc., Universidad de Panamá.

ARAÚZ, B.E. 1995. **Abundancia y Distribución de Macroinvertebrados Acuáticos en el Río Chico, Provincia de Chiriquí.** República de Panamá, Tesis de Licenciatura, Escuela de Biología, Universidad de Panamá. 112 pp.

AROSEMENA, M. 1995. **Reconocimiento Bioecológico del Río Chico y su Cuenca Hidrográfica, Provincia de Coclé, Panamá.** Tesis de Licenciatura, Escuela de Biología, Universidad de Panamá. 273 pp.

EDMUNDS, G.F. 1988. Ephemeroptera. En: **An Introduction to the Aquatic Insects of North America.** 2ª Edición, Eds: R. W. Merritt y K. W. Cummins. Debuque, Iowa: Kendall Hunt Publishing Company, pp. 94-125.

ERIKSEN, C.H., RESH, V.H., BALLING, S.S., LAMBERTI, G.A. 1988. Aquatic Insect Respiration. En: **An Introduction to the Aquatic Insects of North America.** 2ª Edición, Eds: R. W. Merritt y K. W. Cummins. Debuque, Iowa: Kendall Hunt Publishing Company, pp. 27-37.

GAVIÑO, G., JUÁREZ, J.C. y FIGUEROA, H.H. 1990. **Técnicas Biológicas Selectas de Laboratorio y de Campo.** Editorial Limusa. México. 252 pp.

GONZÁLEZ, G.R., MUÑOZ, B.M. y SOTO V.D. 1981. **Estudio de las Poblaciones de Insectos Acuáticos en las Aguas Lóticas del Río Frijoles, Parque Nacional Soberanía, Panamá.** Tesis de Licenciatura, Escuela de Biología, Universidad de Panamá. 99 pp.

INSTITUTO GEOGRÁFICO NACIONAL "TOMMY GUARDIA". 1988. **Atlas Nacional de la República de Panamá.** Tercera Edición. Panamá.

MC CAFFERTY, W. 1981. **Aquatic Entomology.** Boston: Science Books International 448 pp.

MENDIETA, V. y GARCÍA, C. 1987. **Estudio Bioecológico del Río Guararé y su Cuenca Hidrográfica, Provincia de Los Santos, Panamá.** Tesis de Licenciatura, Escuela de Biología, Universidad de Panamá. 159 pp.

MERRITT, R.W. y CUMMINS, K.W. 1988. Ecology and Distribution of Aquatic Insects. En: **An Introduction to the Aquatic Insects of North America.** Second Edition, Eds: R. W. Merritt and K. W. Cummins. Debuque, Iowa: Kendall Hunt Publishing Company, pp. 59-75.

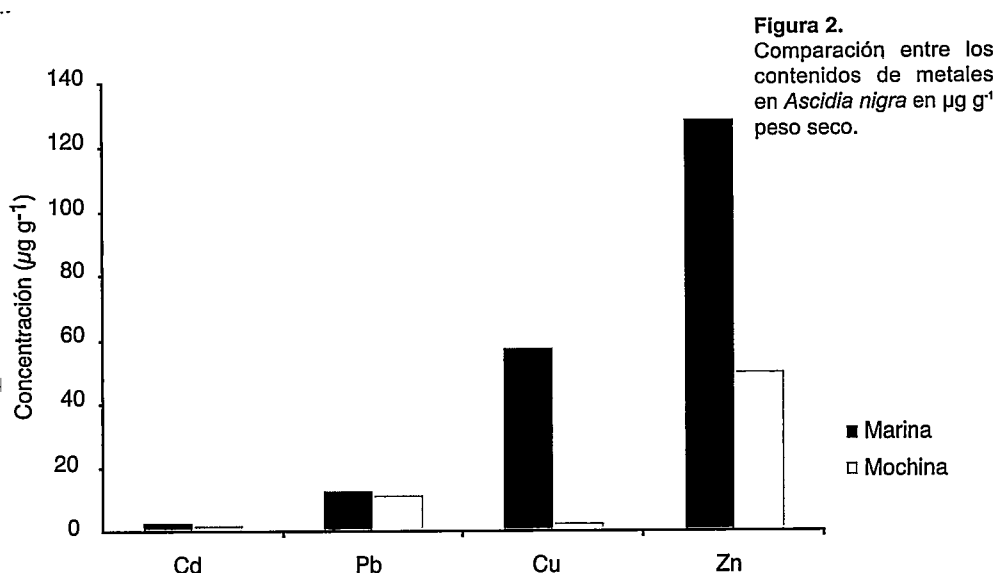
MURGAS, B.F. y PINTO, I.N. 1987. **Estudio Bioecológico del Río Grande, Provincia de Coclé.** Tesis de Licenciatura, Escuela de Biología, Universidad de Panamá. 161 pp.

**Cuadro 1.**

Concentraciones medias estimadas ( $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco) de *Ascidia nigra*, con sus respectivas desviaciones estándar de dos localidades de la costa del Estado Sucre, Venezuela, en febrero del año 2000.

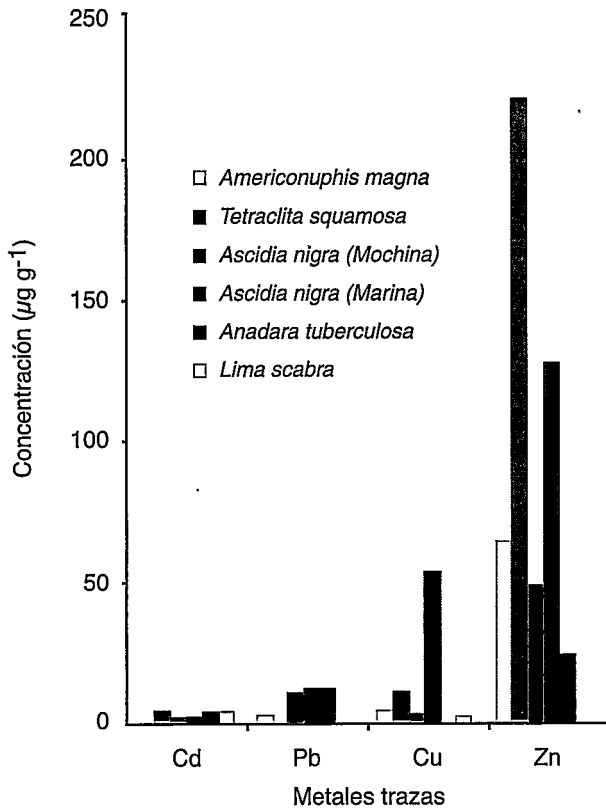
Metal	Localidad			
	Marina Cumanagoto		Mochima	
	Media	DE	Media	DE *
Cd	2,93	0,28	2,39	0,57
Pb	13,40	2,73	11,49	2,25
Cu	54,74	6,94	3,57	0,25
Zn	129,37	0,12	50,29	0,46

\* DE: desviación estándar



Las concentraciones de los metales en los organismos colectados en el Muelle de la Marina Cumanagoto C.A. (Cuadro 1, Figura 3) resultaron superiores a las registradas en *Americanuphis magna* (Cuadro 2) de una región de la Península de Araya sin notable intervención antrópica. Respecto a este organismo, las *Ascidias* de la Bahía de Mochima mostraron concentraciones más bajas en Cu y Zn; sin embargo, los valores de Cd y Pb fueron más altos. El Cd y Zn, en este estudio, resultaron inferiores a los registrados en *Tetraclita squamosa* (Cuadro 2), colectadas en el Muelle Xiamen de China. No obstante, el Cu acumulado en *T. squamosa* fue inferior al de las *Ascidias* de la Marina Cumanagoto, pero superior al contenido de las colectadas en Mochima (Cuadro 2).

El Cu mostró un valor bastante similar en *Ascidias* de Mochima y en *Lima scabra* de una ensenada poco intervenida del Estado Sucre, Venezuela (Cuadro 2); situación contraria mostraron las *Ascidias* de la Marina Cumanagoto. En ese mismo sentido, el Cd fue superior en *L. scabra*. Sin embargo, *Anadara tuberculosa*, de un manglar de Panamá, sin perturbaciones antrópicas evidentes, contiene valores similares de Pb, superiores de Cd y muy inferiores en Cu y Zn que las *Ascidias* (Cuadro 2).



**Figura 3.**  
Comparación de las concentraciones de metales.

**Cuadro 2.**

Comparación de las concentraciones de metales trazas (g g<sup>-1</sup> peso seco) en *Ascidia nigra*, *Americonuphis magna* (Andrade et al., 1997), *Tetracilita squamosa* (Blackmore et al., 1998), *Anadara tuberculosa* (Durán, 2000), *Lima scabra* (Gómez, 1998).

Metal	<i>A. nigra</i> Mochima	<i>A. nigra</i> Marina	<i>A. magna</i> Pen. de Araya	<i>T. squamosa</i> China	<i>A. tuberculosa</i> Panamá	<i>L. scabra</i> Turpialito
Cd	2,39	2,93	1,11	5,07	4,60	5,00
Pb	11,49	13,40	3,68	0,00	13,06	0,00
Cu	3,57	54,74	5,75	12,07	0,88	3,06
Zn	50,29	129,37	66,30	2 243,88	24,87	0,00

## DISCUSIÓN

En los invertebrados marinos la concentración de metales en los tejidos puede ser altamente dependiente de las condiciones fisiológica y ambiental (Mouneyrac *et al.*, 1998) o de la naturaleza de las especies químicas (Lakshman y Nambisa, 1983). Los contaminantes bioacumulados pueden provenir del agua de mar, partículas suspendidas de los sedimentos y a través de la cadena alimenticia (Bryan y Hummerston, 1973) y los organismos marinos pueden incorporar metales adsorbidos en partículas inorgánicas, materia orgánica y en solución. En la *Ascidia nigra*, el agua de mar pasa a través de hendiduras branquiales faríngeas y su alimentación depende de una red mucosa secretada, que aumenta en cantidades copiosas como respuesta estresante; por lo tanto, puede acumular, potencialmente, metales. En ese sentido, Harland y Nganro (1990) encontraron que la tasa de ingesta de cobre en la anémona de mar aumenta después que ha cesado la producción de mucus.

La similitud entre las concentraciones de Cd en *A. nigra* registradas para ambos lugares muestreados indica que este metal, probablemente, es transferido al agua de mar por escorrentías continentales que lavan los suelos. La diferencia entre la concentración de Cd en *A. nigra*, *Americonuphis magna* y *Anadara tuberculosa* parece ser esencialmente mineraológica local; sin embargo, con *Tetraclita squamosa*, evidentemente, es producto de los aportes industriales que descargan en la costa de China. Este metal es un contaminante muy tóxico para organismos marinos y humanos; por lo tanto, se considera importante cuantificar las entradas antropogénicas que permanecen disueltas en el mar, así como la forma química como se presenta en agua y sedimentos. Su estado de oxidación en ambientes considerados naturales es Cd (II) y no se afecta directamente por las condiciones redox. Por otro lado, es muy afín con los iones cloruro (Cl<sup>-</sup>) pudiendo formar complejos con iones orgánicos.

Se conoce que el Cd es incorporado, como otros metales, a través de las branquias o por absorción por la membrana celular, variando el tejido donde se acumula de un organismo a otro. Aunque la información sobre la forma de acumulación es escasa, se ha especulado sobre su fuerte enlace con proteínas de bajo peso molecular como las metalotioneinas (Sadiq, 1992). De hecho, los metales pesados son capaces de inducir la síntesis de metalotioneinas, considerado esto como el evento más importante en la homeostasis o regulación intracelular de metales esenciales como el Zn y Cu, y en la detoxificación de cationes xenobióticos divalentes como el Cd y Hg (Bebiano y Serafim, 1998; Mouneyrac *et al.*, 1998).

En organismos que usan branquias como principal ruta de ingesta (absorción directa), la acumulación de Cd está relacionada con las concentraciones del agua de mar. Algunos investigadores han reportado la presencia de Cd en poliquetos en forma proporcional a las concentraciones del agua de mar, así como una depuración rápida de los organismos marinos al moverse a aguas limpias (Hardy *et al.*, 1981; Cossa, 1988). Los valores de Cd encontrados en este estudio son relativamente inferiores a los reportados en ostras analizadas después de la posguerra en Kuwait (3,16 g g<sup>-1</sup>) en el molusco bivalvo *Pinctada radiata* (Bou-Olayan *et al.*, 1995).

La similitud entre las concentraciones de Pb en *A. nigra* de la Marina Cumanagoto C.A., *Ascidias* de la Bahía de Mochima y *A. tuberculosa*, sugiere que los aportes tienen el mismo origen: compuestos alquílicos de plomo (tetrametilo y tetraetilo de plomo) provenientes de la combustión de vehículos automotores y lanchas, los cuales se han introducido al medio marino al caer de la atmósfera, pudiendo ser absorbidos por la biota marina. La diferencia del contenido de Pb registrado en las *Ascidias* con el de *A. magna* radica fundamentalmente en que la localidad geográfica donde fueron recogidos, estos últimos, presenta escasa circulación de vehículos automotores.

Se sugiere que los compuestos alquílicos hidrofílicos son los que se presentan predominantemente en forma biológica. Una evidencia de esto fue observada por Head *et al.*, (1980), quienes encontraron que 31-67% del plomo total analizado en *Nervis diversicolor* y *Macoma balthica* del estuario de Mersey correspondía a compuestos alquílicos hidrofílicos de plomo. Por otro lado, Langston (1986), al investigar metales en sedimentos y organismos bénticos del mismo estuario, encontró correlación escasa. Sin embargo, en los pastos marinos la correlación fue significativa, atribuyendo este hecho a compuestos alquílicos solubles de plomo en agua, descargados por un efluente industrial.

Al igual que el cadmio y cobre, el plomo puede ser acumulado directamente de los sedimentos y agua de mar, especialmente en los organismos marinos, los cuales utilizan sus tejidos branquiales como ruta principal en la ingesta de nutrientes. La bioacumulación está afectada por la química del metal, cuya forma más tóxica es Pb<sup>+2</sup>; sin embargo, los compuestos alquílicos son de 10 a 100 veces más tóxicos que esta forma inorgánica.

Los metales Zn y Cu son elementos esenciales de los organismos marinos. El Cu juega un papel catalítico para muchos sistemas enzimáticos;

sin embargo, altas concentraciones pueden provocar efectos tóxicos en los organismos. La principal fuente de contaminación por Cu, en ambientes marinos, es la descarga antropogénica, sirviendo el agua de mar como vehículo de transferencia. En la biota marina, la acumulación de este metal se relaciona con altas concentraciones en agua y sedimentos marinos pero independiente de la posición del organismo en la red trófica. Asimismo, factores abióticos como las condiciones redox, capacidad de acomplejamiento del metal en el agua de mar, la cantidad de partículas suspendidas, salinidad y alcalinidad son influyentes; especialmente al disminuir la salinidad y el pH, bajo estas condiciones la forma iónica biotóxica  $\text{Cu}^{2+}$  es más accesible (Sadiq, 1992). Referente a esto, Langston (1986) demostró que las concentraciones de Cu en organismos bénticos estuarinos fueron similares a las de los sedimentos donde habitaban. Zamuda *et al.*, (1985) reseñaron que la bioaccesibilidad del cobre disuelto en *Crassostrea virginica* se redujo por complejificación orgánica del metal.

En este sentido, Gassman *et al.*, (1994) encontraron correlación entre las concentraciones contaminantes de Cu en los sedimentos de la Bahía Biscayne, Florida y las anomalías en peces y cangrejos azules. Sin embargo, con Cd, Pb, y Zn no encontraron la misma relación, atribuyéndolo a los bajos gradientes de los niveles de contaminación.

Las altas concentraciones de los metales Zn y Cu en los organismos colectados en la Marina Cumanagoto C.A. revelan que existen descargas antropogénicas, probablemente provenientes de restos de pinturas *anti-fouling* de embarcaciones, que poseen un elevado contenido de cobre; bien sea dejados durante la permanencia de ellas en el muelle o en el proceso de raspado, al renovar las pinturas. Estos restos son transferidos al agua y se depositan en los sedimentos. Un aporte adicional podría ser el material de los pilotes del muelle. Se ha demostrado que en el poliqueto *Melinna palmata*, el cobre puede estar envuelto en procesos de mecanismos *antifouling*, previendo la fijación de epizooarios (Gibbs *et al.*, 1981).

Recientes investigaciones han demostrado que agentes *antifouling*, usados para pintar las partes sumergidas de embarcaciones pequeñas y yates, provocan contaminación y efectos indeseables en ambientes marinos. Aunque se han hecho esfuerzos para minimizar los efectos adversos a la biota. Algicidas menos tóxicos a la biota, combinados con cobre (Dahl y Blanck, 1996) han provocado contaminación en puertos y marinas de la Côte d'Azur, Francia y en la Costa Sur del Reino Unido (Readman *et al.*, 1993).



En el Muelle de Xiamen, la *T. squamosa* presentó valores de Cu inferiores y de Zn muy superiores a los de *A. nigra*, debido a relevantes descargas de las industrias ubicadas en la costa china. Asimismo, la *A. nigra* (Mochima), *A. magna*, *A. tuberculosa*, presentaron menores cantidades de los metales Cu y Zn debido a que sus áreas de recolección están poco intervenidas por el hombre. Cabe resaltar que Blackmore *et al.*, (1998) refirieron que las concentraciones de Cu y Zn más elevadas las encontraron en individuos *T. squamosa* y *Balanus amphitrite* de mayor tamaño. Asimismo, consideran que la talla, condición reproductiva, entre otros factores, afectan la concentración de los metales en los organismos. Sin embargo, en nuestro estudio no se hizo tal diferenciación. En *Perna viridis*, *Crassostrea incullata* y *Meretrix casta*, se encontró concentraciones entre 70,5 y 127,5 g g<sup>-1</sup> (Krishnakumar y Bhat, 1998). En nuestro estudio los valores estuvieron dentro del rango para la Marina Cumanagoto, pero no existió diferencia entre las localidades estudiadas.

### CONCLUSIONES

El metal más abundante en *Ascidia nigra* fue el Zn, mientras que el Cd resultó el más escaso. En los organismos del muelle de la Marina Cumanagoto la concentración de metales decreció en el siguiente orden: Zn > Cu > Pb > Cd y en la Bahía de Mochima Zn > Pb > Cu > Cd.

No se encontraron diferencias significativas entre los contenidos de Cd y Pb en *Ascidia nigra*. El primero aparentemente procede de aportes continentales y el segundo de compuestos alquílicos de plomo, producto de la combustión de vehículos automotores y lanchas, introducidos al medio marino al caer de la atmósfera, los cuales son absorbidos por la *Ascidia*.

Las concentraciones de metales Cu y Zn en los organismos de las dos áreas estudiadas difieren entre sí, respondiendo a distintos aportes, cuyo vehículo es el agua de mar o estaría en los sedimentos. El cobre acumulado en los tejidos de *Ascidia nigra* de la Marina Cumanagoto C.A. indica un aporte exógeno, adicional al natural, proveniente de las pinturas *antifouling* para las embarcaciones; razón similar justifica la elevada concentración de Zn.

### SUMMARY

#### TRACE METALS IN *Ascidia nigra* (Savigny, 1816) COLLECTED IN COSTAL ZONES OF SUCRE STATE, VENEZUELA

In February 2000, samples of *Ascidia nigra* were collected in the wharf Marina Cumanagoto located in Cumaná City and in the Mochima Natio-

nal Park, located 30 km from that city, Estado Sucre, Venezuela. Trace

## INMUNOLOGÍA

5

### **EFFECTO *In Vitro* DE LOS VIRUS DE LEUCOSIS BOVINA (BLV) Y DE INMUNODEFICIENCIA BOVINA (BIV) SOBRE LA RESPUESTA PROLIFERATIVA DE LINFOCITOS HUMANOS**

**OMAR A. DUPUY L.<sup>1</sup> y JOSÉ A. BONILLA V.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Laboratorio de Fisiología Animal e Inmunobiología Dr. Erich Graetz, Departamento de Fisiología y Comportamiento Animal, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología, Universidad de Panamá.

<sup>2</sup> Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular, Universidad de Costa Rica, Código Postal 2060, San Pedro, Costa Rica.

#### **RESUMEN**

Los retrovirus constituyen una gran familia de virus ARN que han sido implicados en un amplio espectro de desórdenes patológicos, tanto en el hombre como en animales.

Este trabajo fue realizado con el propósito de estudiar, mediante técnica colorimétrica que emplea la sal de tetrazolio 2,3-bis(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-5-(fenilamino-carbonil)-2H-tetrazol hidróxido (XTT), el efecto *in vitro* de BLV y BIV sobre la respuesta de linfocitos humanos al mitógeno fitohemaglutinina-M (PHA-M, 10 µg/ mL), en cultivos de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) humanas.

Los linfocitos cultivados con PHA-M y sobrenadante de BLV o de BIV mostraron una leve pero no significativa disminución de la respuesta proliferativa ( $p > 0,05$ ). Sin embargo, los linfocitos de cuatro de los siete hombres (57,1%) y de dos de las tres mujeres (66,7%) presentaron una reducción significativa en el porcentaje de estimulación (Mann-Whitney,  $p < 0,05$ ) cuando las PBMC fueron cultivadas con PHA-M y sobrenadante BIV/BLV. Estos datos sugieren que *in vitro* el efecto combinado de BLV

y BIV disminuye la respuesta proliferativa a mitógeno. No se observó relación entre el sexo de los voluntarios y el efecto *in vitro* de BLV y BIV sobre linfocitos.

Estos resultados deben ser analizados con especial cuidado, toda vez que no existen reportes de que BLV o BIV inducen alguna patología en el ser humano.

## **PALABRAS CLAVES**

Virus de Leucosis Bovina, Virus de Inmunodeficiencia Bovina, BLV, BIV, linfocitos, humanos, efecto *in vitro*.

## **INTRODUCCIÓN**

El interés por el estudio de los retrovirus aumentó notablemente, a raíz del descubrimiento del Virus Linfotrópico T Humano (HTLV) (Poiesz *et al.*, 1980) y la posterior aparición del Virus de Inmunodeficiencia Humana (HIV) (Barré-Sinoussi *et al.*, 1983). Esto se refleja en la búsqueda de modelos animales para los ensayos y el posterior desarrollo de vacunas tanto para humanos como para animales (Letvin, 1992).

En bovinos se han descrito el Virus de Leucosis Bovina (BLV), el Virus de Inmunodeficiencia Bovina (BIV) y el Virus Sincicial Bovino (BSV). El BLV pertenece al género *HTLV/BLV* y es el agente causal de la leucosis bovina enzoótica. En bovinos, la infección por BLV puede presentarse sin manifestaciones clínicas; a veces el virus induce linfocitosis persistente y algunas veces llega a inducir linfosarcoma (Kerkhofs *et al.*, 1996).

Por otro lado, se ha propuesto que BIV, un lentivirus, puede causar linfocitosis persistente, linfadenopatía, hiperplasia folicular generalizada, lesiones en el sistema nervioso central, enflaquecimiento progresivo e inmunodeficiencia en bovinos natural o experimentalmente infectados con este virus (Gonda *et al.*, 1990; Whetstone *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 1997).

Tanto BLV (Kettmann *et al.*, 1994; Kidd y Radke, 1996; Dequiedt *et al.*, 1997; Willems *et al.*, 1999) como BIV (Van Der Maaten *et al.*, 1972; Whetstone *et al.*, 1991; Gonda, 1992; Jacobs *et al.*, 1994; Kalvatchev *et al.*, 1998), pueden afectar especies no relacionadas cuando se les inocular experimentalmente. Por tal razón, se realizó el presente trabajo con el propósito de estudiar el efecto *in vitro* de BLV y BIV sobre la prolife-

ración de linfocitos humanos pues no existen reportes de que BLV o BIV inducen patología en humanos. Nuestros datos sugieren que BIV y BLV (BIV/BLV) coactúan para disminuir la respuesta proliferativa de linfocitos humanos *in vitro*.

## **PARTE EXPERIMENTAL**

### **Materiales:**

#### **- Obtención de las muestras de sangre humana**

Las muestras de sangre humana necesarias para la extracción de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) fueron obtenidas de 10 voluntarios (3 mujeres y 7 hombres, 25 a 45 años de edad). Se emplearon tubos estériles al vacío con ácido cítrico-dextrosa (ACD) como anticoagulante.

#### **- Líneas celulares**

Células FLK (riñón fetal de oveja) donadas por el Dr. J.F. Ferrer, infectadas persistentemente con BLV, fueron cultivadas con medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) (Sigma, No. Cat. D-6655), suplementado con suero fetal bovino (SFB) al 10%, 50 µg/mL de estreptomycin, 100 UI/mL de penicilina, 2 mM de glutamina, 5 mM de 2-mercaptoetanol, 10 mM de solución MEM de aminoácidos esenciales, 45 mM de bicarbonato de sodio, 0,8 mM de glucosa y 25 mM de N-(2-hidroexitetil) piperazina-N<sup>1</sup>-(ácido 2-etanosulfónico) (HEPES).

Células Cf2Th (timo fetal canino) donadas por el Dr. M. A. Gonda, permisibles a la replicación de la cepa R29 de BIV y Cf2Th sin infectar, fueron cultivadas de la misma manera que las FLK.

Las células fueron incubadas a 37°C en cámara húmeda y con una atmósfera al 5% de CO<sub>2</sub>. La monocapa confluyente de las FLK y de las Cf2Th fue tripsinizada cada 7 días y los sobrenadantes de cada línea celular fueron acumulados y congelados hasta su posterior utilización.

### **Metodología:**

#### **- Obtención de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) humanas**

Las PBMC humanas fueron separadas mediante un gradiente de Ficoll-Hypaque (Böyum, 1968). Se procedió a diluir la sangre 1:2 con PBS y

luego fueron colocadas sobre un colchón de 2 mL Ficoll-Hypaque 1044 (Sigma, No. Cat. NR 1077-1) al 5%. Posteriormente, fueron centrifugadas a 1 800 rpm por 45 minutos a 20°C. La banda de PBMC fue transferida a otro tubo cónico y lavada con PBS estéril, pH 7,2. El botón de células fue resuspendido en medio de cultivo RPMI 1640 (Sigma, No. Cat. R-8755), suplementado de la misma forma que el DMEM. La viabilidad de las células fue determinada contando en cámara de Neubauer, diluïdos 1:2 en colorante azul tripán excluyendo aquellas células teñidas de azul (células muertas). Se ajustó la concentración a  $1 \times 10^6$  células vivas /mL.

#### **- Ensayo de linfoproliferación**

Se colocaron 100 µL de la suspensión de PBMC preparada con anterioridad, en placas de 96 pozos fondo en "U". Se agregó el mitógeno activador de linfocitos, fitohemaglutinina-M (PHA-M, Sigma, No. Cat. L-2646), a una concentración final de 10 µg/mL. A éstos, les fue agregado por triplicado 25, 50 y 75 µL de sobrenadante con BLV o BIV o de una mezcla de sobrenadante con BIV y BLV (BIV/BLV). Luego, las placas fueron incubadas a 37°C en una atmósfera al 5% de CO<sub>2</sub> por 72 horas.

Además, se incluyeron, en las placas, controles con sobrenadante de células Cf2Th sin infectar, células solas y células con PHA-M.

#### **- Determinación de proliferación de linfocitos por colorimetría**

El método descrito por Mosmann (1983) y modificado por Bonilla *et al.*, (1993) fue utilizado para determinar la proliferación de linfocitos. Para ello, se emplearon 50 µL por pocillo de una solución fresca de sal de tetrazolio 2,3-bis(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-5-(fenilamino-carbonil)-2H-tetrazol hidróxido (XTT) (Sigma, No. Cat. X-4251), a una concentración de 1 mg/mL en PBS estéril y a 37°C. Como catalizador se añadió N-metilfenacina metasulfato (PMS), a una concentración de 0,01 M en PBS estéril, a 37°C. Las PBMC fueron incubadas nuevamente por 2 horas a 37°C en oscuridad y, seguidamente, fue cuantificado el cambio de color en un lector Dynex MRX (Dynex Technologies), a una longitud de onda de 450 nm y con un filtro de referencia de 650 nm. La técnica se fundamenta en la reducción del XTT por enzimas celulares, a un producto hidrosoluble, no tóxico y coloreado, denominado formazán (Paull *et al.*, 1988; Scudiero *et al.*, 1988).

### **Análisis estadístico:**

El análisis de los datos se realizó con las pruebas no paramétricas, Mann-Whitney y ANOVA de Friedman (Sokal y Rohlf, 1979; Steel y Torrie, 1985; Blaehr y Ladefoged, 1988). Para ésto, se utilizaron los programas estadísticos STATISTICA 5,0 y SIGMASTAT 2,0, en una computadora Micron PC. Los resultados se expresan como Promedio  $\pm$  DE.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los estudios en modelos animales muestran que muchos retrovirus inducen inmunosupresión (Letvin, 1992), tal como ocurre con el HIV en humanos (Bendinelli *et al.*, 1985; Egberink y Horzinek, 1992).

El BLV es un oncovirus transformante desprovisto de oncogenes, que se integra al azar en el genoma del hospedero (Deschamps *et al.*, 1981; Kettmann *et al.*, 1994; Keefe *et al.*, 1997).

Existe evidencia de alteraciones en la función de monocitos/macrófagos (Werling *et al.*, 1998), incremento de la blastogénesis (Jacobs *et al.*, 1981; Thorn *et al.*, 1981) y de inmunosupresión inducida por BLV en animales infectados con este virus (Weiland y Straub, 1976; Takashima y Olson, 1980; Onuma *et al.*, 1990).

Cultivos de BLV *in vitro* han sido realizados en linfocitos B (Miller *et al.*, 1969) y linfocitos T de bovinos (Stott *et al.*, 1991), y en PBMC de oveja (Lagarias y Radke, 1989) durante períodos cortos de tiempo. Además, ha sido establecida una línea de células de riñón fetal de oveja (FLK) productiva y permanentemente infectada con BLV (Van Der Maaten y Miller, 1976).

Por otro lado, la infección experimental con BIV se ha realizado con éxito en bovinos (Whetstone *et al.*, 1990; Munro *et al.*, 1998), ovejas (Whetstone *et al.*, 1991; Jacobs *et al.*, 1994), conejos (Van Der Maaten *et al.*, 1972; Pifat *et al.*, 1992) y cabras (Van Der Maaten *et al.*, 1990; Whetstone *et al.*, 1991).

El BIV puede replicarse *in vitro* en células tipo fibroblasto y causar efectos citopáticos tales como la formación de sincicios y muerte celular (Zhang *et al.*, 1997). La infección productiva, se ha logrado en cultivos primarios de bazo, pulmón, cerebro, testículos, timo y riñón de embriones bovinos (Gonda *et al.*, 1987); así como también, en células de timo

fetal canino (Cf2Th) y epitelio embrionario de conejo (EREp) (Gonda *et al.*, 1990; Gonda, 1992; Zhang *et al.*, 1997).

#### **Efecto de BLV y BIV sobre la proliferación de linfocitos humanos:**

Concentraciones apropiadas de un mitógeno como PHA-M, provocan la proliferación de linfocitos en cultivos de PBMC (Kidd y Radke, 1996; Lijnen *et al.*, 1997). De allí que la PHA-M sea utilizada en el estudio de la capacidad de proliferación de linfocitos *in vitro*, y del efecto de diferentes agentes (e.g. virus) sobre la linfoproliferación (Bonilla *et al.*, 1993; Kidd y Radke, 1996; Lijnen *et al.*, 1997; Dupuy y Bonilla, 1999); lo que proporciona, en parte, una medida del funcionamiento del Sistema Inmune.

Diversas investigaciones han contribuido al mejor entendimiento de los mecanismos involucrados en la patogénesis de BLV en bovinos y otros modelos animales (Graves y Jones, 1981; Lagarias y Radke, 1989; Stott *et al.*, 1991; Orlik y Splitter, 1996; Pyeon y Splitter, 1998). Sin embargo, ninguna de estas investigaciones ha mostrado que BLV causa algún efecto sobre linfocitos humanos. Nuestros datos son consistentes con tal aseveración, ya que en los cultivos de PBMC humana no hubo variación significativa en el porcentaje de estimulación de los linfocitos, cuando se agregó sobrenadante de células FLK infectadas con BLV ( $p > 0,05$ ) (Figura 1).

Por otro lado, existen reportes que sugieren que BIV puede inducir inmunosupresión en bovinos (Van Der Maaten *et al.*, 1972; Carpenter *et al.*, 1992; Flaming *et al.*, 1993; Whetstone *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 1997; Dupuy y Bonilla, 1999). En contraste, no se ha descrito que BIV pueda causar inmunosupresión en humanos.

En este sentido, nuestros resultados indican que en los cultivos de PBMC no hubo variación significativa de la respuesta de linfocitos humanos a PHA-M, cuando se agregó sobrenadante de células Cf2Th infectadas con BIV ( $p > 0,05$ ) (Figura 2).

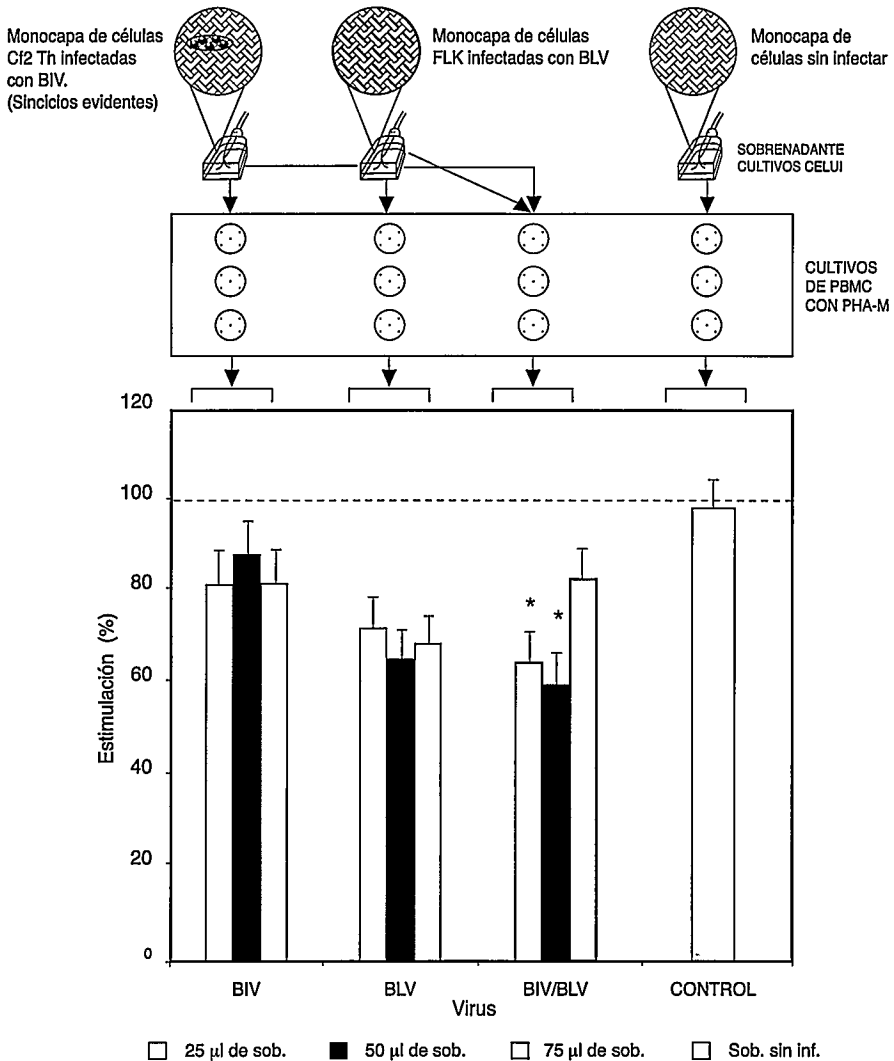
Entre tanto, los cultivos de PBMC de los voluntarios 1-5 y 7 mostraron una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) de los valores de absorbancia y, por ende, de la respuesta linfoproliferativa, cuando fueron cultivados con 75  $\mu$ l de sobrenadante BIV/BLV. Esto se tradujo en una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) del porcentaje de estimulación de los linfocitos cultivados con BIV/BLV, con respecto a los controles cultivados sin virus ( $p > 0,05$ ) (Figuras 1 y 2).



El hecho de que la disminución del porcentaje de estimulación de linfocitos humanos sólo fuera significativa cuando las PBMC fueron cultivadas con BIV/BLV ( $p < 0,05$ ), sugiere que la disminución de la respuesta proliferativa de linfocitos humanos puede deberse a que *in vitro* BLV y BIV coactúan sobre los linfocitos humanos, ya que cuando las PBMC humanas fueron cultivadas con BLV o con BIV, la disminución de la linfoproliferación no fue significativa ( $p > 0,05$ ).

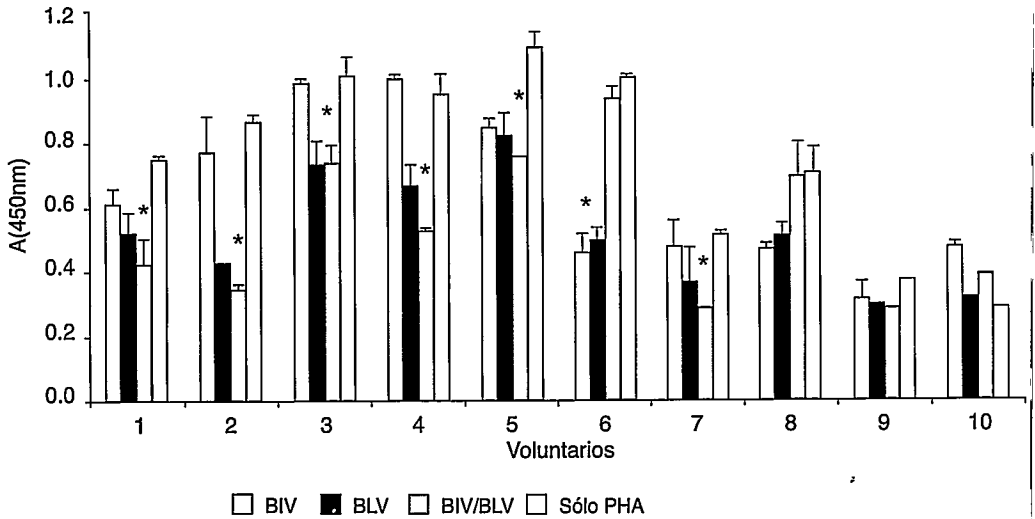
**Figura 1.**

Efecto *in vitro* de BIV y BLV sobre el porcentaje de estimulación de linfocitos humanos, de 10 voluntarios, estimulados con PHA-M y cultivados con sobrenadante infectado o sin infectar. Promedio  $\pm$  DE. Nivel de significancia \*  $p < 0,05$ , con respecto al control.



**Figura 2.**

Respuesta a PHA-M (10µg/ml de los linfocitos de 10 voluntarios ( $A_{(450nm)}$ ). Cultivos con 75 µl de sobrenadante infectado con BIV y/ BLV (experimentales). Cultivos de linfocitos sólo con PHA-M (controles). Diferencias significativas \* $p < 0,05$ . Los individuos 2, 4 y 8 son mujeres, los restantes son hombres.



El efecto de BIV/BLV sobre linfocitos humanos *in vitro* evoca los resultados reportados por Hidalgo y Bonilla (1996), en el sentido de que linfocitos de bovinos naturalmente infectados por BIV/BLV también muestran una reducida respuesta a mitógenos. No se descarta la posibilidad de que en ambos casos, los mecanismos de acción combinada de BIV y BLV puedan compartir algunas semejanzas. Es posible que virus inocuos por sí solos para el hombre puedan producir efectos nocivos, al menos *in vitro*, al actuar en conjunto con otros virus.

Los linfocitos de cuatro de los siete hombres (57,1%) y de dos de las tres mujeres (66,7%), incluidos en este estudio, disminuyeron su respuesta a PHA-M al ser cultivados con BIV/BLV (Figura 2). En consecuencia, podemos señalar que nuestro estudio no arrojó datos que indiquen una relación entre el sexo de los voluntarios que donaron las muestras de sangre y el efecto *in vitro* de BLV y BIV sobre linfocitos.

El estudio *in vivo* e *in vitro* de los retrovirus, tanto en animales como en humanos, contribuye a la obtención de modelos experimentales que permiten el mejor entendimiento de la Biología de los retrovirus.

El conocimiento en detalle de la Biología de BLV y BIV puede ayudar a responder algunas de las interrogantes referentes a la patogénesis de otros virus que sí afectan al hombre, como el Virus de Inmunodeficiencia Hu-

mana (VIH) y el Virus Linfotrópico de Células T Humano (HTLV), pues éstos se encuentran biológica, genética y molecularmente emparentados con BIV y BLV.

## CONCLUSIÓN

Sobrenadante con BIV/BLV disminuye la respuesta proliferativa de linfocitos humanos *in vitro*.

Los resultados obtenidos en este estudio deben ser analizados con especial cuidado, toda vez que no existen reportes de que BLV o BIV inducen alguna patología en el ser humano.

## SUMMARY

### ***In vitro* EFFECT OF BOVINE LEUKEMIA VIRUS (BLV) AND BOVINE IMMUNODEFICIENCY-LIKE VIRUS (BIV) ON PROLIFERATIVE RESPONSE OF HUMAN LYMPHOCYTES**

Retroviruses constitute a large family of RNA viruses, which has been involved in a wide spectrum of pathological disorders, as much in man as in animals.

This work was carried out to study, with a colorimetric technique that uses a tetrazolium salt, 2,3 - bis (2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl) -5-(phenylamino-carbonyl) - 2H - tetrazolium hydroxide (XTT), *in vitro* effect of BLV and BIV on human lymphocytes response to mitogen phytohemagglutinin-M (PHA-M, 10 µg/ mL), in cultures of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from humans.

Lymphocytes cultured with PHA-M and BLV- or BIV-supernatants showed a not significant reduction on the proliferation response (Mann-Whitney,  $p > 0,05$ ). However, lymphocytes of four of seven men (57,1%) and two of three women (66,7%) showed a significant reduction on stimulation percentage (Mann-Whitney,  $p < 0,05$ ) when PBMC were cultured with PHA-M and BIV/BLV-supernatant. This data suggest that *in vitro* combined effect of BLV y BIV, decrease proliferative response to mitogen. Relation between sex of volunteers and *in vitro* effect of BLV and BIV on lymphocytes was not showed.

This results should be analyzed with special caution, since it has not been reported that BLV or BIV induce pathology in humans.

## KEYWORDS

Leocosis bovine virus, bovine immunodeficiency virus, human lymphocytes, *in vitro* effect.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARRÉ-SINOUSI, F., CHERMANN, J.C., REY, F., NUGEYRE, M.T., CHAMARET, S., GRUEST, J., DAUGUET, C. y AXLER-BLIN, C. 1983. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). **Science**, 220, 868-871.

BENDINELLI, M., MATTEUCCI, D. y FRIEDMAN, H. 1985. Retrovirus induced acquired immunodeficiencies. **Adv. Can. Res.**, 45, 125-181.

BLAEHR, H. y LADEFOGED, J. 1988. Mitogen-induced lymphocyte transformation in four different serum-free media. **J. Immunol. Meth.**, 111, 125-129.

BONILLA, J.A., MESÉN, M.G. y CARTÍN, W. 1993. Modificación de un método colorimétrico que usa XTT, para la determinación de linfoproliferación. **Rev. Cost. Cienc. Med.**, 14 (1,2), 25-31.

BÖYUM, A. 1968. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. **Scand. J. Clin. Lab. Invest.**, 21(suppl. B9), 1-114.

CARPENTER, S., MILLER, L.D., ALEXANDERSEN, S., WHETSTONE, C.A., VAN DER MAATEN, M.J., VIUFF, B., WANNEMUEHLER, Y., MILLER, J.M. y ROTH, J.A. 1992. Characterization of early pathogenic effects following experimental infection of calves with bovine immunodeficiency-like virus. **J. Virol.**, 66, 1074-1083.

DEQUIEDT, F., HANON, E., KERKHOFS, P., PASTORET, P.P., PORTETELLE, D., BURNY, A., KETTMANN, R. y WILLEMS, L. 1997. Both wild-type and strongly attenuated bovine leukemia viruses protect peripheral blood mononuclear cells from apoptosis. **J. Virol.**, 71(1), 630-639.

DESCHAMPS, J., KETTMANN, R. y BURNY, A. 1981. Experiments with cloned complete tumor-derived bovine leukemia virus information prove that the virus is totally exogenous to its animal species. **J. Virol.**, 40, 605-609.

DUPUY L., O.A. y BONILLA V., J.A. 1999. Incremento de la proliferación *in vitro* de linfocitos bovinos natural y experimentalmente infectados con el virus de inmunodeficiencia bovina (BIV). **Scientia** (Panamá), 14(1), 77-95.

EGBERINK, H. y HORZINEK, M.C. 1992. Animal immunodeficiency viruses. **Vet. Microbiol.**, 33, 311-331.

FLAMING, K., VAN DER MAATEN, M.J., WHETSTONE, C.A., CARPENTER, S., FRANK, D. y ROTH, J.A. 1993. Effect of bovine immunodeficiency-like virus infection on immune function in experimentally infected cattle. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, 36,91-105.

GONDA, M.A., BRAUN, M.J., CARTER, S.G., KOST, T.A., BESS Jr., J.W., ARTHUR, L.O. y VAN DER MAATEN, M.J. 1987. Characterization and molecular cloning of abovine Lentivirus related to human immunodeficiency virus. **Nature**, 330, 388-391.

GONDA, M.A., OBERSTE, M.S., GARVEY, K.J., PALLANSCH, L.A., BATTLES, J.K., PIFAT, D.Y., BESS Jr., J.W. y NAGASHIMA, K. 1990. Development of the bovine immunodeficiency-like virus as a model of lentivirus disease. **Develop. Biol. Standard**, 72, 97-110.

GONDA, M.A. 1992. Bovine immunodeficiency virus. **AIDS**, 6, 759-776.

GRAVES, D.C. y JONES, L.V. 1981. Early syncytium formation by bovine leukemia virus. **J. Virol.**, 38, 1055-1063.

HIDALGO, G. y BONILLA, J.A. 1996. Lymphoproliferation assays in cattle naturally infected with bovine leukaemia virus (BLV) and bovine immunodeficiency-like virus (BIV). **J. Vet. Med.**, B 43, 325-332.

JACOBS, R.M., VALLI, V.E.O., WILKIE, B.N. y HOLLINSHEAD, C.A. 1981. Partial purification of a common antigen in bovine lymphoma and its use in a lymphocyte blastogenesis assay. **Cancer Res.**, 41, 3000-3004.

JACOBS, R.M., SMITH, H.E., WHETSTONE, C.A., SUAREZ, D.L., JEFFERSON, B. y VALLI, V.E.O. 1994. Haematological and lymphocyte subset analyses in sheep inoculated with bovine immunodeficiency-like virus. **Veterinary Research Communications**, 18, 471-482.

KALVATCHEV, Z., WALDER, R., PEREZ, F., GARZARO, D. y BARRIOS, M. 1998. Infection of rabbits with R29 strain of bovine immunodeficiency virus: virulence, immunosuppression, and progressive mesenteric lymphadenopathy. **Viral Immunol.**, 11(3), 159-166.

KEEFE, R.G., FERRICK, D.A. y STOTT, J.L. 1997. Cytokine transcription in lymph nodes of cattle in different stages of bovine leukemia virus infection. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, 59(3-4), 271-283.

KERKHOFS, P., ADAM, E., DROOGMANS, L., PORTETELLE, D., MAMMERICKX, M., BURNY, A., KETTMANN, R. y WILLEMS, L. 1996. Cellular pathways involved in the ex vivo expression of bovine leukemia virus. **J. Virol.**, 70(4), 2170-2177.

KETTMANN, R., BURNY, A., CALLEBAUT, I., DROOGMANS, L., MAMMERICKX, M., WILLEMS, L. y PORTETELLE, D. 1994. Bovine leukemia virus. En: **The Retroviridae**. Ed: J:A: Levy. Vol. 3, p. 39-81. Nueva York: Plenum Press.

KIDD, L.C. y RADKE, K. 1996. Lymphocyte activators elicit bovine leukemia virus expression differently as asymptomatic infection progresses. **Virology**, 217, 167-177.

LAGARIAS, D. y RADKE, K. 1989. Transcriptional activation of bovine leukemia virus in blood cells from experimentally infected asymptomatic sheep with latent infection. **J. Virol.**, 63, 2099-2107.

LETVIN, N.L. 1992. Animal models for the study of human immunodeficiency virus infections. **Curr. Opin. Immunol.**, 4, 481-485.

LIJNEN, P., SAAVEDRA, A. y PETROV, V. 1997. *in vitro* proliferative response of human peripheral blood mononuclear cells to concanavalin A. **Clinica Chimica Acta**, 264, 91-101.

MILLER, J.M., MILLER, L.D., OLSON, C. y GILLETE, K.G. 1969. Virus-like particles in phyto-hemagglutinin-stimulated lymphocyte culture with reference to bovine lymphosarcoma. **J. Natl. Cancer Inst.**, 43, 1297-1305.

MOSMANN, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods**, 65, 55-63.

MUNRO, R., LYSONS, R., VENABLES, C., HORIZAN, M., JEFFREY, M. y DAWSON, M. 1998. Lymphadenopathy and non-suppurative meningo-encephalitis in calves experimentally infected with bovine immunodeficiency-like virus (FL112). **J. Comp. Path.**, 119, 121-134.

MURAKAMI, K., OKADA, K., IKAWA, Y. y AIDA, Y. 1994. Bovine leukemia virus induces CD5- B cell lymphoma in sheep despite temporarily increasing CD5+ B cells in asymptomatic stage. **Virology**, 202, 458-465.

ONUMA, M., WADA, M., YASUTOMI, M., YAMAMOTO, M., OKADA, H.M. y KAWAKAMI, Y. 1990. Suppression of immunological responses in rabbits experimentally infected with bovine leukemia virus. **Vet. Microbiol.**, 25, 131-141.

ORLIK, O. y SPLITTER, G.A. 1996. Progression to persistent lymphocytosis and tumor development in bovine leukemia virus (BLV)-infected cattle correlates with impaired proliferation of CD4+ T cells in response to *gag*-and *env*-encoded BLV proteins. **J. Virol.**, 70(11), 7584-7593.

PAULL, K.D., SHOEMAKER, R.H., BOYD, M.R., PARSONS, J.L., RISBOOD, P.A., BARBERA, W.A., SHARMA, M.N., BAKER, D., HAND, E., SCUDIERO, D.A., MONKS, A. y GROTE, M. 1988. The synthesis of XTT: a new tetrazolium reagent bioreducible to a water-soluble formazan. **J. Heterocyclic Chem.**, 25, 911-914.

PIFAT, D.Y., ENNIS, W.H., WARD, J.M., OBERSTE, M.S. y GONDA, M.A. 1992. Persistent infection of rabbits with bovine immunodeficiency-like virus. **J. Virol.**, 66, 4518-4524.

POIESZ, B.J., RUSCETTI, F.W., GAZDAR, A.F., BUNN, P.A., MINNA, J.D., GALLO, R.C. 1980. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh cultured lymphocytes from a patient with cutaneous T cell lymphoma. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 77, 7415-7419.

PYEON, D. y SPLITTER, G.A. 1998. Interleukin-12 p40 mRNA expression in bovine leukemia virus-infected animals: increase in alymphocytosis but decrease in persistent lymphocytosis. **J. Virol.**, 72(8), 6917-6921.

SCUDIERO, D.A., SHOEMAKER, R.H., PAULL, K.D., MONKS, A., TIERNEY, S., NOFZIGER, T.H., CURRENS, M.J., SENIFF, D. y

BOYD, M.R. 1988. Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. **Cancer Research**, 48, 4827-4833.

SOKAL, R.R. y ROHLF, F.J. 1979. **Biometría**. 1ª Edición. Madrid: H. Blume Ediciones. 832 pp.

STEEL, R.G.D. y TORRIE, J.H. 1985. **Bioestadística: Principios y Procedimientos**. 1ª Edición. Bogotá: McGraw-Hill Ediciones. 622 pp.

STOTT, M.L., THURMOND, M.C., DUNN, S.J., OSBURN, B.I. y STOTT, J.L. 1991. Integrated bovine leukosis proviral DNA in T helper and T cytotoxic/suppressor lymphocytes. **Journal of General Virology**, 72, 307-315.

TAKASHIMA, I. y OLSON, C. 1980. Effects of mitogens and anti-bovine leukosis virus sera on DNA synthesis of lymphocytes from cattle. **Europ. J. Cancer**, 16, 639-645.

THORN, R.M., GUPTA, P., KENYON, S.J. y FERRER, J.F. 1981. Evidence that the spontaneous blastogenesis of lymphocytes from bovine leukemia virus infected cattle is viralantigen specific. **Infec. Immun.**, 34, 84-89.

VAN DER MAATEN, M.J., BOOTHE, A.D. y SEGER, C.L. 1972. Isolation of a virus from cattle with persistent lymphocytosis. **J. Natl. Cancer Inst.**, 49, 1649-1657.

VAN DER MAATEN, M. y MILLER, J. 1976. Replication of bovine leukemia virus in mono-layer cell culture. **Bibl. Haematol.**, 43, 360.

VAN DER MAATEN, M.J., WHETSTONE, C.A., KHRAMTSOV, V.V. y MILLER, J. M. 1990. Experimentally-induced infections with bovine immunodeficiency-like virus, a bovine lentivirus. **Develop. Biol. Standard**, 72, 91-95.

WEILAND, F. y STRAUB, O.C. 1976. Differences in the *in vitro* response of lymphocytes from leukotic and normal cattle to Concanavalin A. **Res. Vet. Sci.**, 20, 340-341.

WERLING, D., HOWARD, C.J., NIEDERER, E., ESTRAUB, O.C., SAALMULLER, A. y LANGHANS, W. 1998. Analysis of the phenotype and phagocytic activity of monocytes/macrophages from cattle



infected with the bovine leukaemia virus. **Vet. Immunol. Immunopatol.**, 62(3), 185-195.

WHETSTONE, C.A., VAN DER MAATEN, M.J. y BLACK, J.W. 1990. Humoral immune response to the bovine immunodeficiency-like virus in experimentally and naturally infected cattle. **J. Virol.**, 64(7), 3557-3561.

WHETSTONE, C.A., VAN DER MAATEN, M.J. y MILLER, J.M. 1991. A western blot assay for the detection of antibodies to bovine immunodeficiency-like virus in experimentally inoculated cattle, sheep, and goats. **Arch. Virol.**, 116, 119-131.

WHETSTONE, C.A., SUAREZ, D.L., MILLER, J.M., PESCH, B.A. y HARP, J.A. 1997. Bovine lentivirus induces early transient B-cell proliferation in experimentally inoculated cattle and appears to be pantropic. **J. Virol.**, 71(1), 640-644.

WILLEMS, L., DANGOISSE, O., DEQUIEDT, F., GATOT, J.S., KERKHOFS, P., LEFEBVRE, L., MEREZAK, C., TWIZERE, J.C., BURNY, A. y KETTMANN, R. 1999. A wolf in sheep's clothing. **J. Acquired Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.**, 20(4), A7.

ZHANG, S., TROYER, D.L., KAPIL, S., ZHENG, L., KENNEDY, G., WEISS, M., XUE, W., WOOD, C. y MINOCHA, H.C. 1997. Detection of proviral DNA of bovine immunodeficiency virus in bovine tissues by polymerase chain reaction (PCR) and PCR *in situ* hybridization. **Virology**, 236, 249-257.

#### **AGRADECIMIENTO**

Agradecemos a los voluntarios que donaron gentilmente muestras de sangre para la realización de este estudio. Además, se agradece a los Drs. J. F. Ferrer y M. Gonda por la donación de la línea celular FLK y Cf2Th respectivamente. A la Dra. G. Dolz, Departamento de Virología y Clínica de la Escuela de Veterinaria, Universidad Nacional, y a la Dra. S. Silva (CIBCM) por su valiosa colaboración en la realización de esta investigación.

Este estudio fue financiado parcialmente por el Servicio Alemán de Intercambio Académico (DAAD) y la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica.

FÍSICA

6

## ANÁLISIS DE LAS PROPIEDADES FERRIMAGNÉTICAS DE VESTIGIOS ARQUEOLÓGICOS EN PROSPECCIÓN GEOFÍSICA

ALEXIS MOJICA <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigaciones con Técnicas Nucleares,  
Facultad de Ciencias Naturales Exactas y Tecnología,  
Universidad de Panamá.

<sup>2</sup> Instituto de Geociencias,  
Universidad de Panamá.

### RESUMEN

En este trabajo se describe una de las aplicaciones de la Geofísica, nos referimos a la detección arqueológica. En especial se analiza la distribución espacial de un parámetro físico ligado a las propiedades magnéticas de las rocas, aludimos a la *susceptibilidad magnética* ( $\chi_m$ ) de una muestra de subsuelo. El parámetro antedicho expresa, de manera general, el grado de magnetización de una roca, es decir, la razón entre el campo externo aplicado sobre una muestra, y la magnetización de ésta. El empleo de prototipos especiales, destinados a la medida de la *susceptibilidad magnética*, conlleva a la puesta en marcha de circuitos electrónicos simples (puentes). Gracias a la utilización de dichos prototipos, fue posible realizar un estudio granulométrico de las muestras, seguido de un análisis cartográfico en un sitio arqueológico de la Ciudad de Rom en el suroeste de Francia, con el objeto de reconstruir un escenario sobre la organización, a nivel del subsuelo, de ciertos artefactos empleados por el hombre a inicios del primer siglo, después de nuestra era.

### PALABRAS CLAVES

Campo magnético, cartografía, granulometría, magnetita, magnetización, prospección geofísica, sustancia ferrimagnética, susceptibilidad magnética.

## INTRODUCCIÓN

El siguiente trabajo centra su atención hacia el importante papel que juega la aplicación de algunos métodos de la Geofísica en la detección arqueológica; nos referimos a la Arqueogeofísica. Recientemente, la Geofísica se ha convertido en una herramienta útil o una nueva alternativa, no destructiva, para el estudio del efecto del hombre sobre el subsuelo en el pasado. Más específicamente, nos referimos al estudio de las propiedades magnéticas de elementos dispersos en el subsuelo y que fueron el resultado de actividades metalúrgicas llevadas a cabo por el hombre en épocas antiguas, más concretamente, en un importante sitio arqueológico ubicado en la región suroeste de Francia.

Gracias a la existencia de dos tipos de magnetización (*inducida y remanente*) es posible detectar dos clases de anomalías magnéticas: la primera está ligada a la presencia de un campo magnético externo y a la susceptibilidad magnética de los materiales que se encuentran contenidos en el subsuelo. La segunda está asociada al fenómeno de remanencia (magnetización residual que permanece en la roca y es independiente del campo magnético aplicado).

Un tratamiento llevado a cabo, en términos de granulometría y estadística de los valores correspondientes a la susceptibilidad magnética de las muestras del subsuelo, nos ha permitido tener un control paramétrico sobre la ubicación de algunos vestigios arqueológicos, ofreciendo a los investigadores valiosa información sobre la naturaleza de los mismos.

## MARCO TEÓRICO

La comprensión del efecto del hombre sobre el magnetismo del suelo permite la definición de nuevas herramientas de prospección de sitios arqueológicos. Las variaciones espaciales del campo geomagnético o, en otras palabras, *las anomalías magnéticas* son provocadas por las variaciones de la cantidad de materiales magnéticos distribuidos en el suelo, o por los objetos que tienen cierta cantidad de hierro.

### La naturaleza del suelo:

El suelo constituye un medio extremadamente complejo, que puede ser analizado de diferentes maneras: geológicamente, como el producto de la erosión de las rocas por las condiciones climáticas; en Ingeniería Civil,

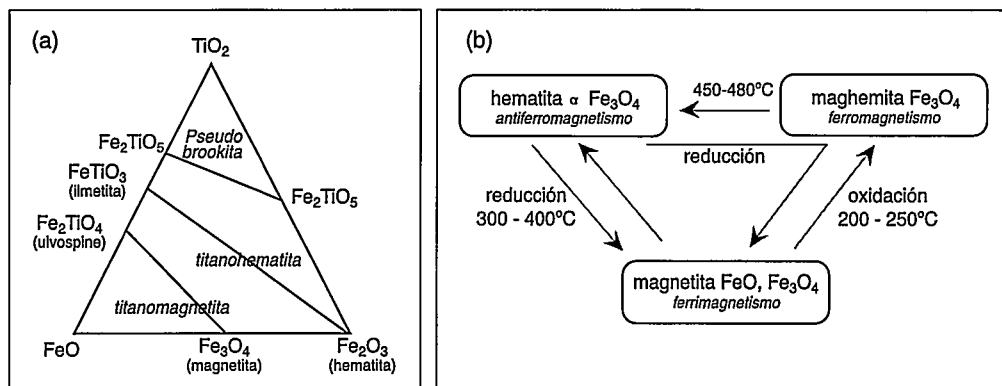
como el soporte de estructuras; en la Agricultura, como el medio soporte de la vegetación, y desde el punto de vista de la Arqueología, como la respuesta a la acción del hombre en el pasado. Su evolución depende de procesos químicos, fraccionamientos físicos, de transporte y sedimentación, y de concentración. El primero modifica los elementos magnéticos y el tránsito entre las diferentes formas de magnetismo. El segundo proceso influye sobre las dimensiones de los granos que forman el suelo y, por ende, sobre sus propiedades magnéticas.

El tercer proceso puede tener un efecto importante, a pesar de que no ejerce modificaciones en la composición química de las partículas y de las dimensiones de los dominios magnéticos.

En la práctica, los óxidos magnéticos son los principales responsables del magnetismo observado. Los minerales magnéticos dominantes están compuestos de la serie ferrimagnética de las titanomagnetitas (Figura 1).

**Figura 1.**

(a) Serie ferrimagnética (titanomagnetitas), las cuales constituyen los minerales magnéticos más dominantes. (b) Formación de la maghemita a través de procesos químicos.



### Magnetización de la materia y el campo magnetizante:

La carga puntual aislada en *electricidad* constituye la estructura más simple. Al colocar dos cargas puntuales de signo opuesto muy cerca una de la otra, podemos definir un vector llamado *momento dipolar eléctrico*.

Diferencialmente, el *magnetismo* se construye a partir de un vector llamado *momento dipolar magnético*. Es decir, que no es posible separar éste último en dos puntos como es el caso de las cargas eléctricas, en otras palabras, no es posible hablar de monopolos magnéticos. Si dividimos un imán de barra en dos o más partes, cada fragmento se convierte a su vez en un dipolo magnético, habiendo siempre números iguales de polos norte y sur asociados en pareja. Si el imán se sigue dividiendo hasta llegar a los electrones, protones y neutrones que forman los átomos, se encuentra que dichas partículas elementales constituyen también dipolos magnéticos, denotados por  $\vec{p}_m$

Los fenómenos magnéticos de las sustancias magnéticas se deben a la existencia de los dipolos magnéticos atómicos presentes en la materia. En realidad, los electrones no apareados en las órbitas atómicas que no poseen simetría esférica, dan origen a los dipolos magnéticos; igual ocurre con el movimiento intrínseco de los electrones (espín) y el de los núcleos atómicos.

Si existen  $\tau$  dipolos magnéticos por unidad de volumen, y consideramos un volumen  $\Delta V$  de una muestra arqueológica, entonces el momento dipolar magnético corresponde a la suma vectorial dada por:

$$\vec{P}_{mT} = \sum_{i=1}^{\tau} \vec{P}_{mi}$$

Muchas sustancias, que no presentan momento magnético permanente, pueden ser magnetizadas o polarizadas magnéticamente ante la presencia de un campo magnético externo. Dicho campo externo produce sobre los electrones un movimiento de precesión o de rotación en torno a la dirección del campo magnético local, anotamos entonces que la sustancia muestra una magnetización definida como:

$$\vec{M} = \eta \vec{P}_m \tag{1}$$

donde  $\eta = N/\Delta V$  ( $N$  representa el número de átomos o moléculas). Si tomamos cierta muestra de subsuelo (con el fin de estudiar sus propiedades magnéticas) por ejemplo, y lo introducimos en un solenoide por donde circula corriente eléctrica, entonces el volumen de la muestra se magne-

tizará gracias al campo magnético creado por dicho solenoide. Como producto de este análisis, se obtiene una corriente de magnetización en la superficie del material que se estudia, y por ende, es posible definir una densidad de corriente de magnetización o densidad de corriente amperiana, representada por el vector  $\vec{J}_m$ . Dicha densidad se relaciona con el vector de magnetización definido en la expresión (1) como:

$$\vec{J}_m = \nabla \times \vec{M} \quad (2)$$

Esta densidad de corriente es una fuente de campo magnético y puede ser expresado en términos de la ley de Ampère como sigue:

$$\nabla \times \frac{1}{\mu_0} \vec{B} = \vec{J}_m + \vec{J}_f \quad \nabla \times \frac{1}{\mu_0} \vec{B} = \nabla \times \vec{M} + \vec{J}_f \quad (3)$$

en donde el vector  $\vec{B}$  corresponde al campo magnético resultante, producto de la suma de la corriente de magnetización y la corriente que circula en el solenoide. El vector  $\vec{J}_f$  corresponde a la corriente libre debido al movimiento de las cargas libres, como contraste a  $\vec{J}_m$ , el cual es el producto del movimiento de las cargas ligadas en el material. El módulo del vector  $\vec{B}$  está dado por:

$$B = \mu_0 (ni + M) \quad (4)$$

donde  $\mu_0$  corresponde a la permeabilidad magnética del vacío,  $n$  el número de espiras del solenoide por unidad de longitud e  $i$ , la corriente que circula por dicho solenoide. De la expresión (4), se hace necesaria la introducción de un campo vectorial conocido como *campo magnetizante*  $\vec{H}$ , el cual queda representado por:

$$\vec{B} = \mu_0 (\vec{H} + \vec{M}) \quad (5)$$

La combinación de las expresiones (3) y (5) nos permite definir la expresión siguiente:

$$\nabla \times \frac{1}{\mu_0} [\mu_0 (\vec{H} + \vec{M})] = \nabla \times \vec{H} + \nabla \times \vec{M} = \nabla \times \vec{M} + \vec{J}_f$$

donde:

$$\nabla \times \vec{H} + \vec{J}_f \quad (6)$$

Esta expresión denota la relación que existe entre el campo magnetizante y la densidad de corriente debida al movimiento de las cargas libres.

### La susceptibilidad magnética

La magnetización  $\vec{M}$  diferente de cero aparece solo bajo la acción del campo magnético, con la particularidad de que, si la muestra arqueológica es sometida a campos no muy intensos, dicha magnetización crece linealmente con el campo externo  $\vec{H}$  aplicado, de tal forma que:

$$\vec{M} = \chi_m \vec{H} \quad (7)$$

y a la constante de proporcionalidad de esta expresión se le conoce con el nombre de *susceptibilidad magnética* del material que se analiza. El mismo constituye un factor adimensional. Una relación entre las expresiones (5) y (7) nos conlleva a:

$$\vec{B} = \mu_0 (\vec{H} + \chi_m \vec{H})$$

donde:

$$\vec{B} = \mu_0 (1 + \chi_m) \vec{H}$$

y finalmente:

$$\vec{B} = \mu \vec{H} \quad (8)$$

en donde  $\mu$  representa la permeabilidad de la muestra que se estudia.

En prospección geofísica, es común emplear dispositivos dotados de sistemas de espiras o solenoides capaces de crear campos magnéticos no muy intensos, con el fin de cuantificar la susceptibilidad magnética ( $\chi_m$ )

de la muestra de subsuelo que se desea estudiar, y así de esta manera, llevar a cabo un análisis cartográfico de diferentes muestras (en diferentes puntos o coordenadas) sobre todo el sitio arqueológico de interés.

#### **Fenómeno de remanencia:**

El estudio del campo geomagnético actual revela que las rocas volcánicas y sedimentarias poseen una magnetización remanente, es decir, que existe un campo magnético propio en la muestra, a pesar de la ausencia de un campo magnético externo  $\vec{H}$ . La dirección de magnetización en el interior de la roca es diferente a la dirección del campo geomagnético actual; los objetos arqueológicos que contienen hierro, los ladrillos o depósitos de materiales (que son el resultado de actividades metalúrgicas), poseen una remanencia muy importante.

Es posible, también, identificar diferentes tipos de magnetización remanente; la más importante de todas se conoce con el nombre de *magnetización termoremanente*. Generalmente, la misma es adquirida durante el enfriamiento que sufre el material en presencia de un campo magnético externo. También es posible distinguir la *magnetización remanente isoterma* y la *viscosa*.

#### **Propiedades ferrimagnéticas:**

En la naturaleza, existen sustancias en las cuales la susceptibilidad magnética es pequeña (en el orden de  $10^{-6}$  en el SI) y del mismo orden de magnitud que los materiales paramagnéticos<sup>1</sup>. Sin embargo, dichas sustancias poseen el fenómeno de remanencia, que por supuesto, es más débil con relación a las muestras ferromagnéticas<sup>2</sup>. A este tipo de sustancias se les conoce con el nombre de *ferrimagnéticas*, y se caracterizan, además, por tener una dependencia muy compleja con la temperatura. En las muestras que expresan esta propiedad, los momentos

---

<sup>1</sup> Los materiales paramagnéticos se caracterizan por poseer una susceptibilidad magnética positiva y pequeña, y la misma decrece de manera inversa con la temperatura. La naturaleza positiva de la susceptibilidad magnética indica que los cuerpos se magnetizan en el sentido del campo magnético aplicado.

<sup>2</sup> Los materiales ferromagnéticos adquieren una magnetización paralela al campo magnético aplicado. Esta magnetización es mucho más fuerte que en los materiales paramagnéticos, y además, en los ferromagnéticos, podemos encontrar una magnetización aun en ausencia de un campo magnético externo, característica que también los difiere de las sustancias paramagnéticas.



magnéticos atómicos o iónicos, que se encuentran orientados en un sentido, son completamente diferentes a los que se encuentran orientados en sentido opuesto. Esto da como resultado una magnetización neta, diferente de cero. Todos los materiales que están compuestos por sustancias ferrimagnéticas, incluyendo las muestras arqueológicas, se representan generalmente por una fórmula química del tipo  $MOFe_2O_3$ . En donde M representa: el magnesio, cobalto, níquel, cobre, cadmio, etc. Si representamos a M por el hierro (*Fe*), entonces obtenemos  $Fe_3O_4$  ó magnetita.

## PARTE EXPERIMENTAL

Los dispositivos más simples, que se emplean para llevar a cabo la medición de la susceptibilidad magnética de muestras arqueológicas, se basan en la construcción de puentes eléctricos simples, con dos circuitos integrados y un pequeño conjunto de transistores. Este es el caso del modelo 780, confeccionado primeramente para aplicaciones geológicas, y que emplea un puente AC, con un par de bobinas sensibles que permiten la estabilización de la temperatura y la creación de un campo magnético no muy intenso. El equilibrio del puente puede llevarse a cabo con la ayuda de dos potenciómetros. Dicho prototipo se caracteriza por poseer una resolución de  $1 \times 10^{-6}$ . Por otro lado, la frecuencia de funcionamiento es de 1 110 Hz, y el campo inducido es de 1 Oe. Este fue el prototipo utilizado en el análisis.

Sobre la gran zona arqueológica, se procedió en llevar a cabo un cuadrículado sobre la región de interés, el cual cubría una superficie de (3,50 x 2,50) m. La malla se definió en (0,50 x 0,50) m. Una vez cuadrículada la zona, se procedió a extraer, de cada cuadrícula o unidad, una muestra de subsuelo, la cual sería sometida posteriormente a un análisis geofísico en el laboratorio. Las muestras de subsuelo etiquetadas (de acuerdo a la unidad) fueron sometidas a un proceso de granulometría, es decir, un mecanismo de separación de materiales de la misma muestra, pero de dimensiones diferentes: para granos con dimensiones menores a 0,001 m y para granos que se encontraban entre 0,002 y 0,001 m de dimensión.

Una vez separadas las muestras, se procedió a medir el valor de la susceptibilidad magnética, con la ayuda del prototipo descrito con anterioridad. Cada una de las muestras fue depositada en una botella de polietileno, la cual era colocada en el interior de la bobina creadora del campo magnético a una profundidad óptima, y una vez estabilizado el puente, fue posible realizar la medición de la susceptibilidad magnética. Para cada muestra, se llevó a cabo un análisis estadístico pues fueron cinco las lecturas que se registraron a lo largo de este análisis.

Con los valores promedio de la susceptibilidad magnética y las coordenadas métricas sobre el terreno para cada muestra, fue posible entonces definir una matriz que luego sería procesada por programas especializados de cartografía. De esta manera, se obtuvieron los mapas de pixeles de la susceptibilidad magnética de las muestras de subsuelo (para cada dimensión de las muestras) los cuales revelan, al final del análisis, las variaciones o los contrastes del parámetro físico que se estudia. Estas variaciones espaciales de la susceptibilidad magnética podrán dar a los arqueólogos información valiosa concerniente a los sitios específicos en donde fueron desarrolladas ciertas actividades metalúrgicas en el pasado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La selección de una frecuencia de medida (frecuencia espacial) siempre ha constituido un punto importante en la generación de una matriz o un arreglo de números. Dicho proceso permite al explorador geofísico identificar las variaciones espaciales, no solamente de la susceptibilidad magnética, sino también de otros parámetros físicos del subsuelo. En este marco, el registro de la susceptibilidad magnética, como parámetro principal en este trabajo, debe hacerse sobre la base de una frecuencia de medida bien establecida, es decir, la obtención de la muestra que se desea analizar por cada intervalo espacial dado.

La definición de la susceptibilidad magnética, con sus respectivas coordenadas sobre el sitio arqueológico, permitió la construcción de la matriz, y con esto, un mapa de pixeles de  $\chi_m$  como se había mencionado anteriormente.

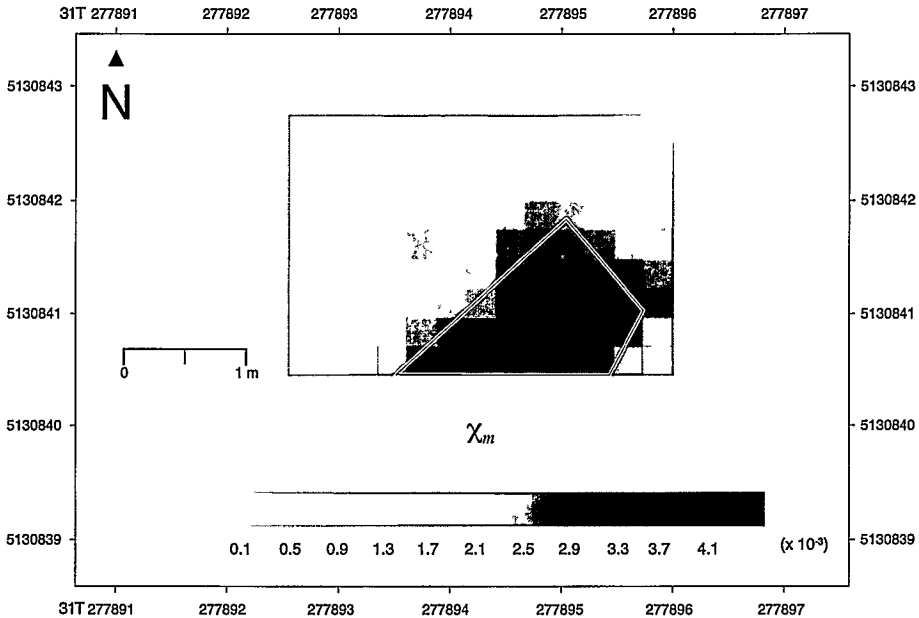
El mapa de la Figura 2 esquematiza el resultado sobre la distribución espacial de  $\chi_m$  del sitio arqueológico de interés, cuyas muestras fueron analizadas con el fin de reconstruir el posible escenario de siglos atrás.

Las dimensiones de las partículas o elementos, que constituyen las muestras en el primer análisis, son inferiores a 0,001 m. De igual manera, se realizó el mismo tipo de análisis midiendo la susceptibilidad magnética de aquellas muestras del sitio arqueológico cuyas dimensiones de los elementos son superiores a 0,001 m e inferiores a 0,002 mm (ver Figura 3). Las altas concentraciones de material ferrimagnético contenidas en las muestras, las cuales se encuentran especificadas por las zonas oscuras en los dos mapas, nos brindan una idea aproximada sobre la posición en donde se desarrollaban las actividades metalúrgicas y la organización de los vestigios arqueológicos (utensilios o herramientas en-

contradas) de la época. Ambos mapas se encuentran posicionados en coordenadas UTM, con un referencial geográfico específico.

**Figura 2.**

Mapa de distribución de la susceptibilidad magnética en el sitio arqueológico estudiado, para elementos con dimensiones menores a 0,001 m.



#### **Análisis granulométrico de los elementos de dimensión inferior a 0,001 m:**

El mapa de la Figura 2 representa la distribución espacial de los datos brutos con un espaciado de interpolación de 0,25 m. Los valores más bajos de la susceptibilidad magnética se encuentran representados con una tonalidad amarilla, y los más altos, en negro. Este mapa revela una anomalía bien definida, la cual se encuentra representada mediante el polígono en rojo; los valores de la susceptibilidad magnética, para este análisis, son superiores a  $3,0 \times 10^{-3}$ .

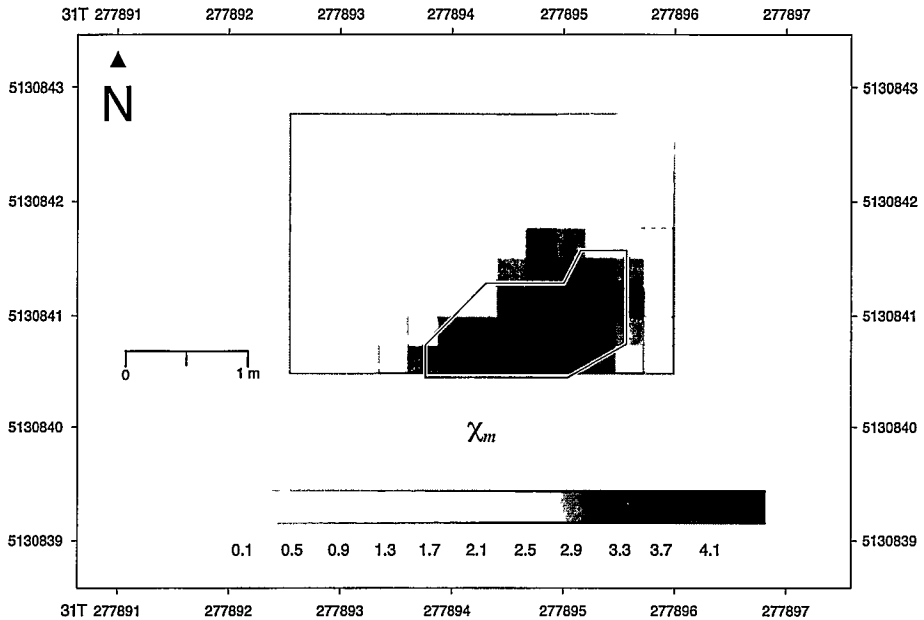
#### **Análisis granulométrico para los elementos de dimensión inferior a 0,002 y superior a 0,001 m:**

Al igual que el mapa de la Figura 3, éste corresponde a la distribución espacial de los datos brutos de la susceptibilidad magnética para la fracción

de las partículas de talla superior a 0,001 e inferior a 0,002 m. En este resultado, se remarcan dos fuertes anomalías (representadas en tonalidades oscuras). Con relación al resultado de la Figura 2, la dispersión de los valores en el espacio es más débil.

**Figura 3.**

Mapa de distribución de la susceptibilidad magnética en el mismo sitio arqueológico para elementos cuyas dimensiones se encontraban entre los 0,002 y 0,001m.



### CONCLUSIONES

Los espectros de la susceptibilidad magnética ( $\chi_m$ ), mostrados en las Figuras 2 y 3, son un típico ejemplo de una de las aplicaciones de la Geofísica a la detección arqueológica. Los órdenes de magnitud de  $\chi_m$  de las muestras analizadas y sus características de remanencia indican que nos encontramos frente a muestras con cierto contenido de material ferrimagnético. Es importante hacer mención sobre el proceso de cartografía (construcción de la matriz y elaboración de los mapas), pues el mismo juega un papel primordial para el explorador geofísico y el arqueólogo en la toma de decisiones para las excavaciones futuras, ya que son las anomalías de este parámetro físico sobre el mapa, las que darán respuesta a la interrogante sobre la presencia o ausencia de vestigios arqueológicos

sobre un sitio de interés. Por otro lado, sobre la base de los resultados obtenidos, es posible ubicar los lugares en donde se desarrollaron actividades metalúrgicas; nos referimos a los espacios encerrados por los polígonos representados en ambos mapas. Desde un punto de vista arqueológico, la anomalía que se encuentra ubicada en la parte inferior central de ambos mapas podría corresponder a un sitio de almacenamiento de utensilios. Pensamos, además, que este mecanismo de identificación de partículas magnéticas podría ser corroborado mediante análisis microscópicos.

## SUMMARY

### ANALYSIS OF THE FERRIMAGNETIC PROPERTIES OF ARCHAEOLOGICAL VESTIGES IN GEOPHYSICAL PROSPECTING

In this work we study the application of Geophysics to the location of certain archaeological vestiges. Particularly, we study the spatial distribution of a physical parameter that is tied to the magnetic property of the rocks; we are referring to the *magnetic susceptibility* of the subsoil, which express, in a general way, the degree of magnetization of a rock (the ratio between the external field applied upon a sample, and its magnetization). The design of special prototype with the use of simple circuit was carried out with the aim of measuring the *magnetic susceptibility*. With the application of this prototypes, it is possible to do a granulometric study of the samples, followed by a cartographic analysis of an archaeological site located in the southwest of France, named Rom with the purpose of reconstructing a scenery upon the organization, to the level of the subsoil, of certain devices employed by man at the beginning of the First Century, A.C.

## KEYWORDS

Magnetic field, cartography, granulometry, magnetite, magnetization, geophysical prospection, ferrimagnetic substance, magnetic susceptibility.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BLOUET, V. 1994. Essais de comparaison de différentes méthodes d'étude archéologique préalable. **Les nouvelles de l'archéologie**, 58(1), 17-19.

DABAS, M., DELÉTANG, H., FERDIÈRE, A., JUNG, C. y ZIMMERMANN, W. 1998. **La Prospection**. Collection Archéologiques. París: Ediciones Errance. 224 pp.

DABAS, M. 1989. **Comportement Magnétique des Sols dans le Domaine Fréquentiel et Temporel (VRM)**. Tesis de Doctorado, Universidad de París VI - Pierre et Marie Curie, Francia. 213 pp.

EYGES, L. 1972. **The Classical Electromagnetic Field**. Londres: Addison - Wesley Publishing Company. 413 pp.

HAYT, W. 1979. **Teoría Electromagnética**. México: McGraw-Hill. 537 pp.

HESSE, A. 1999. Multi-parametric survey for archaeology: how and why, or how and why not? **J Appl Geoph**, 41, 157-168.

KAGANOV, M. y TSUKERNIK, V. 1985. **La Naturaleza del Magnetismo**. Moscú: Editorial Mir. 186 pp.

LE BORGNE, E. 1960. Influence du feu sur les propriétés magnétiques du sol et sur celles du schiste et du granite. **Ann Geophys**, 6(2), 159-195.

PARASNIS, D. 1997. **Principles of Applied Geophysics**. Londres: Ediciones Chapman & Hall. 436 pp.

SCOLLAR, I. 1968. A simple direct reading susceptibility bridge. **Journal of Scientific Instruments**, 2(1), 781 - 782.

SCOLLAR, I., TABBAGH, A., HESSE, A. y HERZOG, I. 1990. **Archaeological Prospecting and Remote Sensing**. Londres: Cambridge University Press. 674 pp.

TELFORD, W.M., GELDART, L.P. y SHERIFF, R.E. 1996. **Applied Geophysics**. Londres: Cambridge University Press. 770 pp.

ZAHN, M. 1979. **Electromagnetic Field Theory: a problem solving approach**. Florida Krieger Publishing Company. 753 pp.

#### **AGRADECIMIENTO**

Deseo agradecer a mi familia por todo el apoyo brindado a lo largo de todos estos años, a los profesores del Departamento de Física de la Universidad de Panamá: M. Lezcano y J. González por su amistad, sugerencias, apoyo y disposición en el trabajo a todo momento. Al Dr. B. Fernández

como director del CITEN, por toda la ayuda brindada durante todos estos años. Al profesor J. Toral, como director del Instituto de Geociencias, consigno mi más profundo agradecimiento por todo el apoyo y la atención prestada para la realización de los diferentes proyectos geofísicos que se han desarrollado y para el futuro. Deseo agradecer, además, a los profesores L. Pastor y M. Dabas, del Laboratorio de Geofísica Aplicada de la Universidad de París VI - Pierre et Marie Curie por los cuestionamientos y sugerencias suministradas a lo largo de este trabajo.



## INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES

### POLÍTICA

El propósito de la Revista **Scientia** es publicar resultados de investigación originales e inéditas, en ciencias básicas y tecnología. La Revista se reserva el derecho de aprobar o rechazar los trabajos presentados a su consideración. Los originales de los trabajos aprobados permanecerán en los archivos del Editor.

Los trabajos aceptados serán publicados bajo el entendimiento de que el material presentado, o parte del mismo, no ha sido publicado previamente, ni tampoco esté siendo considerado para su publicación en otra revista, siendo los autores los únicos responsables por la exactitud y la veracidad de los datos y afirmaciones presentadas, y también por obtener, cuando el caso lo requiera, los permisos necesarios para la publicación de los datos extraídos de trabajos que ya estén en la literatura.

Todos los manuscritos presentados a la consideración de esta Revista, serán evaluados por especialistas que asesoran al Director y Editor, quienes juzgarán el contenido de los mismos, de acuerdo a su excelencia técnica y a las instrucciones editoriales vigentes.

Los nombres de los evaluadores serán mantenidos en estricta reserva; sin embargo, sus comentarios y recomendaciones serán enviados por el Editor a los autores para su debida consideración. Una vez evaluado el trabajo, le será devuelto a los autores junto con

los informes del Editor y los Evaluadores. El Director se reserva el derecho de introducir modificaciones, cuando lo juzgue conveniente.

La Revista publicará cada dos años un suplemento que contendrá los Índices de Materias y de Autores.

Las galeras serán enviadas a los autores, antes de la impresión final, para que hagan las debidas correcciones.

Los artículos deben estar redactados en idioma español, portugués o inglés. Los artículos redactados en otros idiomas deberán ser consultados con el Consejo Editorial.

Para todas las unidades utilizadas en el trabajo se adoptará el Sistema Internacional de Unidades de acuerdo con el informe publicado por la Organización Mundial de la Salud: **Las Unidades SI para las Profesiones de la Salud**, 1980.

Se espera que los artículos presentados contengan información novedosa y que estos representen una contribución substancial al avance de esa área del conocimiento. La Revista también podrá publicar Notas y Comunicaciones Cortas como una vía rápida de divulgación de resultados recientes de marcada relevancia científica, producto de investigación en curso o terminadas; en estos casos, los autores deben escribir sus resultados en forma de párrafos, manteniendo al mínimo el uso



de figuras, cuadros y subtítulos, sin excederse de 1500 palabras o su equivalente. Su aceptación y publicación final quedan a criterio del Director. Se recomienda reducir al máximo las notas de pie de páginas. Estas deben ser designadas con sobrescritos arábigos en el orden en que aparecen en el texto.

## PRESENTACIÓN DE LOS ARTÍCULOS

### CORRESPONDENCIA

Los manuscritos y toda correspondencia deberán ser dirigidos al Director de la Revista **Scientia**, Vicerrectoría de Investigación y Postgrado, Universidad de Panamá, Estafeta Universitaria, Panamá, República de Panamá. Tel. 223-9985 y 264-4242.

### TEXTO

El texto de los trabajos (incluyendo el resumen, las referencias bibliográficas y las notas, así como los cuadros e inscripciones de las figuras) debe ser presentado en triplicado (originales y 2 copias), escritas mediante el procesador de palabras Microsoft Word e impreso a doble espacio, en tinta negra y en papel bond 22 x 28 cm (8-1/2" x 11"). El margen izquierdo debe ser de 4,0 cm (1.2") y el derecho de 2.5 cm (1") y el inferior de 2.5 cm (1"). Los autores deben indicar en el texto o mediante anotaciones al margen, la localización de las figuras, los cuadros, los esquemas, etc.

En la primera página del artículo debe aparecer: el título en mayúsculas centrado seguido del primer nombre, la inicial y el apellido del autor (o autores) debidamente espaciado del título también centrado. Seguidamente del (los) autor(es) debe aparecer la dirección postal completa de la Unidad Académica o institución donde fue realiza-

do el trabajo. De ser posible, suministre el teléfono del autor principal por separado. Si la dirección actual de alguno de los autores fuera diferente de la anterior, indíquese en esta página colocando un número sobrescrito sobre el nombre de ese autor y colocando la dirección en una nota de pie. Se entenderá que el primero de los autores mencionados será a quien se le enviará la correspondencia, a menos que se indique lo contrario. Inmediatamente después de la dirección postal debe aparecer el Resumen en español seguido de un mínimo de palabras o frases-claves para el Índice de Materias.

Los subtítulos principales en el texto (v.g. RESUMEN, INTRODUCCIÓN, etc.) se colocarán en el margen izquierdo en mayúscula.

Cualquier otro subtítulo debe colocarse también al margen izquierdo, pero con sólo la primera letra de cada palabra en mayúscula.

Cada página debe ser enumerada e identificada escribiendo el apellido del autor(es) y el año: (D'Croz, 1998); (v.g. Villarreal, 2 de 10).

Las referencias que se mencionan en el texto deben ir entre paréntesis con el apellido del autor(es) y el año (D'Croz, 1998); Torres, Paredes y Averza (1997); (Díaz *et al.*, colaboradores, 1996).

### ESTRUCTURACIÓN DEL MANUSCRITO

El manuscrito debe estructurarse de la siguiente manera: RESUMEN, PALABRAS O FRASES CLAVES, INTRODUCCIÓN, PARTE EXPERIMENTAL, RESULTADOS y DISCUSIÓN, CONCLUSIÓN, SUMMARY (resumen en inglés), REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS y AGRADECIMIENTO.

La selección del título conlleva una gran responsabilidad ya que debe reflejar en pocas palabras la esencia del trabajo y debe facilitar la recuperación de la información pertinente a través de sistemas computarizados.

### **RESUMEN**

Todo artículo debe contener un resumen de no más de 200 palabras y debe describir, en forma concisa y precisa, el objetivo de la investigación, así como los principales logros y conclusiones. Debe poder leerse y entenderse en forma independiente del texto principal pero podrán citarse figuras, cuadros, etc., del texto. Se debe tener presente que el resumen será la parte más leída de su trabajo.

### **INTRODUCCIÓN**

La introducción debe dejar claro el propósito de la investigación, los antecedentes y su relación con otros trabajos en el mismo campo, sin caer en una revisión exhaustiva de la literatura pertinente.

### **PARTE EXPERIMENTAL**

Esta sección debe contener todos los procedimientos con el detalle suficiente de los pasos críticos que permita que el trabajo pueda ser reproducido por un personal idóneo. Los procedimientos que ya estén en la literatura sólo deben ser citados y descritos, a menos que se hayan modificado substancialmente. Se debe incluir también el detalle de las condiciones experimentales bajo las cuales fueron obtenidos los resultados.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los resultados pueden presentarse en forma de figuras, esquemas o cuadros; sin embargo, los resultados simples se pueden presentar directamente en el

texto. La discusión debe ser concisa y debe orientarse hacia la interpretación de los resultados.

### **CONCLUSIÓN**

Esta sección debe incluir solamente un resumen de las principales conclusiones del trabajo y no debe contener la misma información que ya ha sido presentada en el texto en el resumen.

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Se debe utilizar el sistema de Harvard para las referencias bibliográficas, con el(los) apellido(s) del(los) autor(es) y la fecha de publicación en el texto, y el listado de las referencias debe estar ordenado alfabéticamente, considerando solamente el apellido del primer autor citado para cada referencia.

El título de las revistas debe ser abreviado de acuerdo con algunas de las siguientes referencias: **World List of Scientific Periodical** (4<sup>a</sup> ed.), **World Medical Periodical** (UNESCO, 2<sup>da</sup> ed.) o **Bibliographic Guide for Editors and Authors**. The American Chemical Society (disponible en el Centro de Información y Documentación Científica y Tecnológica de la Vicerrectoría de Investigación y Postgrado). Si la abreviatura de la revista no está listada en ninguna de estas publicaciones, se debe escribir el título completo.

La exactitud de las referencias bibliográficas citadas es de la entera responsabilidad del autor. Los trabajos no publicados pero formalmente aceptados para su publicación deben citarse "en prensa"; de otra forma, cítelos como "resultados no publicados". Las "comunicaciones personales" deben indicarse en el texto e incluir fecha de comunicación y dirección de la persona.

Las referencias bibliográficas deberán aparecer ordenadas de la siguiente forma:

**- Artículos científicos:**

AGUIRRE, R.L., MARTINEZ, I.S. y CALVO, C. 1986. Mecanismos de la acción antiespasmódica intestinal de las flores de *Matricaria chamomilla* L. *Rev. Biol. Trop.*, 27(2), 189-201.

**- Libros:**

BUNGE, M. 1984. **La investigación científica: su estrategia y filosofía.** Colección "Convivium" No. 8. Barcelona: Editorial Ariel, S.A. 544 pp.

HOLMES, W.N. y DONALDSON, E.M. 1969. The body compartments and the distribution of electrolytes. En: **Fish Physiology.** Eds: W.S. Hoar y D. Randall. Vol. 1, p. 1-89. Nueva York: Academic Press.

FARMACOPEA INTERNATIONAL. 1980. 3ª. edición. Vol. I. Ginebra: **Organización Mundial de la Salud.** 56 pp.

HARRIS, J. y DUNCAN, I.S. (Eds.) 1982. **Constantes de disociación de ácidos orgánicos en solución acuosa.** Londres: Butterworth; págs. 234 y 296.

**- Tesis:**

LEON, A.J. 1986. **Estructura Económica de Panamá.** Tesis de Doctorado, Universidad de Londres, Londres. 120 pp.

**- Simposium-Seminario-Conferencia:**

MARINO, I.C. 1984. La problemática de la economía panameña. II Congreso Científico Nacional, 2-4 diciembre. Universidad de Panamá. Resumen No. 28. (*en manuscrito*)

NAVARRO, S.G., VEGA, J. y SERRANO, I. *Resultados no publicados.*

## AGRADECIMIENTO

Seguido de las referencias, puede incluir un párrafo breve de agradecimiento por apoyo económico, técnico o de cualquier otra índole.

## ILUSTRACIONES

Las figuras (un original y dos copias) deben presentarse en su forma final para su reproducción; es decir en tinta china y en papel especial de dibujo de tamaño 22 x 28 cm (8-1/2" x 11"). Cada figura debe estar acompañada de un título una inscripción explicativa. No escriba ni el título ni la inscripción sobre la figura.

Los títulos y las respectivas inscripciones de cada figura deben ser escritos a máquina a doble espacio en hojas separadas en forma de listado. Detrás de cada figura debe aparecer el nombre de los autores, el título del manuscrito, el número y una señal que indique la parte superior de la figura, todo esto escrito tenuemente con lápiz. Las ilustraciones pueden también presentarse en papel brillante de fotografía en blanco y negro. Las fotografías no deben ser menores de 10 x 12 cm (6" x 4"). Cada ilustración (con su título e inscripción debe ser inteligible en forma independiente del texto principal.

## CUADROS

Los cuadros (un original y dos copias) deben ser utilizados solamente para presentar información en forma más efectiva que en el texto. Deben poseer un título bien descriptivo, el cual, junto con los encabezados de las columnas, deben describir su contenido en forma inteligible sin necesidad de hacer referencias al texto principal. La misma información no debe ser reproducida en los cuadros y en las figuras. Se deben numerar en forma consecutiva (usando números arábigos) en el orden en que se citan en el texto. Las notas de pie en los cuadros se deben entrar en letra minúscula y se deben citar en el cuadro como sobrescrito.

**Scientia**

**Revista de Investigación de la Universidad de Panamá**

Para correspondencia, canje o suscripción dirigirse a:

**Centro de Información y Documentación Científica y Tecnológica  
(CIDCYT)**

Vicerrectoría de Investigación y Postgrado, Estafeta Universitaria,  
Universidad de Panamá, Panamá, República de Panamá.

Teléfonos 264-4242; 232-9985; 263-6133 Ext 309 - 310.

Fax (507) 264-4450.

(507) 223-7282.

Correo electrónico: [upvip@ancon.up.ac.pa](mailto:upvip@ancon.up.ac.pa)

Tarifa (Suscripción anual):

Personal en Panamá . . . . .	B/ 8,00
Personal Exterior . . . . .	US\$ 12,00
Institucional América Latina y el Caribe . . . . .	US\$ 16,00
Institucional Resto del Mundo . . . . .	US\$ 20,00

Precio de venta . . . . .B/ 5,00

A las personas o instituciones interesadas en recibir permanentemente la Revista **Scientia**, sírvanse completar el formato presente y junto con el mismo remitan giro o cheque (a nombre de Fundación Universidad de Panamá - Vicerrectoría de Investigación y Postgrado). La tarifa incluye la suscripción anual correspondiente a dos números, incluyendo importe por correo.

Nombre o Institución \_\_\_\_\_

Dirección \_\_\_\_\_

Ciudad \_\_\_\_\_ Zona Postal \_\_\_\_\_

Provincia (o Estado) \_\_\_\_\_ País \_\_\_\_\_