

**DETERMINACION DE LA DOSIS MEDIA  
LETAL (DL 50)  
Y LOS EFECTOS DE LAS RADIACIONES  
GAMMA SOBRE  
*RHODNIUS PROLIXUS* Y *R. NEGLECTUS*  
(HEMIPTERA: REDUVIIDAE)**

Lic. CORINA WENDEHAKE DE JUNCA \*

Lic. GENEVA LUCIANI DE RIVAS

Dr. OCTAVIO E. SOUSA PITTI, A.P.M.C. \*\*

---

\* Departamento de Parasitología del Laboratorio Conmemorativo Gorgas.

\*\* Jefe del Departamento de Parasitología del Laboratorio Conmemorativo Gorgas y Profesor Titular de Microbiología en la Facultad de Medicina de la Universidad de Panamá.

DETERMINACION DE LA DOSIS MEDIA LETAL (DL50)  
Y LOS EFECTOS DE LAS RADIACIONES GAMMA SOBRE  
*RHODNIUS PROLIXUS* Y *R. NEGLECTUS*  
(HEMIPTERA: REDUVIIDAE).

Lic. CORINA WENDEHAKE DE JUNCA  
Lic. GENEVA LUCIANI DE RIVAS  
Dr. OCTAVIO E. SOUSA PITTI, A.P.M.C.

Los autores estudiaron la dosis letal media (DL50) de las radiaciones gamma sobre especímenes de *Rhodnius prolixus* y *R. neglectus*. Observaron que el *R. neglectus* es más susceptible a la irradiación que el *R. prolixus*. La dosis media letal para los *R. prolixus* adultos fue de 23,000 r.; para las ninfas del 5o estadio fue de 25,000 r; y para las del 3er estadio fue de 27,000 r. En los *R. neglectus* adultos la dosis media letal fue de 11,900 r; para las ninfas del 5o estadio fue de 13,000 r. y para las de 3er estadio fue de 15,000 r. La dosis letal comprobada fue de 160,000 r.

Las radiaciones gamma 2,500 r. y 5,000 r. aceleraron notablemente la producción de huevos. La fertilidad disminuyó al aumentar la dosis de irradiación. Las radiaciones de 10,000 r. o más afectaron la producción de huevos, produciéndose una com-

pleta esterilidad. Dosis de 10,000 r. o más, afectaron la motilidad. En todos los casos citados, los estadios larvales presentaron una menor sensibilidad que los adultos.

Los fundamentos de este trabajo se basan en la determinación de la dosis letal media (DL50) de las radiaciones gamma y sus efectos biológicos en distintas dosificaciones de irradiación sobre especímenes de *Rhodnius prolixus* y *R. neglectus* (Hemiptera: Reduviidae). Estas dos especies de chinches hematófagos son conocidas en América del Sur y en partes de América Central como huéspedes naturales de *Trypanosoma cruzi* y pueden ser vectores efectivos de la Enfermedad de Chagas. La importancia del *R. prolixus* como vector de la enfermedad de Chagas en Venezuela, Colombia y América Central, ha

sido bien documentada (1, 2, 3). Aún cuando éstas especies no son endémicas en el territorio de la República de Panamá ellas guardan estrecha relación con *R. pallescens*, que es la especie autóctona de Panamá, de reconocida importancia en la transmisión local de *T. cruzi* y *T. rangeli* (4, 5).

El interés en determinar nuevos y mejores métodos de control de triatóminos, y el éxito obtenido en algunos casos con la radiación ionizante en el control de dípteros (ejem. control de *Callitroga* o mosca que resera) (6), ha estimulado la investigación sobre los efectos de la radiación gamma sobre el *R. prolixus* y su potencial como método de control, utilizando machos irradiados. Los trabajos de Gómez-Núñez, Gross y Machado (7), sobre el efecto de la radiación gamma en los machos de *R. prolixus*, demuestran las dificultades y baja efectividad del método para el posible control de la población natural del triatómino por competencia entre machos (irradiados vs. no-irradiados). Se hace necesario ampliar conocimientos sobre los efectos de la radiación en ambos sexos, e indagar sobre su potencial para ser usados en el control de poblaciones naturales. Además, existe interés en los efectos de la radiación sobre la susceptibilidad de las especies de *Rhodnius* a la infección con tripanosomas.

El presente trabajo tiene el propósito de obtener información básica sobre los efectos de la radiación gamma en diferentes estadios de desarrollo (adultos, ninfas de 5o y 3er estadio) de *R. prolixus* y *R. neglectus*, el cual habrá de servir de base o fundamento inicial para futuros trabajos sobre el efecto de la radiación en la susceptibilidad de los triatóminos a la infección con *T. cruzi* y *T. rangeli* y las consecuentes relaciones huésped-parasitarias.

### Material y método

**Cepas utilizadas en la experiencia.** Por razones de conveniencia, se utilizaron dos tipos de chinches: el *R. prolixus* y el *R. neglectus*, provenientes de las colonias del Departamento de Parasitología del Laboratorio Conmemorativo Gorgas. Estos animales fueron criados exclusivamente en el Insectario de dicho Laboratorio, donde la temperatura se mantuvo regulada, de 70 a 80°F y la humedad relativa se mantuvo, adecuadamente, en 80-90%.

Los ejemplares utilizados fueron adultos (hembras y machos) y ninfas del tercer y quinto estadios.

**Técnica experimental.** Para esta experiencia se utilizó un total de 1690 ejemplares de *R. prolixus* y 221 ejemplares de *R. neglectus*. Se les aplicó a los *R.*

*prolixus* 8 tipos distintos de dosis de radiación y a los *R. neglectus*, 7 dosis.

Se dividieron los ejemplares en grupos, para facilitar su manejo y el uso de la fuente radioactiva. Los ejemplares de *R. prolixus* fueron agrupados en conjunto de 25 por envase; los ejemplares de *R. neglectus*, cuya cantidad era menor, fueron agrupados en conjuntos de 10 por envase. Se emplearon adultos y ninfas de 3er y 5o estadios, procurando que cada uno hubiera alcanzado recientemente su estadio correspondiente. Los grupos así constituídos recibieron una alimentación, cinco días antes de la irradiación.

Las chinches fueron colocadas en envases circulares de polietileno e introducidas en las cápsulas de irradiación; y luego fueron sumergidas hacia la fuente, donde se llevó a cabo la exposición a los rayos gamma.

En las Tablas No. 1 y No. 2, expuestas a continuación, expresamos la dosis en roentgen, los tiempos utilizados para dichas irradiaciones, así como también el número de *Rhodnius* utilizados.

**Dosimetría.** Las dosis administradas a nuestra colonia de *Rhodnius* fueron determinadas por el método de Fricke, el cual se fundamenta en la oxidación del hierro estando en solución de ácido sulfúrico.

Las dosis utilizadas fueron:

2,500 r., 5,000 r., 10,000 r., 20,000 r., 40,000 r., 60,000 r., 80,000 r., y 160,000 r.

Para irradiar las colonias de chinches empleamos una fuente de Cobalto 60, en un tanque de acero hacia el fondo, el cual contenía una cantidad de 9.5 metros cúbicos de agua desmineralizada, a la temperatura ambiental, como medida de seguridad contra la radiación gamma.

Un total de 5,000 curies de cobalto 60 constituyeron la fuente de irradiación. El cobalto radioactivo estaba contenido en placas perfectamente recubiertas de acero inoxidable y la intensidad de la radiación fue variable, entre 35,000 y 200,000 rads por hora. Estos números dependieron del arreglo geométrico de las fuentes y de las muestras a ser tratadas.

Las cápsulas que contenían los especímenes para ser irradiados eran cilíndricas, de 6.5 cms. de diámetro interno y de 36 cms. de longitud; eran de acero inoxidable, cerraban herméticamente y mantenían una atmósfera similar a la ambiental, condición que permitió conservar a los animales en su forma habitual.

Las chinches fueron instaladas en el tubo G, en donde el campo de irradiación es generalmente uniforme en los primeros 25 cms. de longitud.

Para calcular la DL50 de la información obtenida en el

TABLA No. 1

<i>Rhodnius prolixus</i> 0					
Testigo - 100					
	Dosis en roentgen	Tiempo de irradiación	Adultos irradiados cantidad	Ninfas 5*	Ninfas 3*
Testigo					
1.	160,000	50'00"	40	40	40
2.	80,000	25'00"	30	30	30
3.	60,000	18'45"	30	30	30
4.	40,000	12'30"	30	30	30
5.	20,000	6'16"	100	100	100
6.	10,000	3' 8"	100	100	100
7.	5,000	1'34"	100	100	100
8.	2,500	0'47"	100	100	100

TABLA No. 2

<i>Rhodnius neglectus</i>					
Testigo - 40					
	Dosis en roentgen	Tiempo de irradiación	Adultos irradiados cantidad	Ninfas 5*	Ninfas 3*
Testigo					
1.	80,000	25'00"	20	10	10
2.	60,000	18'45"	20	10	10
3.	40,000	12'30"	20	10	10
4.	20,000	6'16"	20	10	10
5.	10,000	3'8"	20	10	10
6.	5,000	1'34"	20	10	10
7.	2,500	0'47"	20	10	10

experimento fue necesario escoger un método que rindiera el mayor margen de utilidad. El más simple encontrado consistió en trazar los datos en el papel de probabilidad logarítmica, en donde las dosis van colocadas en la escala logarítmica y el por-

centaje de mortalidad en la escala de porcentajes, que va de 0.01 a 99.99.

El porcentaje de mortalidad se determinó en un tiempo limitado a 30 días, a partir del momento de la exposición.

### Resultados

**Efectos de las radiaciones gamma sobre la mortalidad.** Los insectos irradiados demostraron los efectos dañinos de la radiación gamma en forma progresiva, según el incremento en la intensidad de la irradiación. Los trastornos motores fueron los primeros signos de los efectos de la radiación los cuales, al acentuarse, produjeron pérdida de la motilidad y la muerte. En ambas especies de triatóminos, *R. prolixus* y *R. neglectus*, la

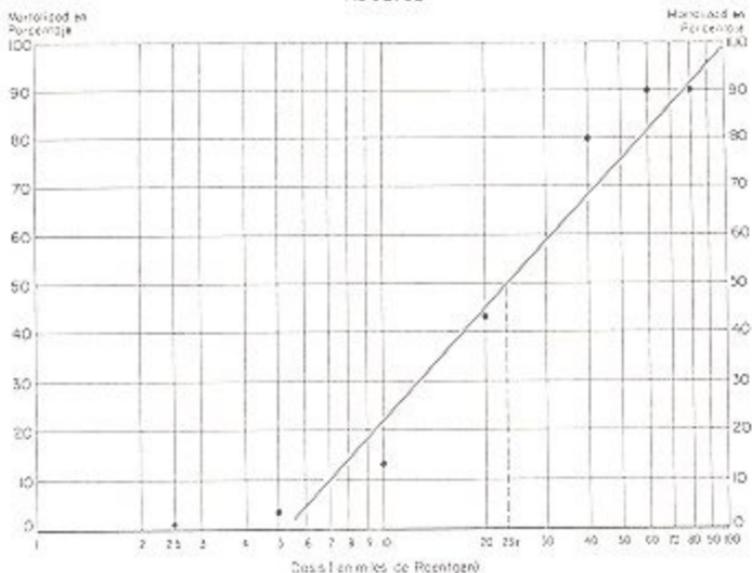
mortalidad aumentó rápidamente desde 10 por ciento aproximadamente a dosis de irradiación de 2,500 r., hasta un 80 por ciento, a dosis de 40,000 r. A niveles de irradiación superiores a los 40,000 r. la tasa de mortalidad aumentó más lentamente, hasta alcanzar un 100 por ciento a la dosis de 160,000 r.

Calculando la dosis letal media (DL50) para *R. prolixus* y *R. neglectus*, en tres diferentes estadios de desarrollo (adultos, ninfas de 5o y 3er estadios), observamos que existía una ligera diferencia en la susceptibilidad a la radiación gamma, por parte de las dos especies. El *R. neglectus* demostró ser más susceptible a la irradiación que el *R. prolixus*. Los resultados incluidos en la Tabla No. 3 de-

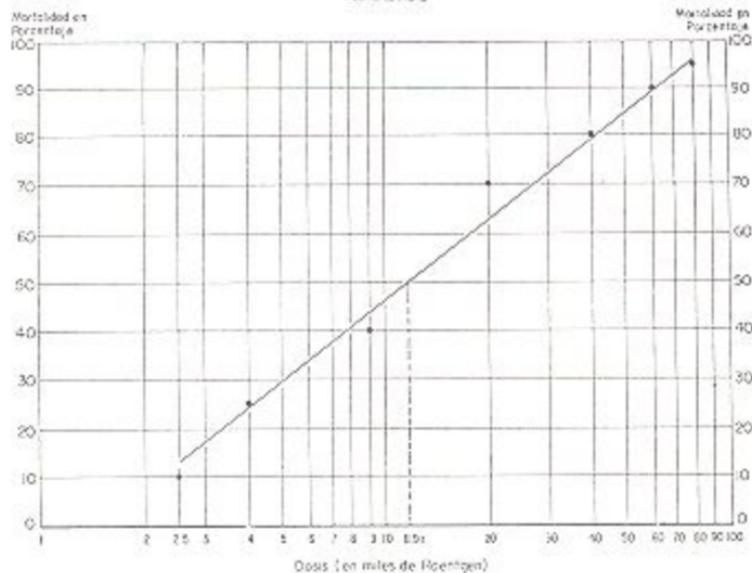
TABLA 3

### EFFECTO DE LAS RADIACIONES GAMMA

	Total de Rh. irradiados	Morta lidad	% de Morta lidad	DL50
Rh. prolixus (A)	530	178	33.58	23,000r
Rh. prolixus (5)	530	175	33.01	25,000r
Rh. Prolixus (3)	530	165	31.13	27,000r
Rh. neglectus (A)	140	81	57.85	11,900r
Rh. neglectus (5)	70	39	55.71	13,000r
Rh. neglectus (3)	70	36	51.42	15,000r

DETERMINACION DEL FACTOR DE DOSIS MEDIA LETAL EN *Rhodnius prolixus* ADULTOS

GRAFICA No. 2

DETERMINACION DEL FACTOR DE DOSIS MEDIA LETAL EN *Rhodnius neglectus* ADULTOS

muestran que los adultos de *R. prolixus* requieren de una DL50 de 23,000 r. mientras que el DL50 para *R. neglectus* fue de 11,900 r., o sea aproximadamente la mitad de la dosis efectiva para *R. prolixus*. Una diferencia semejante se demostró en la susceptibilidad a la irradiación por los estadios larvales (ninfas de 3er y 5o estadios). Las ninfas de *R. Neglectus* fueron más susceptibles que las de *R. prolixus*; y sus DL50 fueron de 13,000 y 15,000 r. para las ninfas de 5o y 3er estadios de *R. neglectus* y hasta de 25,000 r. y 27,000 r., para las ninfas de 5o y 3er estadios de *R. prolixus*. Los resultados expuestos en las gráficas 1 y 2 ilustran los porcentajes de mortalidad y DL50 para los adultos de cada especie expuesta a la irradiación. La dosis letal media (DL50), para cada estadio, fue mayor mientras más joven era el estadio de desarrollo. Así, los adultos de ambas especies fueron más susceptibles a la radiación gamma que su 5o estadio ninfal; y éstas, a su vez, resultaron más susceptibles que las ninfas de 3er estadio (Tabla No. 3).

**Efecto de la irradiación sobre la reproducción.** Uno de los efectos más notables en los adultos de *R. prolixus* y *R. neglectus* expuestos a ciertos niveles de radiación gamma fue el aumento en la oviposición. A niveles de irradiación entre 2,500 r. y 10,000 r., como puede observar-

se en las Tablas No.4 y No.5, se produjo un apreciable aumento en la postura de huevos y se conservaron las relaciones proporcionales entre ambas especies siendo el *R. prolixus* mucho más prolífico que el *R. neglectus*. A niveles más altos de irradiación la oviposición disminuyó drásticamente hasta ser interrumpida a dosis de 60,000 r. a 160,000 r., según la especie. Llama la atención que en *R. prolixus* se demostró oviposición aún después de ser irradiado con 80,000 r., pero no a 160,000 r.; mientras que en *R. neglectus* la oviposición se detuvo con la dosis de 60,000 r.

Los resultados obtenidos demuestran que la eclosión de los huevos procedentes de hembras irradiadas fue mucho menor que la eclosión demostrada por las hembras no irradiadas (patrón o testigo). Asumiendo la eclosión demostrada por los huevos de las hembras "normales" (no irradiadas), como 100 por ciento, observamos que en el producto de hembras irradiadas experimentalmente la tasa de eclosión para *R. prolixus* fue de 51.4 por ciento a una dosis de solo 2,500 r. y de 30.2 por ciento para los que recibieron una dosis de 5,000 r., mientras que no hubo eclosión en los huevos procedentes de hembras irradiadas con 10,000 r. o más.

Iguales resultados se observaron en los huevos procedentes de las hembras de *R. neglectus*,

TABLA No. 4

RHODNIUS PROLIXUS

## ADULTOS

DOSIS EN ROENTGEN	TOTAL DE R. IRRADIADOS	NUMERO DE HEMBRAS	TOTAL DE HUEVOS (POR R. HEMBRA)	ECLOSION	% DE ECLOSION	MORTALIDAD DE LOS ADULTOS A LOS 30 DIAS	% DE MORTALIDAD
PATRON	TESTIGO NO IRRADIADO	25	193 (7.72)	193	100	1	2
160.000	40	20	- (0.00)	-	-	40	100
90.000	30	15	4 (0.26)	-	-	22	90
60.000	30	15	16 (1.06)	-	-	27	90
40.000	30	15	145 (2.90)	-	-	24	80
20.000	100	50	540 (10.80)	-	-	43	43
10.000	100	50	416 (8.32)	-	-	13	13
5.000	100	50	1.562 (31.24)	472	30.21	3	3
2.500	100	50	1.628 (32.56)	637	51.41	1	1

TABLA No. 5

RHODNIUS NEGLECTUS

## ADULTOS

DOSIS EN ROENTGEN	TOTAL DE R. IRRADIADOS	NUMERO DE HEMBRAS	TOTAL DE HUEVOS (POR R. HEMBRA)	ECLOSION	% DE ECLOSION	MORTALIDAD DE LOS ADULTOS A LOS 30 DIAS	% DE MORTALIDAD
PATRON	TESTIGO NO IRRADIADO	10	36 (3.60)	36	100	-	-
80.000	20	10	- (0.00)	-	-	19	95
60.000	20	10	- (0.00)	-	-	18	90
40.000	20	10	77 (7.70)	-	-	16	80
20.000	20	10	20 (2.00)	-	-	14	70
10.000	20	10	150 (15.00)	-	-	8	40
5.000	20	10	119 (11.90)	7	5.87	4	25
2.500	10	10	152 (15.20)	26	16.42	2	10

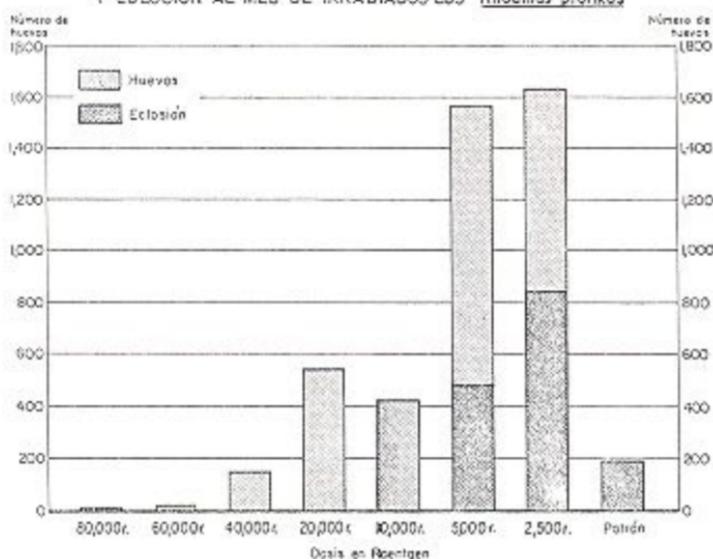
en las cuales se observó una tasa de eclosión máxima de 18.4 por ciento a los niveles más bajos de irradiación (2,500 r.), 5.9 por ciento a una dosis de 5,000 r. y

ninguna eclosión en los huevos procedentes de hembras irradiadas con 10,000 r. o más.

En las gráficas 3 y 4 se ilustran los resultados de la irradiación (Co

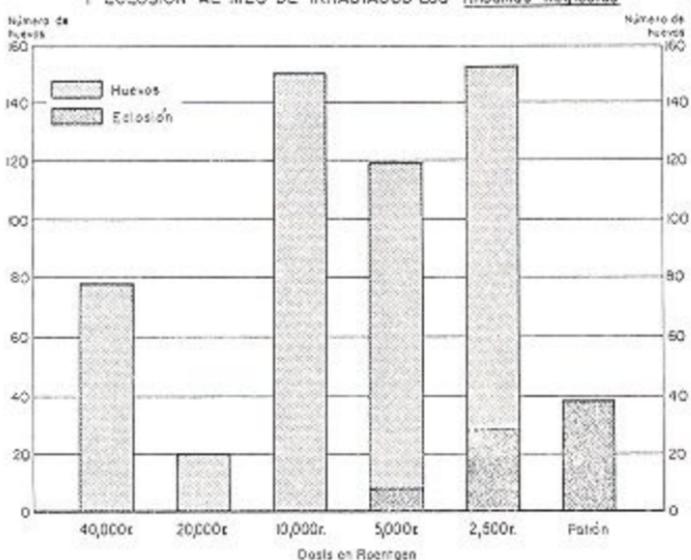
GRAFICA N° 3

EFFECTO DE LAS RADIACIONES GAMMA SOBRE LA PRODUCCION DE HUEVOS Y ECLOSION AL MES DE IRRADIADOS LOS *Rhodnius prolixus*



GRAFICA N° 4

EFFECTO DE LAS RADIACIONES GAMMA SOBRE LA PRODUCCION DE HUEVOS Y ECLOSION AL MES DE IRRADIADOS LOS *Rhodnius neglectus*



60) sobre la oviposición y eclosión en adultos de *R. prolixus* y *R. neglectus*, según observaciones realizadas hasta 30 días después de la irradiación. El aumento de 4.2 y 4.0 veces la producción normal de huevos, que se demuestra en las hembras irradiadas a 2,500 r., es reducido, en un 51.4 por ciento en *R. prolixus* y 18.4 por ciento en *R. neglectus*, por la disminución correspondiente en la tasa de eclosión de los huevos irradiados. Así, aún cuando las dosis bajas de irradiación aumentan la oviposición, no se aumenta en forma apreciable la reproducción. No se incluyen datos relacionados con la supervivencia de las ninfas resultantes de huevos irradiados ya que las observaciones fueron limitadas a los primeros 30 días de la exposición a la dosis de radiación gamma.

### Comentarios

Los resultados obtenidos indicaron que la aplicación de la radiación gamma a los especímenes de *Rhodnius*, según la dosis administrada y la intensidad de la irradiación, causan efectos que pueden ser destructivos (8, 9); y que la radioresistencia, además, decreció con el grado de madurez de los insectos. Se llegó a esta conclusión al observarse que las ninfas eran más resistentes que los adultos y que la dosis letal media empleada en las ninfas era mayor, con una apreciable diferencia, que la dosis requerida para los adultos.

Se observó además que los adultos eran afectados en su actividad mótil, a través de toda la experiencia; y que las hembras experimentaron un aumento en la oviposición, que fue extraordinario, pero con la particularidad de que el porcentaje de eclosión no superó la eclosión que registraron los grupos de *Rhodnius* utilizados como testigos.

Nosotros observamos que las radiaciones gamma de 2,500 y 5,000 r., aceleraron la producción de huevos en *R. prolixus* y *R. neglectus*, aun cuando en distinta proporción, siempre menor cuando era mayor la radiación. El *R. prolixus*, por ejemplo, a una dosis de 2,500 r., tenía un 51.41% de fertilidad; pero con 5,000 r. esa fertilidad se redujo a un 30%. Gómez-Núñez y col. (7) concuerdan solamente en parte con nuestros resultados porque, trabajando con *R. prolixus*, obtuvieron porcentajes de fertilidad hasta con una dosis de 20,000 r., en tanto que nosotros, con una dosis de 10,000 r. o más, no observamos fertilidad alguna. Como estos autores trabajaron solamente con *R. prolixus* no podemos comparar los resultados que nosotros obtuvimos con *R. neglectus*.

El *R. neglectus* es, al parecer, más radiosensitivo que el *R. prolixus*, ya que la dosis media letal es baja, para los adultos y las ninfas; y es más baja, todavía, que la utilizada para un adulto de *R. prolixus*. Se nota

este efecto en sus movimientos, tanto como en la oviposición y fertilidad. Lo comprueba el hecho de que a 2,500 r., la fertilidad era solamente de 18.42%; y que disminuyó a 5%, cuando la dosis de irradiación fue de 5,000 r.; en tanto que con *R. prolixus*, a una dosis de 5,000 r., el porcentaje de eclosión fue de 30%.

En ambos *Rhodnius* se observó la disminución de su fertilidad, cuando la dosis de radiación se acercó a los 10,000 r., coincidiendo estos resultados con los trabajos de Gómez-Núñez y col. (7).

#### SUMMARY

Experimental exposure of *Rhodnius prolixus* and *R. neglectus* to gamma irradiation

from a  $^{60}\text{Co}$  source revealed that *R. neglectus* is more susceptible to radiation than *R. prolixus*. The LD50 for various developmental stages was determined as follows: For *R. prolixus* was 23,000 r. (adultos), 25,000 r. (5th instar) and 27,000 r. (3rd instar). For *R. neglectus* the LD50 was 11,99 r. (adults), 13,000 r. (5th instar) and 15,000 r. (3rd instar). The lethal dose for both triatomine species was 160,000 r.. Low radiation levels of 2,500 r. produced a marked increase in egg production, but sterility of females was only achieved at dose levels of 10,000 r. or higher. In both species, the immature or nymph stages were less radiosensitive than adults.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Pifano F, Guerrero L : Campaña contra la enfermedad de Chagas en Venezuela. Bol Ofic Sanitaria Panamericana 54 : 396-411, 1963
2. Cedillos RA, Warren Mc, Wilton DP, Jeffery GM, Sauerbrey M : Estudios epidemiológicos del *Trypanosoma cruzi* en el Salvador. Rev Instit Invest Medicas (El Salvador) 5 : 119-130, 1976
3. D'Alessandro A, Mandel S : Natural infections and behavior of *Trypanosoma rangeli* and *Trypanosoma cruzi* in Colombia. J Parasitol 55 : 846-852, 1969
4. Ppkin AC : Domiciliary reduviid bugs and the epidemiology of Chagas'disease in Panama (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). J Med Entomol 5 : 107-124, 1968
5. Sousa OE, Johnson CM : Prevalence of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* in triatomines (Hemiptera: Reduviidae) collected in the Republic of Panama. Am J Trop Med Hyg 22 : 18-23, 1973
6. Bushland RC, Hopkins DE : Sterilization of screw worm flies with X-rays and Gamma-rays. J Econ Entomol 46 : 649-656, 1953
7. Gomez-Núñez JC, Gross A , Machado C : Radiación gamma y el comportamiento reproductivo del *Rhodnius prolixus* macho. 5th Interamerican Symposium on the Peaceful Application of Nuclear Energy, Valparaíso, Pan Am Union, Washington DC 1 : 203-212, 1964
8. Grosch DS : Entomological aspects of radiation as related to Genetics and Physiology. Ann Review of Entomology 7 : 81-106, 1962
9. Day MF , Oster II : Physical agents that cause injury (Radiation), en *Insect Pathology* vol. 1, Steinhaus EA, Nueva York y Londres, Academic Press, 1963, pp. 29-54