

Composición de la Comunidad del Género *Lutzomyia* (França, 1924) (Diptera: Psychodidae) en Tres Biomas de la Cuenca del Río Pamplonita (Norte de Santander, Colombia).

Rafael Armando Bolaños Barrientos

1.127.045.381

Universidad de Pamplona

Facultad de Ciencias Básicas

Programa de Biología

Pamplona, Colombia

201

Composición de la Comunidad del Género *Lutzomyia* (França, 1924) (Diptera: Psychodidae) en Tres Biomas de la Cuenca del Río Pamplonita (Norte de Santander, Colombia).

Estudiante:

Rafael Armando Bolaños Barrientos

1.127.045.381

Director:

Diego Armando Carrero Sarmiento B.Sc. M.Sc.

Codirector:

Richard Onalbi Hoyos B.Sc. M.Sc.

Universidad de Pamplona

Facultad de Ciencias Básicas

Programa de Biología

Pamplona, Colombia

2015

TESIS PARA ASPIRAR AL TÍTULO DE BIÓLOGO

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

NORTE DE SANTANDER, COLOMBIA

Dedicatoria

Este trabajo está dedicado a Dios y a la Virgen por ayudarme a finalizar esta meta hoy cumplida.

A mis padres Sulay Amparo Barrientos Carrillo y Rafael Armando Bolaños Gómez, quienes con tanto esfuerzo lograron este sueño realidad.

A mis tíos-papas que siempre me han apoyado Obdulia Barrientos Carrillo y Hernando González

A mis hermanos Franklin Bolaños, Andy Bolaños y Emerson Bolaños

A mis sobrinos Scarlett Bolaños y Wilkelman Bolaños

A mis abuelitas Irma Leonor Gómez y Balbina Gómez

Agradecimientos

A mis padres Sulay Barrientos y Rafael Bolaños G. por ayudarme a realizar y apoyarme a lo largo de mi carrera como estudiante.

A mis tíos-papás Obdulia Barrientos y Hernando González por el amor y el cariño incondicional que me han dado en toda mi vida.

A mis hermanos quienes siempre están a mi lado apoyándome Franklin Bolaños, Andy Bolaños y Emerson Bolaños.

A mi Director y amigo Diego Carrero por la oportunidad de hacer parte de este gran proyecto, además de su enseñanza, comprensión y paciencia a lo largo de este proceso.

A mi Codirectora y amiga Catalina Camargo por sus asesorías y apoyo incondicional durante el proyecto.

A mi Codirector y amigo Richard Hoyos por su incondicional apoyo durante el proceso.

A María Angélica Contreras por las asesoras taxonómicas e incondicional apoyo durante el proceso.

Al equipo de trabajo del Laboratorio de Entomología Yulieth Armesto y Jhon Freddy Zuleta por el apoyo en campo y laboratorio.

A mis amigos Raquel Pacheco, Camilo Olarte y Monica Martinez quienes estuvieron durante todo este proceso.

Contenido

2. MARCO TEORICO Y ESTADO DEL ARTE.....	17
2.1 Biología y Ecología.....	17
2.2 Taxonomía y Distribución del género <i>Lutzomyia</i>	20
2.3. Caracteres morfológicos usados en la identificación de género <i>Lutzomyia</i>	22
2.3.1 Cabeza.....	24
2.3.2 Tórax.....	26
2.3.3 Abdomen.....	29
3. OBJETIVO GENERAL.....	34
3.1. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	34
4. METODOLOGÍA.....	35
4.1 ÁREA DE ESTUDIO	35
4.2 FASE DE CAMPO.....	39
4.2.1 Selección de Sitios de Muestreo.....	39
4.2.2 Métodos de Recolecta para adultos de <i>Lutzomyia spp.</i>	41
3 FASE DE LABORATORIO.....	45

4.3.1 Almacenado y Transporte de las especies de <i>Lutzomyia</i> recolectadas...	45
4.3.2 Procesamiento.....	45
4.3.2.1. Los flebotomíneos adultos seleccionados serán sometidos a los siguientes procesos:	
4.3.2.1.1. Fragmentación.....	45
4.3.2.1.2. Aclaramiento.....	46
4.3.2.1.3. Identificación taxonómica.....	47
4.3.2.1.4. Almacenamiento.....	48
2.4 Análisis Estadísticos.....	49
2.4.1 Curvas de acumulación de especies	49
2.4.2 Composición de la comunidad del género <i>Lutzomyia</i>	50
2.3.1.3 Diversidad de la comunidad del género <i>Lutzomyia</i>	50
2.3.1.4 Estructura de la comunidad del género <i>Lutzomyia</i>	50
5. RESULTADOS	
5.1. Caracterización de la Comunidad de <i>Lutzomyia</i>	53
5.2 Diversidad de la comunidad de <i>Lutzomyia</i> spp.	55
5.2.1 Riqueza de Especies de la comunidad de <i>Lutzomyia</i>	55

5.2.2 Distribución de Abundancia de la Comunidad de <i>Lutzomyia</i>	57
5.2.3 Estimación de Diversidad de la Comunidad de <i>Lutzomyia</i>	58
5.3 Estructura y Composición de la comunidad de <i>Lutzomyia</i>	59
5.3.1 Estructura de la Comunidad de <i>Lutzomyia</i>	59
5.3.2 Composición de la comunidad de <i>Lutzomyia</i> en los tres métodos de muestreo (CDC, Shannon, Búsqueda Activa).....	63
6. DISCUSIÓN.....	67
6.1 Caracterización de la Comunidad de <i>Lutzomyia</i>	67
6.2 Diversidad de la comunidad de <i>Lutzomyia</i> spp.....	73
6.2.1 Estimación de Diversidad de la Comunidad de <i>Lutzomyia</i>	75
6.3 Estructura y Composición de la comunidad de <i>Lutzomyia</i>	76
6.3.2 Composición de la comunidad de <i>Lutzomyia</i>	77
7. CONCLUSIONES.....	82
8. Referencias Bibliográficas.....	84

Lista de figuras

Figura 1. Morfología externa de *Lutzomyia* spp. Dimorfismo sexual de a. hembra de *Lutzomyia ovallesi* y b. macho de *Lutzomyia spinicrassa*.

Figura 2. Estructuras anatómicas de interés taxonómico en adultos de *Lutzomyia*. Cabeza de hembra de *Lutzomyia ovallesi*: a. sutura interocular; b. palpo; c. palpómero; d. proboscis; e. flagelómero.

Figura 3. Estructuras anatómicas de interés taxonómico en adultos de *Lutzomyia*. Cibarium de hembra de *Lutzomyia* spp: a. dientes horizontales, b. dientes verticales; c. zona pigmentada.

Figura 4. Estructuras anatómicas de interés taxonómico en adultos de *Lutzomyia*. Quetotaxia del tórax de *Lutzomyia* spp en vista lateral: a. escudo; b. escutelo; c. pronoto; d. postnoto; e. metanoto; f. coxa 1; g. coxa 2; h. coxa 3; i. halter.

Figura 5. Estructuras anatómicas de interés taxonómico en adultos de *Lutzomyia*. Ala: Venación alas de hembra de *Lutzomyia* spp: a. vena alfa; b. vena beta; c. vena gamma.

Figura 6. Estructuras anatómicas de interés taxonómico en adultos de *Lutzomyia*. Abdomen de macho. Genitalia masculina de macho de *Lutzomyia* spp: a. espinas apicales; b. espinas exteriores inferior y superior; c. espina interna; d. gonósito; e. gonocoxito; f. bomba eyaculadora; g. edeago; h. cerco; i. lóbulo lateral; j. parámero.

Figura 7. Estructuras anatómicas de interés taxonómico en adultos de macho de *Lutzomyia*. Genitalia masculina: a. bomba genital; b. filamentos genitales.

Figura 8. Estructuras anatómicas de interés taxonómico en adultos de *Lutzomyia*. Abdomen de hembra. Segmentos terminales de abdomen de hembra: Espermateca: a. cabeza de la espermateca; b. ducto común; c. ducto individual.

Figura 9. Ubicación geográfica de los sitios de muestreo. Río Pamplonita, municipios, veredas y quebradas asociadas.

Figura 10. Representación del diseño de las muestras por medio de ventanas con sus respectivas 9 celdas. Donde las acciones naturales y humanas causan un mosaico de diferentes tipos de vegetación, las cuales son representativas del paisaje.

Figura 11. Método de colecta para adultos de *Lutzomyia*. Trampa CDC (Center for Disease Control and Prevention). Trampas CDC (Center for Disease Control and Prevention) de luz blanca: Composición de la malla tul: poliéster, diámetro ancho: 40 cm, altura 60 cm, ventilador con batería de 6 Voltios. Ilustración de la postura de la trampa CDC en campo.

Figura 12. Método de colecta para adultos de *Lutzomyia*. Trampa Shannon. Trampa especializada en la captura de mosquitos vivos, ideal para muestreos nocturnos, el cebo principal es una fuente de luz blanca incorporada a la trampa. Trampa Shannon: 150x150x100cm. Ilustración trampa Shannon en campo.

Figura 13. Búsqueda activa manual con aspirador bucal y diferentes sitios de reposo. Para cada sitio de colecta se registrará los datos en el formato PLFC (Proyecto Lutzomyia), teniendo la siguiente información: fecha y hora de captura, nombre del colector, tipo de trampa, registro fotográfico del área y una breve descripción del sitio de colecta (tipo de vegetación presencia de árboles caídos y refugios de roedores), además del registros de coordenadas geográficas, altitud, humedad relativa y temperatura. El formato PLFC está diseñado y dirigido con el propósito de obtener una representación de las especies del género *Lutzomyia* con el bioma muestreado. Fotografía: ©Bolaños, R., 2014

Figura 14. Hembra de *Lutzomyia ovallesi* fragmentada. A. Cabeza; b. Tórax (Alas y Patas); c. Abdomen.

Figura 15. Estereoscopio usado para la identificación y fragmentación de *Lutzomyia*; b. Láminas cóncavas de porcelana, usadas en el proceso de aclarado; c. Gradillas de almacenado para tubos eppendorf.

Figura 16. Almacenado de cabeza y segmentos terminales de abdomen en tubos eppendorf con alcohol al 80%.

Figura 17. Almacenado de cabeza y segmentos terminales de abdomen en tubos eppendorf con alcohol al 80%, en cadena de frio a -10°C .

Figura 18. (a) Curva de acumulación de especies en los tres biomas (B. Seco, B. Transición, B. Subandino) (b) Curva de acumulación de especies en bioma bosque seco, (c) Curva de acumulación de especies en bioma bosque transición, (d) Curva de acumulación de especies en bioma bosque subandino. en la cuenca del Río Pamplonita, Norte de Santander, Colombia.

Figura 19. (a) Distribución de abundancias a lo largo de la cuenca del Río Pamplonita (b) Distribución de abundancias por cada bioma muestreado (Bosque Seco, Bosque Transición, Bosque Subandino) en la cuenca del Río Pamplonita, Norte de Santander, Colombia.

Figura 20. Perfiles de diversidad alfa, riqueza (índice Q0), diversidad de Shannon (índice Q1) y diversidad de Simpson (índice Q2). En la cuenca del Río Pamplonita, Norte de Santander, Colombia.

Figura 21. Perfiles de diversidad beta, número de comunidades (índice Beta0), diversidad de Shannon (índice Beta1) y diversidad de Simpson (índice Beta2). Cuenca del Río Pamplonita, Norte de Santander, Colombia.

Figura 22. Análisis conglomerado (método Bray-Curtis) en los tres biomas muestreados (a) Bosque Seco, (b) Bosque Transición y (c) Bosque Subandino, en la cuenca del Río Pamplonita, Norte de Santander, Colombia.

Figura 23. Análisis conglomerado (método Bray-Curtis) en los tres biomas muestreados (Bosque Seco, Bosque Transición y Bosque Subandino), en la cuenca del Río Pamplonita, Norte de Santander, Colombia.

Figura 24. Análisis conglomerado (método Bray-Curtis) en los tres biomas (Bosque Seco, Bosque Subandino, Bioma Transición) con los diferentes tipos de vegetación, en la cuenca del Río Pamplonita, Norte de Santander, Colombia.

Figura 25. Individuos recolectados mediante los diferentes métodos de muestreo (Trampa CDC, trampa Shannon y Búsqueda Activa), en la cuenca del Río Pamplonita. Norte de Santander, Colombia.

Figura 26. Caracterización de biomas muestreado (Bosque Subandino, Bosque Transición, Bosque Seco), separando el método de muestreo (Trampa CDC, trampa Shannon y Búsqueda Activa), en la cuenca del Río Pamplonita. Norte de Santander, Colombia

Figura 27. El análisis de varianza no paramétrico de HSD Fisher (a) Abundancia de especies en cada uno de los biomas muestreados (B. Seco, B. Transición, B. Subandino) (b) Riqueza de especies en los biomas muestreados (B. Seco, B. Transición, B. Subandino), en la cuenca del Río Pamplonita, Norte de Santander, Colombia.

Lista de tablas

Tabla 1. Especies de *Lutzomyia* colectadas en la cuenca del Río Pamplonita.

Tabla 2. Especies del género *Lutzomyia* encontradas en los tres biomas de la cuenca del Río Pamplonita.

1. Introducción

Las especies del género *Lutzomyia* (França, 1924), son reconocidos como dípteros pequeños con vellosidades densas, que se distribuyen en varios hábitats (raíces y grietas de árboles, en cuevas y lugares oscuros), donde los estados inmaduros se encuentran asociados a lugares húmedos, zonas semidesérticas y con cierta cantidad de materia orgánica (por ser origen detritívoros), además son reconocidos por su actividad crepuscular, vuelo corto, en donde las hembras a diferencia de los machos son anautógenas (Gibson & Torr 1999, May-Uc, E., et al 2011), y por lo general son asociados con reptiles o pequeños mamíferos que viven en madrigueras (Cochero, et al., 2007).

Debido a que solo se conoce la taxonomía de uno de los dos sexos y el poco conocimiento de las formas inmaduras (larvas y pupas) (Contreras-Gutiérrez M A., 2013), permite agruparse en la familia Psychodidae integrada por seis subfamilias (Duckhouse, 1972,1973). De estas tan solo dos contienen especies hematófagas: Sycoracinae y Phlebotominae (Fairchild, 1955). De la sub-familia Phlebotominae se desprenden siete géneros de los cuales tres están en el nuevo mundo: *Brumatomyia*, *Warileya* y *Lutzomyia*; este último incluye todas las especies vectores de leishmaniasis (Lewis et al., 1977), y cerca de 460 especies, encontradas en áreas tropicales y subtropicales con una alta distribución mundial, las hembras son relacionadas con hábitos hematófagos, antropofílicos y zoofílicos, por ello son considerados de importancia en salud pública al ser insectos vectores en la transmisión del protozoo del género *Leishmania* Ross, 1903

(Killick-Kendrick, 1999; Munstermann, 2004), responsables de patología tropical multisistémica denominada Leishmaniasis (Hoyos R et al 2013), la bacteria *Bartonella bacilliformis* (Strong, et al., 1907) y algunos virus de las familias Bunyaviridae, del género *Phlebovirus* (Tesh, et al., 1976), Rhabdoviridae, del género *Vesiculovirus* (Brown, et al., 1979) y Reoviridae (Comer & Tesh, 1991; Polly, 2007; Acevedo & Arrivillaga, 2008), todos transmitidos al alimentarse el vector de sus hospedadores vertebrados.

La leishmaniasis a nivel mundial es reconocida como una enfermedad endémica en las regiones tropicales del nuevo mundo (Alvar 2001; Kamhawi 2006), ya que anualmente se reportan 9.087 casos. La región andina Colombiana está representada por un 21,4% del territorio nacional y alberga alrededor del 50% de la población humana nacional, en donde los últimos años el índice se incrementó en un 3.291 casos para el 2008, 12.574 casos para el 2009, 12.187 casos para el 2010 y datos parciales para el 2012 correspondientes a 6.085 para la enfermedad (Contreras-Gutiérrez M A., 2013).

La Cuenca del río Pamplonita, Norte de Santander, que abastece con el recurso hídrico a las poblaciones presentes en los municipios cercanos, además de dar información acerca del comportamiento endémico, el panorama de aumento de casos afectados por la enfermedad de *Leishmaniasis* y generar inventarios sobre la presencia de especies pertenecientes al género *Lutzomyia* por poseer una amplia variedad de climas que van desde Bosque Seco Tropical (BST) pasando por una transición entre bosque seco tropical y bosque Subandino, hasta llegar a bosque subandino.

La importancia de estudios relacionados con la detección en los cambios de patrones de distribución y diversidad de la comunidad de flebotomíneos presentes en diferentes biomas, las cuales están relacionadas a factores bióticos y abióticos, registro altitudinal y clima, además de ciertas características biológicas y ecológicas que las difieren y/o asocian, son de gran importancia para conocer la composición de la comunidad del género *lutzomyia* asociadas a los diferentes biomas de la cuenca del Río Pamplonita, basados en la identificación taxonómica de caracteres morfológicos del estado adulto (Young & Duncan, 1994; Galati, 2010).

2. MARCO TEORICO Y ESTADO DEL ARTE

2.1 Biología y Ecología.

Los flebotomíneos (del griego phlebos, vena y tomos, cortar), caracterizados por cuerpo hirsuto y pequeño (2 a 3mm de longitud) donde su color puede variar de amarillo o gris plateado pálido a casi negro), (Figura 4-1) compuesto por cabeza: en los cuales se encuentran los palpómeros, flagelómeros, ascoides y el cibario; (Figura 4-2), seguido del tórax compuesto dos pares de alas, en donde la posición y longitud de venas alares difieren de una especie a otra, (Figura 4-5) presentan pigmentación de los segmentos, quetotaxia en pleuritos y las espinas de fémur y abdomen (genitalia masculina y femenina) que difieren entre macho y hembra (Young & Duncan, 1994; Galati, 2010). Son reconocidos como insectos vectores en la transmisión de agentes etiológicos de la enfermedad de

Leishmaniasis, estomatitis vesicular, bartonellosis, además de ser considerados de importancia de salud Pública (Sandoval et al. 1998; Barreto et al. 2006).

Presentan diferentes hábitats, en su mayoría se pueden encontrarse en lugares húmedos, de difícil acceso como en raíces, grietas y huecos de árboles maduros o en descomposición, además en cuevas y en lugares con abundante humus, ya que las hembras prefieren lugares ricos en materia orgánica para la puesta de huevos, desarrollo y maduración de los estadios larvarios (Young y Duncan, 1994; Munstermann, 2005), además de contribuir al reciclaje de nutrientes presentes en suelos en descomposición. La exigencia de humedad es muy alta, ya que la temperatura promedio óptima para el desarrollo de los huevos es de 17°C y 31°C, por lo que temperaturas superiores a los 40°C pueden causar daño a los huevos y las larvas, y temperaturas inferiores a -10°C puede causar retraso en el desarrollo, por lo que los suelos permanentemente húmedos no son buenos criaderos de huevos y formas inmaduras (Lucientes et al. 2005).

Presentan actividad crepuscular y nocturna que inicia desde las 16:00 hasta las 7:00 del día siguiente, momento en que la temperatura disminuye y aumenta la humedad, además se pueden alimentar de algunos mamíferos que presentan hábito nocturno, otras especies se activan durante el día relacionadas con los procesos de copula y ovoposición (Contreras-Gutiérrez M A., 2013), algunas especies de *Lutzomyia* son atraídas por la luz (fototrópicas positivas) y/o por CO₂ (Alexander B., 2000).

Son considerados voladores débiles, ya que no vuelan sino hacen desplazamientos cortos, silenciosos y hacia los lados (Killick-Kendrick, 1999; Munstermann, 2004), pero estudios han indicado que pueden volar hasta 280 m y se han reportado que algunas especies han podido llegar a volar hasta 2 km (Killick-Kendrick et al. 1984). En zonas boscosas en América, la dispersión es más limitada y comprende un rango entre 50 m y 200 m (Chaniotis et al.1982; Cáceres 1993).

La alimentación de ambos sexos en el estado adulto está basada en azúcares producidos por plantas, áfidos y/o coqueos (Lucientes et al. 2005), pero la hembra a diferencia del macho son hematófagas necesitan de sangre de hospederos vertebrados endotérmicos (ganado, perros, roedores y hombre) y los vertebrados exotérmicos, como los reptiles y anfibios (Depaquit y Léger, 2007), condición necesaria para la producción y desarrollo de los huevos (Zhioua y Chelbi, 2005).

Además son telmófagos ya que para alimentarse las hembras deben cortar con su aparato bucal la piel y producir la ruptura de vasos sanguíneos provocando una acumulación de sangre y poder alimentarse (Lucientes et al. 2005;Munstermann, 2004;Depaquit y Léger, 2007), pero hay algunas especies de *Lutzomyia* que no requieren de ingesta sanguínea para producir huevos por ejemplo *Lu lichyi* (Floch y Abonnenc, 1950) por ello son llamadas autógenas, por lo menos durante el primer ciclo de ovoposición (Zhioua y Chelbi, 2005), pero esta necesidad de alimentarse con sangre es la que conlleva a que desempeñe el papel como vector natural y experimentalmente de diversos agentes patógenos provocando

algunas enfermedades en seres humanos y otros mamíferos (Killick-kendrick, 1999; Munstermann, 2004).

Las especies de *Lutzomyia* son insectos con metamorfosis completa (holometábolos) (Young y Duncan, 1994; Killick-Kendrick 1999; Munstermann, 2004), por lo que pasan por diferentes estados de vida: huevo, larva (4 instares larvales), pupa y adulto (Young y Duncan, 1994). En donde en un mismo lote de huevos, el machos adulto emerge primero que la hembra, ya que alcanza su madurez sexual al momento del rote su genitalia (180°), una vez pasadas las 24 horas de su emergida, momento en el cual están listos para copular (Alexander, 1994; Ferro et al. 1997).

El estado adulto ha sido el mejor estudiado, creando un debate en su clasificación, ya que para la mayoría de las especies que integran la subfamilia solamente se conoce uno de los sexos y se conocen muy poco de las formas inmaduras (larvas y pupas) (Contreras-Gutiérrez M A., 2013), además de aspectos importantes y básicos del ciclo de vida, (Almanza, C. & Martinez, C., 2008) y la dificultad de encontrar larvas en la naturaleza (Alexander B., 2000).

2.2 Taxonomía y Distribución del género *Lutzomyia*

Categorizados taxonómicamente dentro del orden Diptera, suborden Nematocera), familia Psychodidae Newman, 1834, subfamilia Phlebotominae Rondani, 1856, Género *Lutzomyia*.

La taxonomía clásica de *Lutzomyia* se basa en la observación de caracteres morfológicos, creando un debate, esto se debe al hecho de que para mayoría de las especies

que integran la subfamilia solamente se conoce uno de los sexos y se desconocen las formas inmaduras (larvas y pupas) (Contreras-Gutiérrez M A., 2013), de esta manera permite agruparse en la familia Psychodidae integrada por seis subfamilias (Duckhouse, 1972,1973). De estas tan solo dos contienen especies hematófagas: Sycoracinae y Phlebotominae (Fairchild, 1955). De la sub-familia Phlebotominae se desprenden siete géneros de los cuales tres están en el nuevo mundo: *Brumatomyia*, *Warileya* y *Lutzomyia*; este último incluye todas las especies vectores de leishmaniasis en el nuevo mundo (Lewis et al., 1977), y cerca de 460 especies, encontradas en áreas tropicales y subtropicales con una alta distribución mundial, que van desde bajas altitudes a nivel del mar, hasta los 3200 msnm aproximadamente (Young y Duncan, 1994; Montoya-Lerma y Ferro, 1999).

En relación a los esquemas de clasificación a nivel de género estos han sido propuestos por distintos autores: Theodor (1948, 1965), Barretto (1955, 1962), Forattini (1973), Young y Fairchild (1974), Lewis et al. (1977), Martins et al. (1978), Ready et al. (1980), Abonnenc y Léger (1986), Artemiev (1991), Young y Duncan (1994) y Galati (1995).

Para el continente Americano, están presentes los géneros: *Brumptomyia* conformado por 26 especies asociadas a ecosistemas conservados (Berrett et al. 1996; Bejarano, 2006), distribuidos desde el sur de México hasta el norte de Argentina, (Young y Duncan, 1994; Ibáñez, 1999; Ibáñez et al. 2006). El género *Warileya* agrupa ocho especies distribuidas desde Costa Rica hasta Bolivia (Young y Duncan 1994; Galati 2010) y el género *Hertigia* es considerado monotípico registrado solo para Costa Rica y Panamá (Lewis et al. 1977; Galati, 2003, 2010). Estos tres géneros no son hematófagas y no presentan implicación

alguna en la transmisión de agentes patógenos que afecten al humano (Young y Duncan, 1994; Mustermann. 2004). Por el contrario, en el género *Lutzomyia* se ubican todas las especies de interés en salud pública. (Young y Duncan, 1994; Ibáñez, 1999; Ibáñez et al. 2006).

A nivel de subgéneros y grupos de especies se mantiene una heterogeneidad, ya que recientemente, Galati (1995) y Rispaill y Léger (1998) realizaron una aproximación a la clasificación basadas en conceptos evolutivos a través de la comparación y análisis del mayor número de caracteres por métodos numéricos, la propuesta de Lewis et al.(1997) sigue siendo la más aceptada, en ésta considera la existencia de cinco géneros en la subfamilia Phlebotominae: *Phlebotomus* Rondani y Berté 1840, *Sergentomyia* Rondani y Berté 1920, *Lutzomyia*, *Brumptomyia* França y Parrot 1921, *Warileya* Hertig 1948.

Al presentarse diferentes esquemas de clasificación se destacan el reconocimiento de dos tribus; Phlebotomini (Quate, 1999; Quate y Brown, 2004) y Hertigiini (Galati, 2003), con respecto a la subfamilia Phlebotominae.

2.3. Caracteres morfológicos usados en la identificación de género lutzomyia

El estado adulto en flebotomíneos ha sido muy bien descrito en su estructura externa y en su anatomía interna (Young y Duncan, 1994; Munstermann, 2004; Galati, 2010).

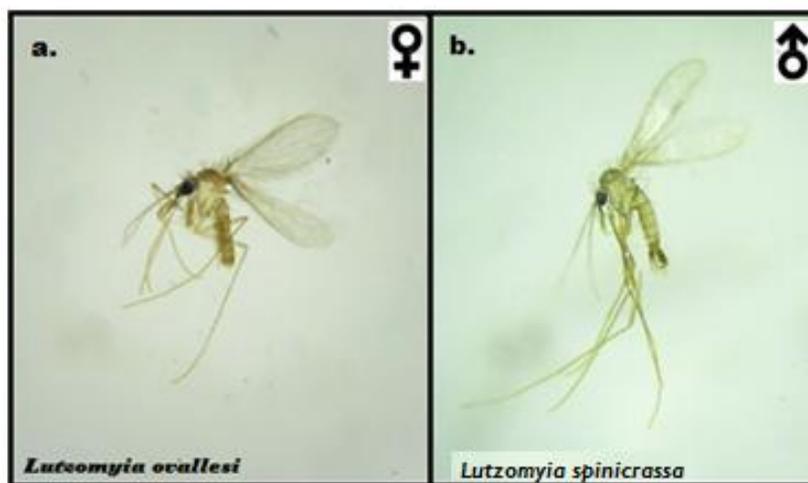


Figura 1. Morfología externa de *Lutzomyia* spp. Dimorfismo sexual de a. hembra de *Lutzomyia ovallesi* y b. macho de *Lutzomyia spinicrassa*.

Fotografía: ©Bolaños, R., 2014

La base de la identificación taxonómica en flebotomíneos está en los caracteres del estado adulto, ya que son de fácil acceso al momento de realizar colectas, a diferencia de los estadios inmaduros que son difíciles de encontrar en sus criaderos naturales (Contreras-Gutiérrez M A., 2013).

Son reconocidos morfológicamente por su cuerpo pequeño e hirsuto, compuesto por: Cabeza (palpómeros, flagelómeros, ascoides y cibario). (Figura 2-2). Tórax (longitud de venas alares, posición de venas alares, longitud y espinas de fémur, quetotaxia y setas en pleuritos) (Figura 2-4) y Abdomen (genitalia masculina y femenina) (Figura 2-6 y 2-7) (Theodor, 1965; Young y Duncan, 1994; Galati, 2010).

2.3.1 Cabeza

Presenta cabeza articulada en la parte anterior del tórax. Es ligeramente piriforme en vista frontal, aplanada en sentido antero-posterior, con las piezas bucales dirigidas hacia abajo. Poseen ojos compuestos, redondos y ocupan gran parte de la superficie de la cabeza, separados uno de otro por una sutura interocular (sio), (Figura 2-2) característica que difiere en algunas especies, donde puede ser completa (*Brumptomyia* y *Warileya*) o incompleta (*Lutzomyia*).

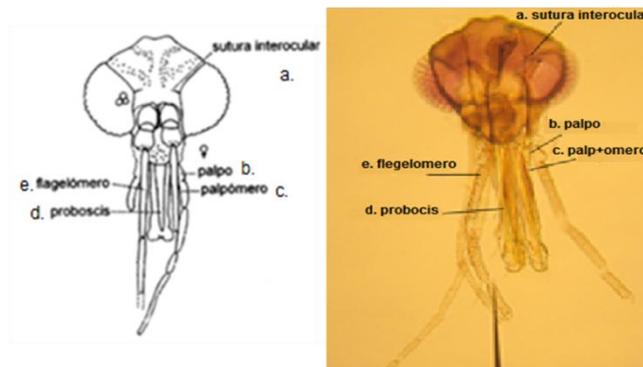


Figura 2. Estructuras anatómicas de interés taxonómico en adultos de *Lutzomyia*. Cabeza de hembra de *Lutzomyia ovallesi*: a. sutura interocular; b. palpo; c. palpómero; d. probocis; e. flagelómero.

Fotografía: ©Bolaños, R., 2014

Las piezas bucales forman una probóscide conformada por los siguientes estiletes: un par de maxilas, un par de mandíbulas, la hipofaringe y el labro-epifaringe; todas laminares y protegidas por el labio. La faringe se encuentra en la parte posterior de la cabeza, la cual se conecta al cibario por el puente posterior (pup) y la protuberancia posterior (pp). El cibario presenta estructura esclerosada donde se encuentran dientes horizontales (dhpost) y verticales (davant)(Figura 2-3), que de acuerdo a su disposición y forma, difieren de cada especie, además de la presencia completa, incompleta o ausente del arco cibarial, (Young y Duncan, 1994; Galati, 2010), todos usados como caracteres diagnósticos (Contreras-Gutiérrez M A., 2013).



Figura 3. Estructuras anatómicas de interés taxonómico en adultos de *Lutzomyia*. Cibarium de hembra de *Lutzomyia spp*: a. dientes horizontales, b. dientes verticales; c. zona pigmentada.

Fotografía: ©Bolaños, R., 2014

Los palpos son largos y están divididos por cinco segmentos que se encuentran cubiertos de setas pequeñas, donde el primero y el segundo se encuentran parcialmente fusionados, (Figura 2-2) además que la longitud de cada segmento es importante al momento de diferenciar no solo especies, sino también de ciertos subgéneros o grupos de especies (Contreras-Gutiérrez M A., 2013).

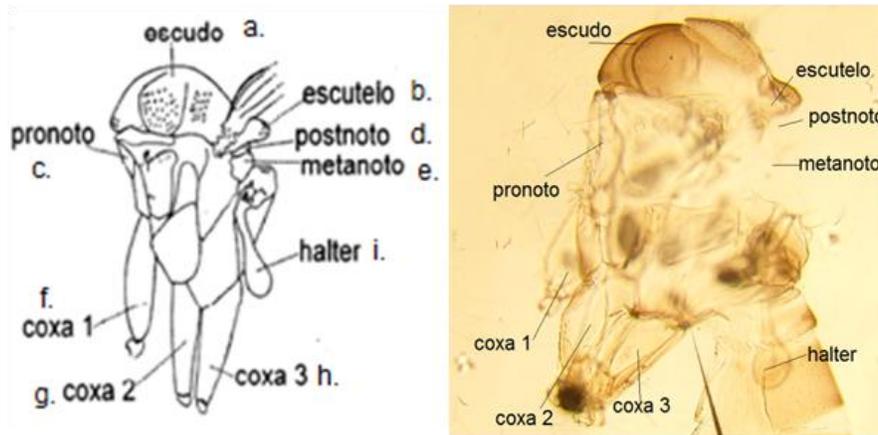
Como consecuencia de los hábitos hematófagos de las hembras, no compartidos por los machos, existen diferencias con respecto a las estructuras bucales y a la porción anterior del aparato digestivo, donde las mandíbulas en machos están reducidas, imposibilitando la picadura y obtención de sangre (Young y Duncan, 1994; Ibáñez, 1999; Ibáñez et al. 2006) (Figura 2-2).

Las antenas son largas y están formadas por un total de 16 antenómeros: uno basal toro o escapo de forma cilíndrica, el que le sigue llamado pedicelo de forma más o menos esférica y articulado a éste 14 flagelómeros (Young y Duncan, 1994; Ibáñez, 1999; Ibáñez et al. 2006) (Figura 2-2).

2.3.2 Tórax

Al igual que en otras familias del orden Diptera, está formado por pronoto, mesonoto y metanoto, que a su vez pueden dividirse en pleuritos por el paso de una sutura longitudinal en episterno, epimero y mesotorax, la presencia y estructura de cerdas son útiles en la determinación de especies. (Contreras-Gutiérrez M A., 2013). Posee dos pares de alas en forma lanceolada, revestidas de setas finas y largas, con escamas cortas en su base, con 10

venas longitudinales y pocas venas transversales características de los flebotomíneos (Young y Duncan, 1994; Ibáñez, 1999; Ibáñez et al. 2006) (Figura 2-4).



Figuran 4. Estructuras anatómicas de interés taxonómico en adultos de *Lutzomyia*. Quetotaxia del tórax de *Lutzomyia* spp en vista lateral: a. escudo; b. escutelo; c. pronoto; d. postnoto; e. metanoto; f. coxa 1; g. coxa 2; h. coxa 3; i. halter.

Fotografía: ©Bolaños, R., 2014

La característica principal de *Lutzomyia* spp es la posición que adoptan cuando están en reposo, manteniendo erectas sus alas (forma de «V») formando un ángulo de 90° entre sí. No presentan manchas, ni ornamentaciones (Young y Duncan, 1994; Ibáñez, 1999; Ibáñez et al. 2006) (Figura 2-5).

El ala presenta algunas nervaduras que le sirven para diferenciación taxonómicas (Figura 2-5), tales como:

- a. La vena radial 2 (R2) o alfa, comprende desde el margen del ala hasta la primera bifurcación.
- b. La vena radial 2+3 (R2+3) o beta, comprende desde la primera bifurcación en la radial hasta la segunda bifurcación.
- c. La vena radial 2+3+4 (R2+3+4) o gamma, comprende desde la segunda bifurcación hasta el enlace con la radial 5.
- d. Delta: segmento entre la primera bifurcación de la radial hasta una perpendicular que baja a la R2, desde el lugar en el margen del ala donde termina la R1.
- e. Pi: Es la longitud entre la línea imaginaria trazada a la R5, entre la segunda bifurcación de la radial 2+3+4 y la bifurcación de la media (Young y Duncan, 1994; Ibáñez, 1999; Ibáñez et al. 2006).

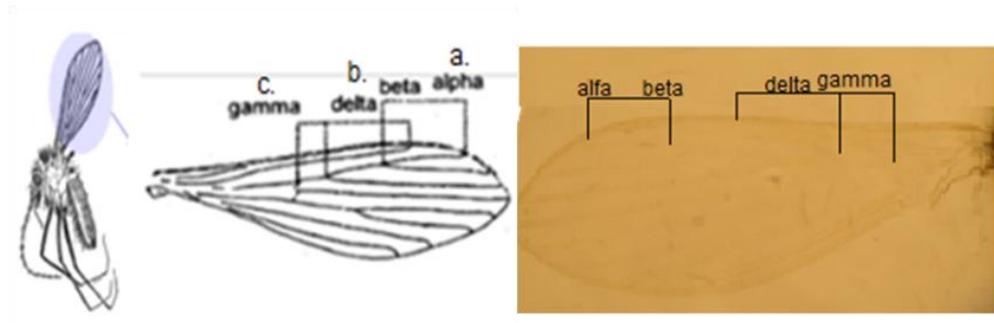


Figura 5. Estructuras anatómicas de interés taxonómico en adultos de *Lutzomyia*. Ala:

Venación alas de hembra de *Lutzomyia* spp: a. vena alfa; b. vena beta; c. vena gamma.

Fotografía: ©Bolaños, R., 2014

Las patas son largas y finas, siendo el tercer par más largos que los otros dos, están cubiertas de setas finas, cada miembro se encuentra constituido por coxa, trocánter, fémur, tibia y tarso; éste último formado por cinco artejos, de los cuáles el quinto presenta un par de garras simples en su parte apical.

2.3.3 Abdomen

El abdomen es largo y está formado por 10 segmentos esclerosados. Los tres últimos segmentos sufren modificaciones para conformar los genitales externos, tanto en machos como en hembras. En el abdomen se observan los tergitos y los esternitos, además de los estigmas respiratorios localizados en las áreas pleurales de los primeros.

En los machos, la determinación de la especie se realiza a partir de las estructuras pareadas de los genitales y la cabeza, mientras que las hembras pueden separarse por los apéndices cefálicos, la armadura cibarial donde se encuentran las estructuras dentales y la espermateca (Young y Duncan, 1994, Vivero, R. J., et al 2007).

La genitalia masculina está compuesta externamente por: gonocoxito (que varía en cuanto a forma y presencia de tufos de setas); gonoestilo que soporta un número variable de espinas o setas accesorias (esp. ext. Inf; esp. ext. sup.; espinas apicales, espina interna), o formando mechones, Los dististilos o gonostilos presentan espinas simples o cerdas espiniformes en disposición y número variable según las especies, siendo útil para la diferenciación taxonómica (Figura 2-6).

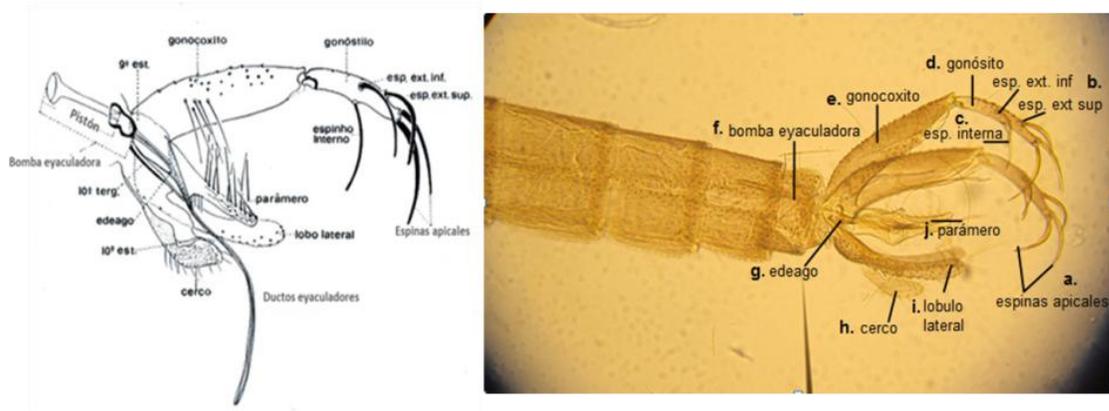


Figura 6. Estructuras anatómicas de interés taxonómico en adultos de *Lutzomyia*. Abdomen de macho. Genitalia masculina de macho de *Lutzomyia* spp: a. espinas apicales; b. espinas exteriores inferior y superior; c. espina interna; d. gonósito; e. gonocoxito; f. bomba eyaculadora; g. edeago; h. cerco; i. lóbulo lateral; j. parámero.

Fotografía: ©Bolaños, R., 2014

De la parte basal interna de los gonocoxitos, se observa el aedeago o pene, conformado por un par de conos centrales muy esclerosados, por cuyo ápice se proyectan dos filamentos o conductos eyaculadores (Figura 2-7) durante la cópula y el par de parámetros (Figura 2-6), éstos últimos están menos esclerosados y su tamaño, forma y ornamentaciones son indispensables para la identificación de las especies. Internamente, dentro de los últimos segmentos abdominales se encuentran los conductos eyaculadores que se originan de un apodema y que poseen basalmente una protuberancia denominada bomba eyaculadora. El tamaño relativo de los conductos eyaculadores en comparación con la longitud de la bomba

y apodema eyaculadores combinados, es útil para la distinción de las especies (Young y Duncan, 1994; Galati, 2010).

Los parámetros, pueden tener un patrón de inserción de setas, presentar tubérculos o espinas; otras estructuras que proporcionan caracteres taxonómicos son, los lóbulos laterales y los cercos que varían en cuanto a longitud y forma. La genitalia masculina en su anatomía interna, presenta una bomba eyaculadora y unos filamentos genitales de forma y tamaño variable (Young y Duncan, 1994; Galati, 2010) (Figura 2-6).

Los lóbulos laterales son estructuras largas y cilíndricas que presentan diversas ornamentaciones en su parte media o terminal, cuya longitud y ancho varían según las especies. Los cercos son un par de lóbulos cortos que se observan cerca de la base de los lóbulos laterales, careciendo de importancia taxonómica (Young y Duncan, 1994; Galati, 2010) (Figura 2-6).

La parte final del abdomen (Figura N°9), está formada externamente por los lóbulos apicales o cercos y, ventral a ellos, por un par de oviscaptos pequeños (Young y Duncan, 1994; Galati, 2010) (Figura 2-6).

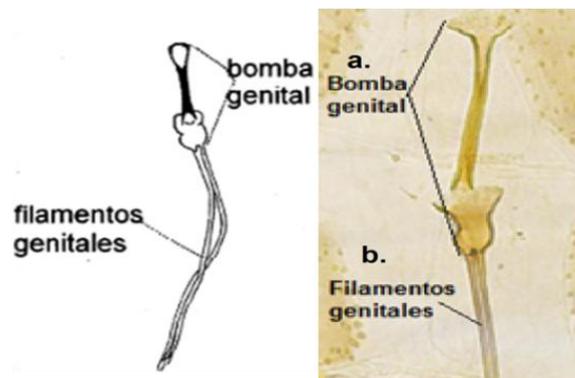


Figura 7. Estructuras anatómicas de interés taxonómico en adultos de macho de *Lutzomyia*.

Genitalia masculina: a. bomba genital; b. filamentos genitales.

Fotografía: ©Bolaños, R., 2014

Internamente se encuentra la horquilla genital a la cual desembocan un par de espermatecas mediante los conductos individuales (Figura 2-7). La forma de las espermatecas varía de manera impresionante según la especie que se trate, por lo que son de uso indispensable en taxonomía. La parte distal de la espermateca presenta la llamada cabeza, que adopta diversas formas de acuerdo a la especie, además de que puede presentar cerdas finas, continuando por finos canalículos quitinosos para dar lugar al cuerpo de la espermateca; algunas especies no presentan dichos canalículos y en su lugar se observa a manera de una bolsa continua y lisa. El cuerpo de la espermateca se continúa con los conductos individuales que son de menor diámetro, pudiendo ser cortos o largos, para unirse formando el conducto común de diámetro mayor que los individuales. En algunas especies de *Lutzomyia* la longitud del conducto común es inaparente, mientras que en otras puede ser corto o de longitud considerable (Young y Duncan, 1994; Galati, 2010) (Figura 2-7).

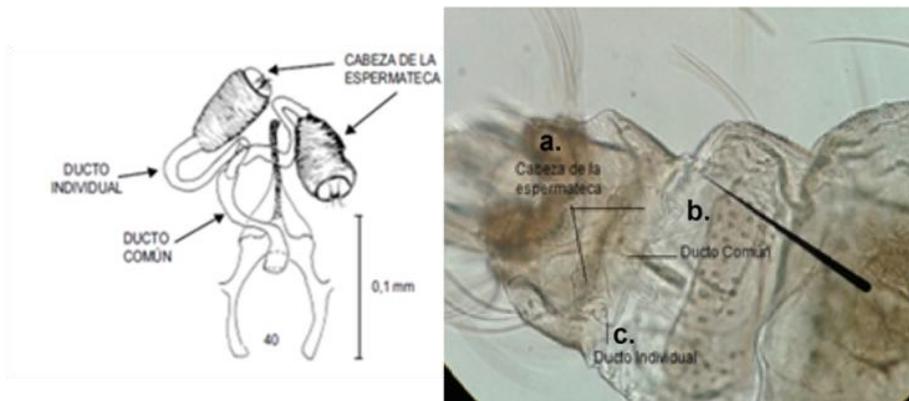


Figura 8. Estructuras anatómicas de interés taxonómico en adultos de *Lutzomyia*.

Abdomen de hembra. Segmentos terminales de abdomen de hembra: Espermateca: a. cabeza de la espermateca; b. ducto común; c. ducto individual.

Fotografía: ©Bolaños, R., 2014

3. OBJETIVO GENERAL

- Describir la composición de la comunidad del género *Lutzomyia* (França, 1924) en tres biomas presentes en la cuenca del río Pamplonita, Norte de Santander.

3.1. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Caracterizar las especies del género *Lutzomyia* presentes en tres biomas (Bosque Seco, Transición Bosque Seco-Bosque Subandino, Bosque Subandino) de la cuenca del Río Pamplonita.
- Evaluar los cambios en la diversidad de la comunidad de *Lutzomyia* spp. en los tres biomas asociados a la cuenca del Río Pamplonita.
- Determinar los cambios en la estructura y composición de la comunidad de *Lutzomyia* spp. en tres biomas asociados a la cuenca del Río Pamplonita.

4. METODOLOGÍA

4.1 ÁREA DE ESTUDIO

La cuenca del río Pamplonita, perteneciente al departamento de Norte Santander, ubicada en la vertiente oriental de la Cordillera Oriental de Colombia, se encuentra en la franja altitudinal de 300 a 3400 msnm, con coordenadas que van desde; La Garita 7°45'17.89"N 72°32'17.87"O al Paramo de Fontibón 7°18'8.48"N y 72°42'9.49"O, el cauce principal cuenta con una longitud de 300,64 Km, (Figura 4-1) se forma en el municipio de Pamplona en la confluencia de las quebradas El Rosal y Navarro y finaliza cerca del centro poblado de Puerto Villamizar en el Ciudad de Cúcuta al confluir en el Río Zulia (CORPONOR, 2010), con temperaturas medias que oscila entre 35 °C a 5 °C, está representado por tres tipos generales de biomas: el Orobioma o Bioma de Montaña que abarca el 60,3% del área total de la Cuenca, caso contrario ocurre en el Bioma Azonal, que abarca tan solo el 5,7% y que es característico en la zona de Pamplona. El Orobioma Subandino, ocupa el 33,2% del total de la Cuenca, encontrándose principalmente en el área montañosa, es decir hacia los municipios de Pamplonita, Ragonvalia, Bochalema y Chinácota y el Zonobioma Subxerofítico Tropical se presenta como uno de los más destacados ocupando un área correspondiente al 22% de la Cuenca, principalmente en los municipios de Cúcuta, Los Patios y Villa del Rosario (CORPONOR, 2010). El presente estudio se realizó en tres biomas representativos de la cuenca del Río Pamplonita, bosque seco que se encuentra entre 300 y 1.000 msnm asociados a los municipios de Cúcuta y los patios, seguido de una transición entre bosque seco y bosque subandino entre los 1.100 y 1.600 msnm asociados a

los municipios de la Don Juana y Chinacota, además de bosque subandino que se encuentra entre los 1.600 a 2.100 msnm asociado al municipio de pamplonita.

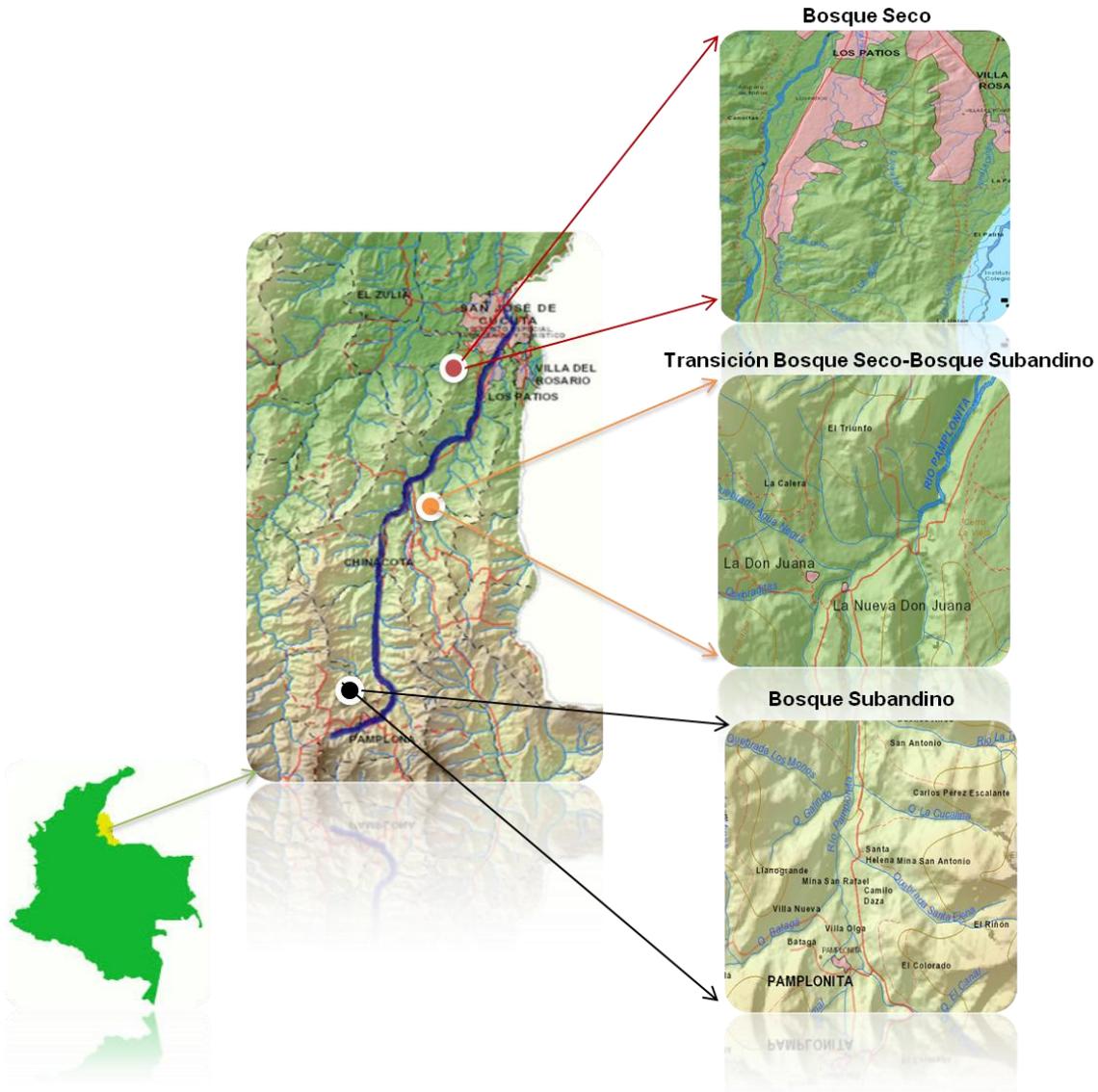


Figura 9. Ubicación geográfica de los sitios de muestreo. Río Pamplonita, municipios, veredas y quebradas asociadas.

Por Bosque Seco Tropical (BST) se entiende a una formación vegetal que presenta coberturas boscosas continuas y se distribuye entre los 0 a 1000 m.s.n.m.; predominan temperaturas entre los 20 Y 35°C, con precipitaciones entre 700 y 2000 mm anuales, con uno o dos periodos de sequía al año (Espinal 1985; Murphy & Lugo 1986, IAVH 1997). Según la clasificación propuesta por Hernández (1990), para las condiciones de Colombia, el Bosque seco Tropical corresponde al zonobioma Tropical Alterhídrico que se desarrolla en tierras bajas.

La pérdida del follaje es una de las principales adaptaciones fisiológicas de las plantas del Bosque seco tropical al déficit de agua, considerada una de las principales características debido al estrés hídrico, provocando una pronunciada época seca con o ninguna precipitación (Mooney et al.,1996). Existen también adaptaciones estructurales generalizadas entre las plantas como son la presencia de hojas compuestas y foliolos pequeños, corteza de los troncos lisa y presencia de aguijones o espinas (IAVH 1995). La altura del dosel oscila entre 15 y 25 metros y se presentan hasta cuatro estratos vegetativos incluyendo el herbáceo. En el interior de este tipo de hábitat son escasas o ausentes las plantas epífitas y el sotobosque es despoblado de hierbas en comparación con hábitats más húmedos (IAVH 1995,1997; Gentry 1995). Al estar presente el río pamplonita permite el desarrollo del bosque ripario generando sombra y cierto grado de humedad, aunque la ganadería juega un papel clave como causa de los cambios climáticos ya que se ven afectados tanto el bosque como tal, presente a las afuera de Cúcuta, como el que existe dentro de esta (Armesto et al 2009).

Uno de los sitios de muestreo se realizó en una comunidad sucesional de un bosque natural ubicado en el corregimiento la Garita, Municipio Los Patios, Norte de Santander, Colombia, situado entre las coordenadas geográficas 07° 44' 49,5" de latitud Norte y 072° 34' 09,9" de longitud Oeste; con una altitud entre los 678 a 714 msnm, temperatura media de 23 a 38°C y precipitación anual de 1200 milímetros, esta área se caracteriza por tener vegetación xerófila de hojas gruesas, árboles fuertes y entrelazados y crecimiento lento de plantas (García, K 2014).

El segundo sitio de muestreo se realizó en la transición entre bosque seco tropical y bosque Subandino, presenta un rango altitudinal entre los 1083.9 msnm 1400 msnm, ubicado en el municipio de Bochalema, corregimiento la Don Juana, vereda el Naranjal, Norte de Santander, Colombia, situado entre las coordenadas geográficas 7°41'04.53" N 72°37'08.20" W y 7°41'06.88" N 72°36'58.92" W de longitud Oeste; con temperatura media de 20°C a 26°C y precipitación anual de 900 a 1800 milímetros.

El bosque subandino presenta un rango altitudinal entre los 1800 y 2300 msnm, la temperatura promedio de este bioma se encuentra entre los 6°C a 16°C y una precipitación de 800 a 2000 mm anuales (Meneses. et al., 2004), en esta vegetación predominan algunas angiospermas de la flora vascular (educotiledoneas, constituyen el grupo de familias con mayor representación, seguido de las monocotiledóneas y el complejo de magnolidas), seguida de los pteridofitos y las ginospermas, la familia rubiaceae presentan mayor riqueza de géneros y especies, seguida de melastomateceae, orchidaceae, asteraceae y solanaceae,

los generos psychotria, miconia, solanum y anthurum presentan el mayor número de especies (Reina et al. 2009).

El tercer sitio de muestreo se realizó en la quebrada la Cocalina, perteneciente a la vereda San Antonio del municipio de Pamplonita, Norte de Santander, se encuentra en un rango altitudinal entre 1600 y 1928 msnm, la localización geográfica es 7°27'37.5" N 72°36'34.2' y ' W y 7°27'39.4" N 72°36'43.4" coordenadas. La temperatura media es de 10°C y 15°C. La zona de vida pertenece al bioma de selva subandina (Camacho y Páez 1990), que equivale a la zona de vida de bosque húmedo montano bajo (Holdridge, 1967).

4.2 FASE DE CAMPO.

4.2.1 Selección de Sitios de Muestreo

En ecología, el término paisaje se refiere a una unidad de espacio con límites geográficos, clima y características geomorfológicas bien definidas, es de gran importancia tener estos conceptos claros a la hora de seleccionar el sitio de muestreo, ya que puede presentar diferentes grados de heterogeneidad, debido a que están compuestos por diferentes comunidades (diferentes grupos de plantas y animales), componentes geográficas, factores abióticos, que al interactuar se puede apreciar la historia de la tierra y la historia geográfica de la fauna y flora del sitio de muestreo (Noss 1983; Franklin 1993; Chown y McGeoch 2011).

Sin embargo, la gran demanda por la tala de árboles y el uso indiscriminado de la tierra y a su vez la creciente fragmentación y modificación de los paisajes, hace que no solo el tipo

de vegetación de una idea completa de la heterogeneidad y estructura del paisaje real. Para ello se ha propuesto el uso de ventanas para el muestreo a nivel de paisaje (Ros et al. 2012).

Dichas ventanas son espacios equivalentes, situados o colocados para maximizar la representatividad al azar, a lo largo del paisaje (Figura 4-2). Son unidades de muestreo que reflejan la heterogeneidad del paisaje, que es espacialmente desigual. A su vez permiten repetir el muestreo y el análisis en el mismo sitio, sin importar que el área cubierta por los diferentes tipos de vegetación, ha cambiado a través del tiempo, también ofrecen la posibilidad de comparar la heterogeneidad entre los paisajes, por ejemplo, en diferentes grados de intervención humana.

El inicio del muestreo de *Lutzomyia* se realizó a partir de una muestra (ventana) de 1x1 Km dividida en nueve celdas o gradillas, (Figura 4-2), seleccionada en cada zona de estudio o bioma. (Bosque seco, Bosque Subandino y Bosque Andino), teniendo en cuenta unos parámetros pre-establecidos como su ubicación, topografía y acceso al área de estudio, cada ventana está representada por un gradiente de intervención representado por un 40 al 60 % de dominancia que caracteriza al bioma (bosque nativo y asociación a quebradas) y un 30 al 40% de intervención antrópica (bosque perturbado o cultivos cercanos al bosque), además en cada ventana se tuvieron en cuenta otros datos como el porcentaje de cobertura forestal, el número total de fragmentos (niveles de fragmentación) y la cantidad total del borde presente del bosque.

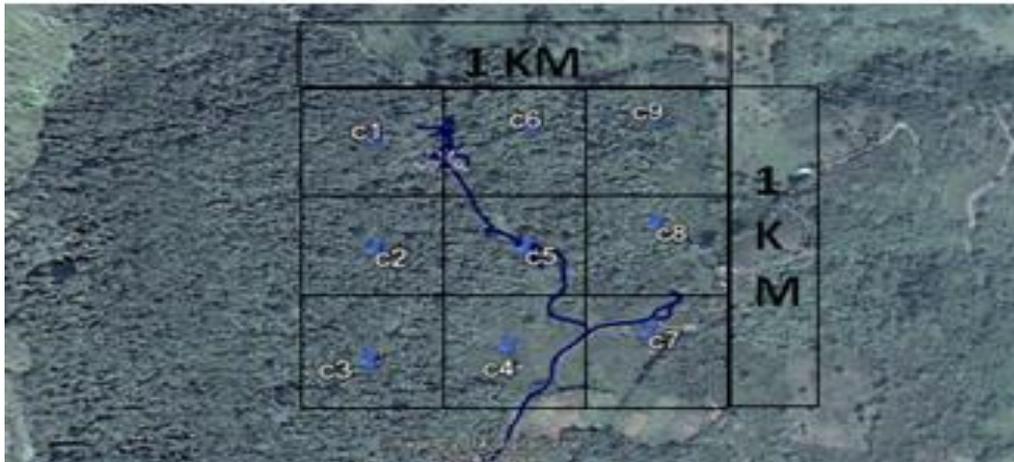


Figura 10. Representación del diseño de las muestras por medio de ventanas con sus respectivas 9 celdas. Donde las acciones naturales y humanas causan un mosaico de diferentes tipos de vegetación, las cuales son representativas del paisaje.

4.2.2 Métodos de Recolección para adultos de *Lutzomyia* spp.

Los muestreos entomológicos fueron realizados por nueve días consecutivos para cada uno de los biomas. A continuación se describen los métodos de colecta de adultos:

El primer método de muestreo, el uso de trampas: Dado que la mayoría de las especies que integran el género *Lutzomyia* son de hábitos crepusculares, se emplearon 3 trampas CDC (Center for Disease Control and Prevention) de luz blanca (Figura 4-3), ubicadas a los extremos de la celda, teniendo en cuenta la topografía de la zona y considerando las características de los posibles sitios de presencia de *Lutzomyia* spp. que pueden ser atraídas

por la luz (Fototrópicas), ubicadas a una altura de 1,30m desde el nivel del suelo e instaladas y operadas desde las 18:00 hasta las 06:00h, para un total de 12 horas de esfuerzo de muestreo por día. Cada trampa CDC posee un formato en donde se registra la fecha, hora, coordenadas, tipo de trampa, numero de ventana y numero de celda.



Figura 11. Método de colecta para adultos de *Lutzomyia*. Trampa CDC (Center for Disease Control and Prevention). Trampas CDC (Center for Disease Control and Prevention) de luz blanca: Composición de la malla tul: poliéster, diámetro ancho: 40 cm, altura 60 cm, ventilador con batería de 6 Voltios. Ilustración de la postura de la trampa CDC en campo.

Fotografía: ©Bolaños, R., 2014

Seguido de la trampa Shannon de luz blanca, que abarca un área de 1,50m desde el nivel del suelo, instalada en el centro de la celda, teniendo en cuenta la topografía de la zona y

considerando las características fototrópicas positivas de los flebotomíneos, además de ser atraídos por CO₂ proporcionado por el recolector usado como cebo para atraerlas a la trampa (Figura 4-4), operando desde las 18:00 horas hasta las 22:00 horas, separando el material recolectado por hora, para un total de 4 horas de esfuerzo de muestreo. Cada trampa Shannon posee un formato en donde se registra la fecha, hora, coordenadas, tipo de trampa, numero de ventana y numero de celda.



Figura 12. Método de colecta para adultos de *Lutzomyia*. Trampa Shannon. Trampa especializada en la captura de mosquitos vivos, ideal para muestreos nocturnos, el cebo principal es una fuente de luz blanca incorporada a la trampa. Trampa Shannon: 150x150x100cm. Ilustración trampa Shannon en campo.

Fotografía: ©Bolaños, R., 2014

El segundo método de muestreo es búsqueda activa, utilizando capturadores bucales de succión, que inicio a las 7:00 am hasta las 11: am, en microambientes específicos, sitios de

reposo de flebotomíneos (huecos, grietas, raíces y superficies de árboles, hojarasca, lugares húmedos y con abundante materia orgánica, entre otros), separando el material recolectado por hora (Figura 4-5). Los insectos recolectados con este método generalmente incluyen hembras grávidas y machos emergidos recientemente, indicando la posible presencia de sitios de cría naturales (Ferro et al., 1997, Forattini 1973).



Figura 13. Búsqueda activa manual con aspirador bucal y diferentes sitios de reposo. Para cada sitio de colecta se registrará los datos en el formato PLFC (Proyecto *Lutzomyia* Fase de Campo), teniendo la siguiente información: fecha y hora de captura, nombre del colector, tipo de trampa, registro fotográfico del área y una breve descripción del sitio de colecta (tipo de vegetación presencia de árboles caídos y refugios de roedores), además del registros de coordenadas geográficas, altitud, humedad relativa y temperatura. El formato PLFC está diseñado y dirigido con el propósito de obtener una representación de las especies del genero *Lutzomyia* con el bioma muestreado.

Fotografía: ©Bolaños, R., 2014

4.3 FASE DE LABORATORIO

4.3.1 Almacenado y Transporte de las especies de *Lutzomyia* recolectadas

Todas las muestras de flebotomíneos adultos, se conservaron en cadena de frío a una temperatura de -4°C , con sus respectivos códigos y formatos puestos en cada método de muestreo, (Trampa y búsqueda activa) para ser transportados al laboratorio de Entomología de la Universidad de Pamplona.

Una vez llegados las especies de *Lutzomyia* recolectados en campo al laboratorio de Entomología, se llevó a cabo el protocolo y registro de ingreso de material a la nevera. Posteriormente se separaron las especies del genero *Lutzomyia* de (Entomofauna asociada), separados por celda y trampa.

4.3.2 Procesamiento

4.3.2.1. Los flebotomíneos adultos seleccionados fueron sometidos a los siguientes procesos:

4.3.2.1.1. Fragmentación.

Bajo estereoscopio los especímenes del género *Lutzomyia*, fueron fragmentados haciendo una pequeña presión entre la cabeza y el tórax con ayuda del estilete, después de separada la cabeza, se hizo una pequeña incisión a nivel de los tres últimos segmentos del abdomen

con ayuda del estilete, haciendo presión en el abdomen, con el fin de separar el tórax y los segmentos proximales del abdomen, de los últimos tres segmentos del abdomen, (Figura 6-6) teniendo cuidado, para que el tórax conserve el par de alas y el par de patas.



Figura 14. Hembra de *Lutzomyia ovallesi* fragmentada. A. Cabeza; b. Tórax (Alas y Patas); c. Abdomen.

Fotografía: ©Bolaños, R., 2014

4.3.2.1.2. Aclaramiento.

Después de fragmentados, la cabeza y abdomen fueron sometidos al proceso de aclarado, en donde fueron puestos en láminas cóncavas de porcelana, con una cantidad de lactofenol, forradas con parafilm por 24 horas.



Figura 15. Estereoscopio usado para la identificación y fragmentación de *Lutzomyia*; b. Láminas cóncavas de porcelana, usadas en el proceso de aclarado; c. Gradillas de almacenado para tubos eppendorf.

Fotografía: ©Bolaños, R., 2014

4.3.2.1.3. Identificación taxonómica.

El tórax y segmentos proximales al abdomen, fueron almacenados en crioviales a -10°C para posteriores pruebas moleculares.

Pasadas las 24 horas de aclarado, se observó al microscopio, en donde el abdomen fue colocado en una lámina portaobjetos, para la determinación taxonómica de las diferentes especies de *Lutzomyia* basados en los caracteres morfológicos externos e internos, usando las claves taxonómicas (Young y Duncan, 1994; Galati, 2010; Ibáñez- Bernal, 1999). La terminología de las estructuras morfológicas y la ubicación de las diversas especies de

flebotomíneos en sus respectivos géneros, subgéneros y grupos, se basó primordialmente en criterios dados por Young & Duncan, (1994).

4.3.2.1.4. Almacenamiento

Determinado el espécimen con base en los caracteres morfológicos, la cabeza y el abdomen fueron almacenados en tubos eppendorf con alcohol al 80%, a una temperatura -10°C en cadena de frío, con un código respectivo, haciendo parte de la colección entomológica de la Universidad de Pamplona (Figura 4-9).



Figura 16. Almacenado de cabeza y segmentos terminales de abdomen en tubos eppendorf con alcohol al 80%.

Fotografía: ©Bolaños, R., 2014

a. Cada *Lutzomyia* tiene un respectivo código en donde se indica: número del individuo, fecha, trampa, celda, colector y determinador. Anexo de formato procesamiento biológico.

b. Se sistematizó la información de cada uno de las especies del género *Lutzomyias* en una base de datos.

c. Los ejemplares fueron depositados en la colección del Laboratorio de Entomología de la Universidad de Pamplona.



Figura 17. Almacenado de cabeza y segmentos terminales de abdomen en tubos eppendorf con alcohol al 80%, en cadena de frio a -10°C .

Fotografía: ©Bolaños, R., 2014

2.4 Análisis Estadísticos

2.4.1 Curvas de acumulación de especies

Para reconocer esfuerzo de muestreo para cada bioma se realizó curvas de acumulación de especies según el estimador no paramétrico de CHAO 1 para estudios donde el mayor es la

probabilidad de añadir nuevas especies al inventario (Jiménez y Hortal, 2003). Las curvas se realizaron usando el programa EstimateS 9.1.0 (Colwell, 2011).

2.4.2 Composición de la comunidad del género *Lutzomyia*

En cada zona de vida se midió la abundancia y riqueza de *Lutzomyia* con relación a los elementos del paisaje. La composición se midió mediante rango abundancia en logaritmo base 10, además de test pareado para ver diferencias significativas entre los biomas.

2.3.1.3 Diversidad de la comunidad del género *Lutzomyia*

Para determinar el cambio en la diversidad en las ventanas de muestreo y sus biomas, se realizaron perfiles de diversidad Alfa, utilizando los índices de diversidad de Shannon e inverso de Simpson (Rös et al., 2012), estos análisis se realizaron de acuerdo a los parámetros de Jost (2007). Se convirtió los índices comunes (Shannon y Simpson) en números efectivos llamada qD o N a través de la siguiente ecuación:

$${}^qD = \left(\sum_{i=1}^S p_i^q \right)^{1/(1-q)}$$

Donde qD es la diversidad. La ecuación tradicional del índice de entropía de Shannon se convierte fácilmente en una medida de diversidad al expresarlo como: ${}^1D = \exp(H')$ (Jost, 2006). Para la conversión se hizo uso del software SPADE (Species Prediction And Diversity Estimation, 2003).

2.3.1.4 Estructura de la comunidad del género *Lutzomyia*

Para determinar la estructura, se estimó los perfiles de diversidades Beta, utilizando los índices de diversidad de Shannon e inverso Simpson (Jost et al., 2012), mediante la siguiente formula de diversidades Alfa y Beta propuesta por Jost (2007):

$${}^0D_\gamma = S$$

$${}^0D_\alpha = (1/N)(S_1 + S_2 + \dots + S_j)$$

$${}^0D_\beta = {}^0D_\gamma / {}^0D_\alpha,$$

Donde S es el número de especies por unidad de muestreo

N es el número de unidades de muestreo 0D Alfa, es el número total de especies en todo el conjunto de unidades de muestreo. En la partición de diversidad verdadera de Shannon en Alfa y Beta, utilizaron las siguientes fórmulas utilizadas por Jost (2007):

$${}^1D_\gamma = \exp \left[\sum_{i=1}^S (p_i \ln p_i) \right]$$

$${}^1D_\alpha = \exp \left[-w_1 \sum_{i=1}^S (p_{i1} \ln p_{i1}) + -w_2 \sum_{i=1}^S (p_{i2} \ln p_{i2}) + \dots \right]$$

$$w_j = \text{ind}_j / \text{ind}_{\text{TOT}}$$

$${}^1D_\beta = {}^1D_\gamma / {}^1D_\alpha,$$

Donde w es el peso estadístico aportado por cada unidad de muestreo para la diversidad total (número de individuos en la comunidad M dividido por el número total de individuos).

También se estimará la diferencia entre las diversidades del orden dos (q=2) entre los sitios de muestreo y en cada una de las localidades.

Para reconocer la composición y su relación entre los biomas, se realizó análisis de conglomerados basados en índices de similitud de Bray-Curtis para expresar el grado de semejanza en composición de especies y sus abundancias para cada uno de los biomas y entre estos, usando el software InfoStat. También se estimó entre los biomas, tabla de datos cruzados que hace referencia a especies compartidas, especies únicas, porcentaje de similitud y complementariedad.

5. RESULTADOS

5.1. Caracterización de la Comunidad de *Lutzomyia*

Se recolectaron en total 5.958 flebotomíneos (5.187 ♀ -y 766 ♂), todos del género *Lutzomyia* en los tres biomas muestreados (bosque seco, bosque transición y bosque subandino), en la cuenca del Río Pamplonita (Departamento de Norte de Santander, Colombia). Las especies colectadas fueron identificadas por taxonomía clásica y en su mayoría pertenecieron al grupo Verrucarum, y correspondieron a: *Lutzomyia* (*Serie townsendi*) sp, *Lutzomyia Townsendi* (Ortiz, 1969) *Lutzomyia ovallesi* (Ortiz, 1952), *Lutzomyia spinicrassa* (Morales, Osorno, Osorno & Muñoz, 1969), *Lutzomyia evansi* (Nuñez-Tovar, 1924), *Lutzomyia (serrana)* sp (Damasceno & Arouck, 1949), *Lutzomyia nuneztovari* (Ortiz, 1954) y *Lutzomyia pia* (Fairchild & Hertig, 1961). Otras especies colectadas fueron: *Lutzomyia dubitans* (Sherlock, 1962), (Subgénero *Migonei*) *Lutzomyia hartmanni* (Fairchild & Hertig, 1957) (Subgénero *Helcocyrtomyia*) y *Lutzomyia shannoni* (Dyar, 1929) (Subgénero *Psathyromyia*) (Tabla 1 y Tabla 2).

Tabla 1. Especies de *Lutzomyia* colectadas en la cuenca del Río Pamplonita.

Género	Subgénero/ Grupo	Serie	Especie
<i>Lutzomyia</i>	<i>Migonei</i>	<i>dubitans</i>	<i>Lutzomyia dubitans</i>

<i>Lutzomyia</i>	<i>Helcocyrtomyia</i>	<i>sanguinaria</i>	<i>hartmanni</i>
<i>Lutzomyia</i>	<i>Verrucarum</i>	<i>serrana</i>	<i>Lutzomyia serrana</i>
<i>Lutzomyia</i>	<i>Verrucarum</i>	<i>townsendi</i>	<i>Lutzomyia</i> <i>(townsendi) sp</i>
<i>Lutzomyia</i>	<i>Verrucarum</i>	<i>townsendi</i>	<i>townsendi</i>
<i>Lutzomyia</i>	<i>Verrucarum</i>	<i>evansi</i>	<i>Lutzomyia evansi</i>
<i>Lutzomyia</i>	<i>Verrucarum</i>	<i>Sin serie</i>	<i>Lutzomyia</i> <i>nuneztovari</i>
<i>Lutzomyia</i>	<i>Verrucarum</i>	<i>evansi</i>	<i>Lutzomyia ovallesi</i>
<i>Lutzomyia</i>	<i>Verrucarum</i>	<i>pia</i>	<i>Lutzomyia pia</i>
<i>Lutzomyia</i>	<i>Verrucarum</i>	<i>townsendi</i>	<i>Lutzomyia</i> <i>spinicrassa</i>
<i>Lutzomyia</i>	<i>Psathyromyia</i>		<i>Lutzomyia</i> <i>shannoni</i>

Tabla 2. Especies del género *Lutzomyia* encontradas en los tres biomas de la cuenca del Río Pamplonita.

Especies	Bosque Seco	Total (%)	Bosque Subandino	Total (%)	Bosque Transición	Total (%)	Total general	Total General (%)
<i>L. hartmanni</i>	6	0.59	41	1.95	6	0.21	53	0.9

<i>L.</i> (<i>townsendi</i>) <i>sp</i>	768	75	1258	59.85	1382	48.87	3408	57,3
<i>L. dubitans</i>	0	0	0	0	4	0.14	4	0,07
<i>L. evansi</i>	161	15.7	0	0	0		161	2.7
<i>L.</i> <i>nuneztovari</i>	3	0.29	8	0.38	18	0.64	29	0.49
<i>L. ovallesi</i>	34	3.32	361	17.17	1176	41.58	1571	26.4
<i>L. pia</i>	0	0	0		2	0.08	2	0.04
<i>L. serrana</i>	1	0.09	33	1.57	51	1.8	85	1.43
<i>L.</i> <i>spinicrassa</i>	2	0.19	75	3.57	122	4.31	199	3.34
<i>L.</i> <i>townsendi</i>	46	4.50	325	15.46	67	2.37	438	7.36
<i>L. shannoni</i>	2	0.19	1	0.05	0	0	3	0.05
Total general	1023	100	2102	100	2828	100	5953	100

5.2 Diversidad de la comunidad de *Lutzomyia* spp.

5.2.1 Riqueza de Especies de la comunidad de *Lutzomyia*

El análisis de las curvas de acumulación de especies obtenidas en los tres biomas muestreados en la cuenca del Río Pamplonita, indicó que la recolecta de individuos fue representativa en el periodo de estudio para la comunidad de *Lutzomyia*, el esfuerzo de muestreo de 27 días obtuvo el 99% de las especies esperadas, según el estimador no

paramétrico Chao 1 (Figura 18a). Asimismo, se evidenció que en las curvas de acumulación separadas por cada bioma, corrobora que la recolecta de individuos fue significativa en bosque seco con un 99% de las especies esperadas según el estimador no paramétrico Chao 1 (Figura 18b), de igual manera para los biomas bosque subandino y bosque transición con el 99 % de especies esperadas (Figura 18c y 18d).

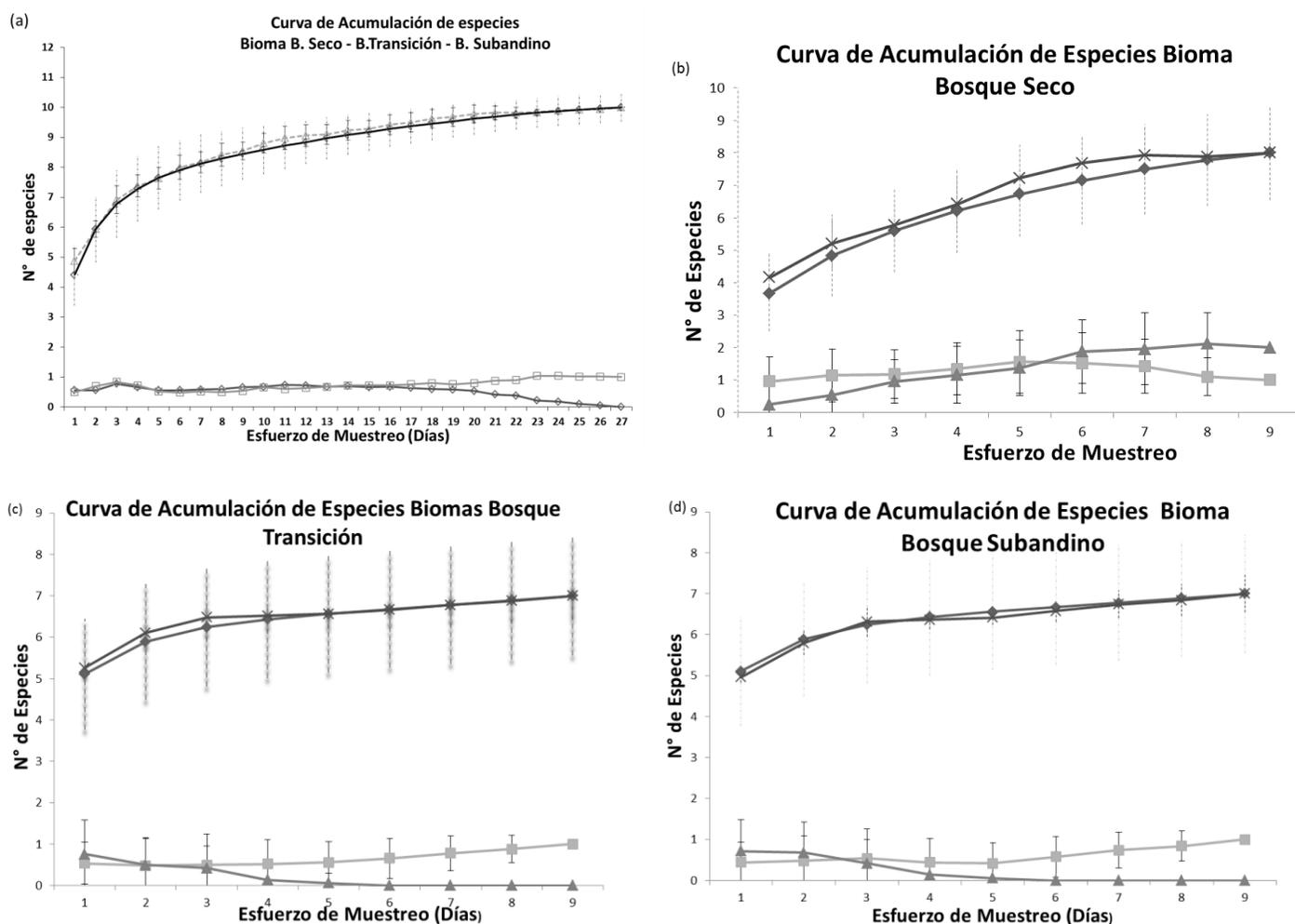
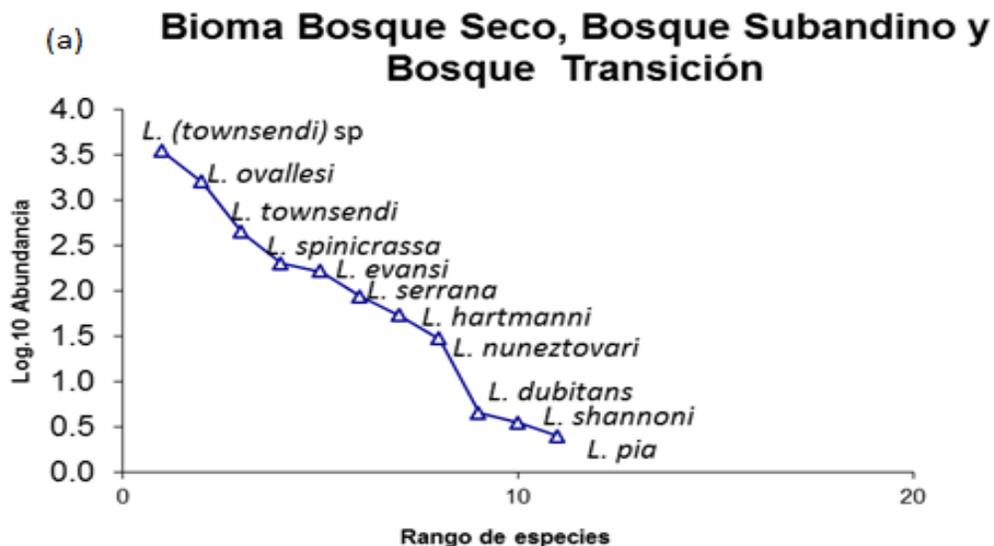


Figura 18. (a) Curva de acumulación de especies en los tres biomas (B. Seco, B. Transición, B. Subandino) (b) Curva de acumulación de especies en bioma bosque seco, (c) Curva de acumulación de especies en bioma bosque transición, (d) Curva de acumulación de especies en bioma bosque subandino. en la cuenca del Río Pamplonita, Norte de Santander, Colombia.

5.2.2 Distribución de Abundancia de la Comunidad de *Lutzomyia*

La curva de distribución de abundancia de los tres biomas de la cuenca del Río Pamplonita, evidenció que la especie *L. (Townsendi)* sp. es la más dominante en los tres biomas muestreados seguido de *L. ovallesi*, también se observaron especies poco comunes como *L. shannoni* y *L. pia* (figura 19a). A nivel de cada bioma se corroboró que la especie más abundante fue *L. (townsendi)* sp, seguido de la especies *L. ovallesi* en los biomas bosque subandino y bosque transición, a diferencia de *L. evansi* registrada en bioma bosque seco, también se encontraron especies poco comunes como *L. serrana* para bosque seco, *L. pia* en bosque transición y *L. shannoni* en bosque subandino (figura 19b).



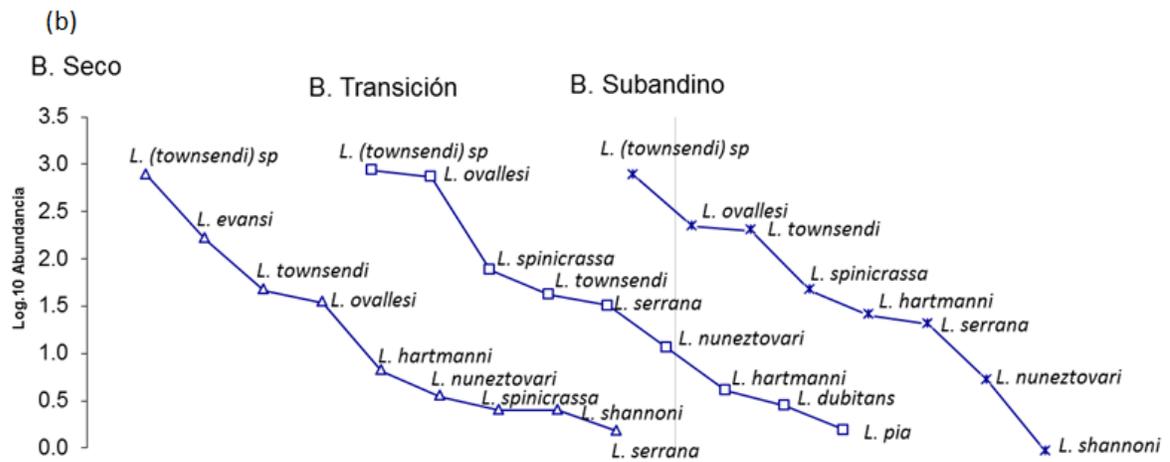


Figura 19. (a) Distribución de abundancias a lo largo de la cuenca del Río Pamplonita (b) Distribución de abundancias por cada bioma muestreado (Bosque Seco, Bosque Transición, Bosque Subandino) en la cuenca del Río Pamplonita, Norte de Santander, Colombia.

5.2.3 Estimación de Diversidad de la Comunidad de *Lutzomyia*

Al realizar los perfiles de diversidad Alfa, se determinó que los biomas bosque seco y bosque transición presentan la mayor riqueza con un valor de 9 especies y la estación con menor riqueza en comparación con los demás biomas fue bosque subandino con 8 especies (figura 5-5a, índice Q_0). Los biomas bosque transición y bosque subandino presentan la mayor diversidad de Shannon con un valor de 3,2, seguido de bosque transición con 2,91 (figura 5.5a, índice Q_1), la diversidad de Simpson presenta el mismo valor en bosque transición y bosque subandino de 2,4 a diferencia de bosque seco con un valor de 1,6 (figura 5-5a, índice Q_2) (Figura 20).

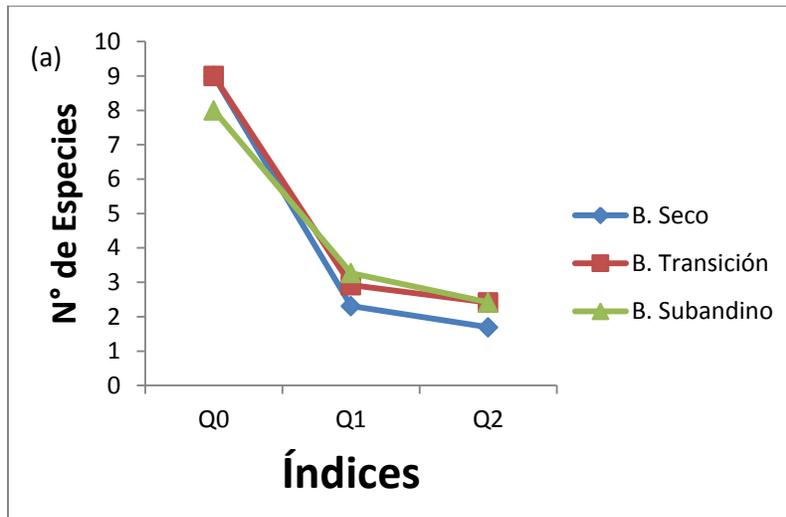


Figura 20. Perfiles de diversidad alfa, riqueza (índice Q0), diversidad de Shannon (índice Q1) y diversidad de Simpson (índice Q2). En la cuenca del Río Pamplonita, Norte de Santander, Colombia.

5.3 Estructura y Composición de la comunidad de *Lutzomyia*

5.3.1 Estructura de la Comunidad de *Lutzomyia*

Los perfiles de diversidad Beta, se observa que los biomas bosque seco y bosque transición presentan dos comunidades definidas a diferencia de bosque subandino que solo presenta una comunidad (figura 21).

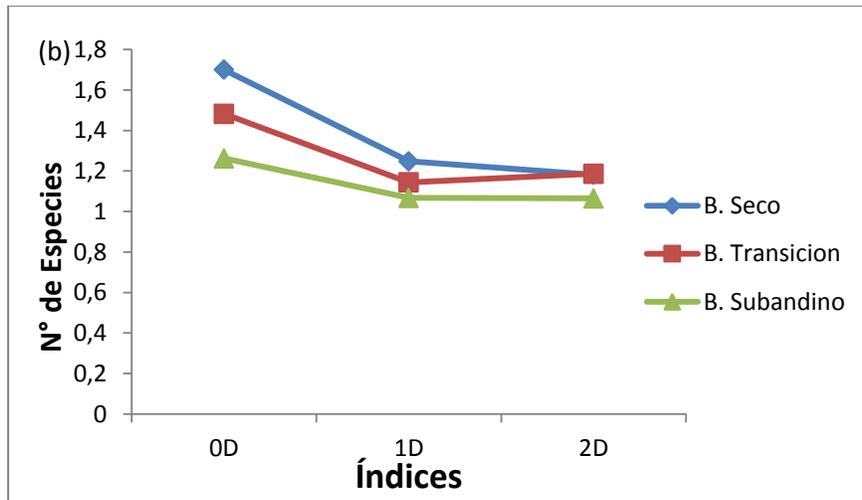
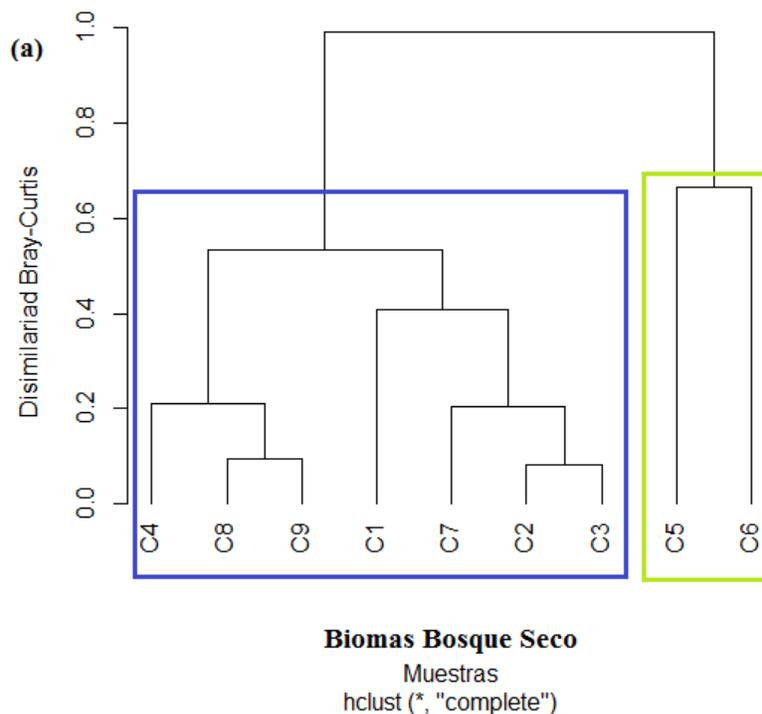
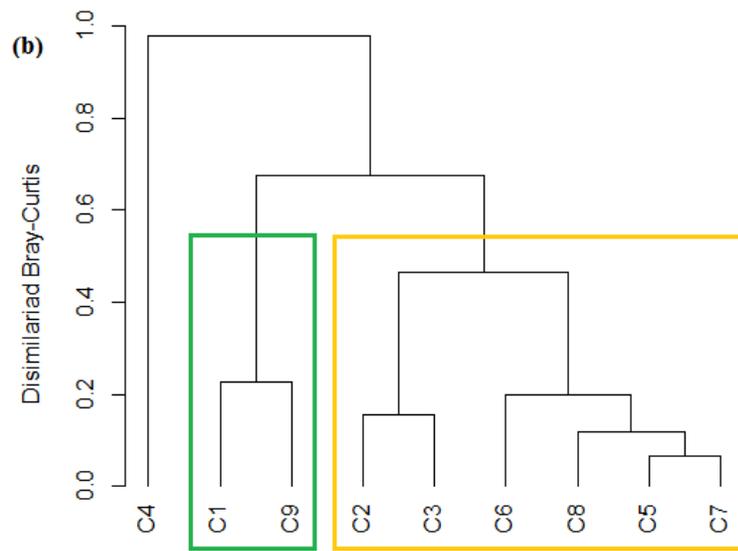


Figura 21. Perfiles de diversidad beta, número de comunidades (índice Beta0), diversidad de Shannon (índice Beta1) y diversidad de Simpson (índice Beta2). Cuenca del Río Pamplonita, Norte de Santander, Colombia.

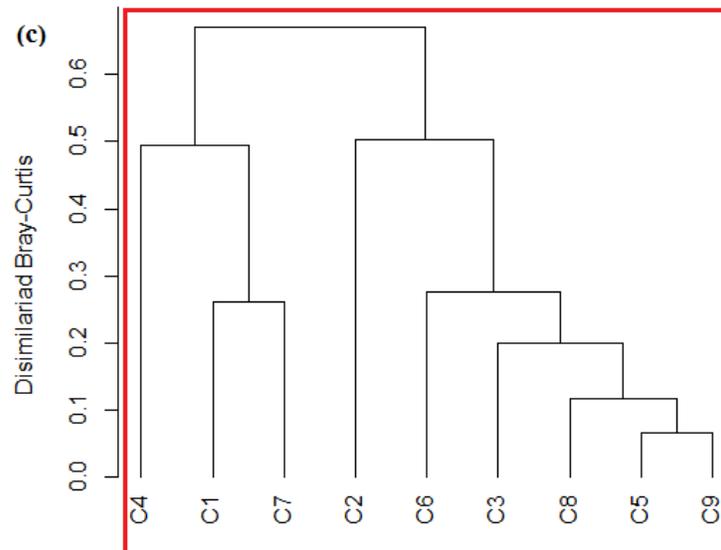
La estructura de la comunidad de *Lutzomyia* en los biomas muestreados mediante el índice de Bray-Curtis con tablas de abundancia evidencia el agrupamiento de dos comunidades definidas en los biomas bosque seco y bosque transición, (Figura 22a y 22b), así mismo se comprueba que el bosque subandino presentó una sola comunidad (Figura 22c).





Bioma Bosque Transición

Muestras
hclust (*, "complete")



Bioma Bosque Subandino

Muestras
hclust (*, "complete")

Figura 22. Análisis conglomerado (método Bray-Curtis) en los tres biomas muestreados (a) Bosque Seco, (b) Bosque Transición y (c) Bosque Subandino, en la cuenca del Río Pamplonita, Norte de Santander, Colombia.

El agrupamiento de los tres biomas muestreados evidencia que los biomas bosque seco y bosque subandino presentan una mayor cantidad de especies compartidas entre el par de hábitats y bosque transición presenta especies con una distribución restringida o especies propias de dicho hábitat. (Figura 23)

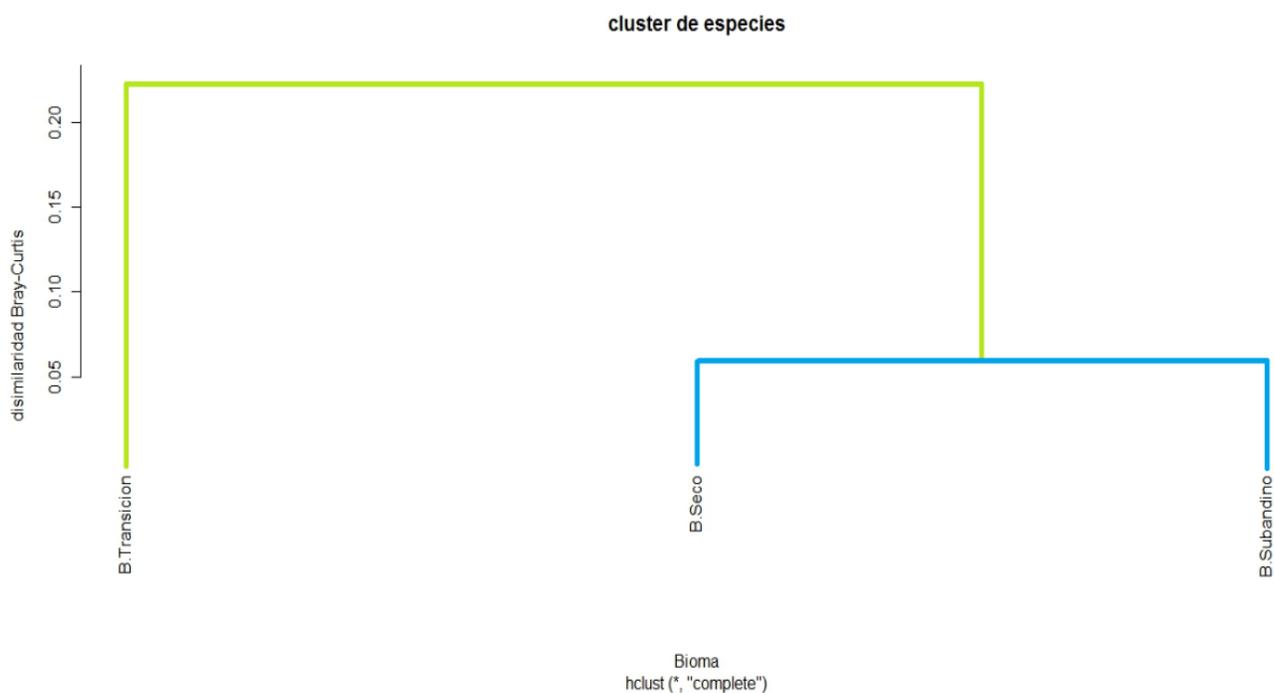


Figura 23. Análisis conglomerado (método Bray-Curtis) en los tres biomas muestreados (Bosque Seco, Bosque Transición y Bosque Subandino), en la cuenca del Río Pamplonita, Norte de Santander, Colombia.

El agrupamiento de las especies que se encuentran en los diferentes tipos de vegetación muestra dos grupos, el primero en bosque seco (matorral y potrero) el cual es diferente a las especies observadas en los demás tipos de vegetación de los bioma bosque transición y bosque subandino (figura 24).

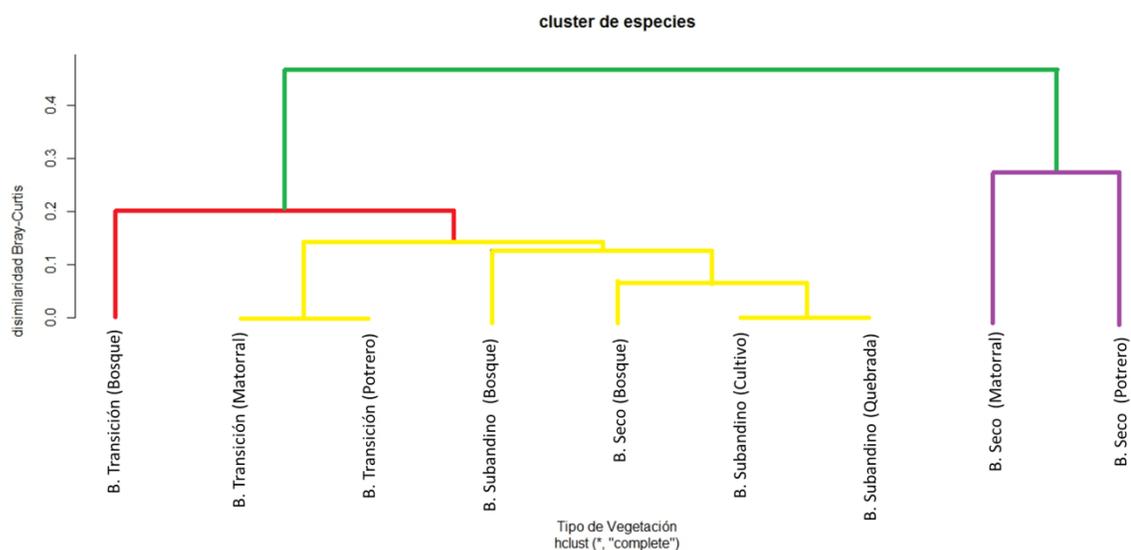


Figura 24. Análisis conglomerado (método Bray-Curtis) en los tres biomas (Bosque Seco, Bosque Subandino, Bioma Transición) con los diferentes tipos de vegetación, en la cuenca del Río Pamplonita, Norte de Santander, Colombia.

5.3.2 Composición de la comunidad de *Lutzomyia* en los tres métodos de muestreo (CDC, Shannon, Búsqueda Activa)

Al comparar los tres métodos de muestreo (CDC, Shannon, Búsqueda Activa) de especies de *Lutzomyia* obtenidas en los tres biomas muestreados en la cuenca del Río Pamplonita indicó que el método de recolecta trampa Shannon presento mayor cantidad de individuos a

lo largo de todo el periodo de muestreo en los tres biomas, seguido del uso de trampa CDC y búsqueda activa (B.A) (Figura 25).

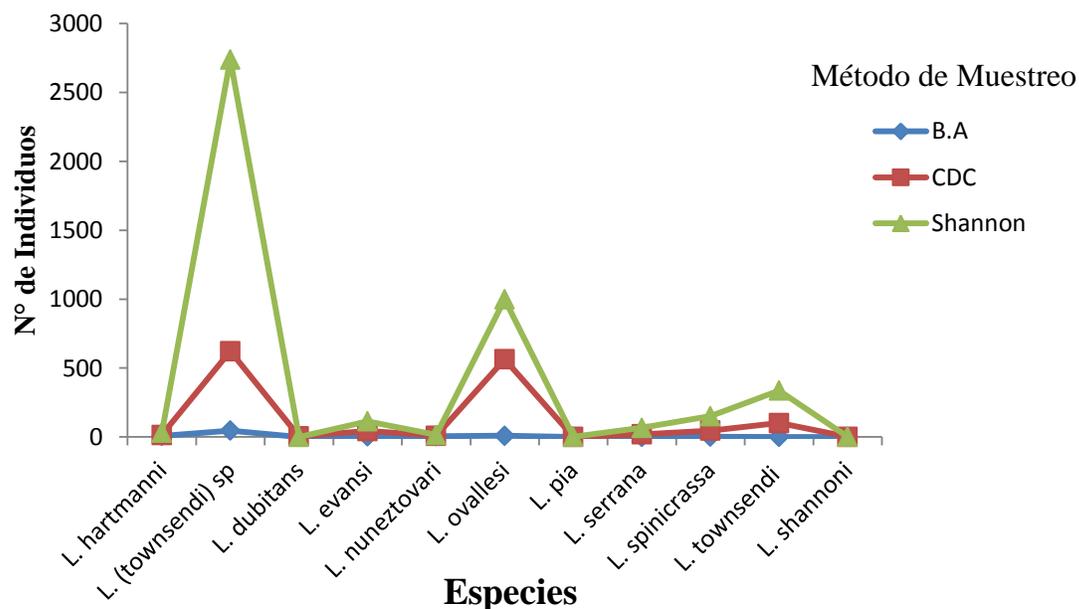


Figura 25. Individuos recolectados mediante los diferentes métodos de muestreo (Trampa CDC, trampa Shannon y Búsqueda Activa), en la cuenca del Río Pamplonita. Norte de Santander, Colombia.

La distribución de especies de *Lutzomyia* en los tres biomas muestreados (Bosque Seco, Bosque Transición, Bosque Subandino) evidencio que la mayor cantidad de individuos recolectados fueron hembras de *L. (townsendi) sp* y *L. ovallesi* empleando los tres métodos de captura (Trampa CDC, trampa Shannon y Búsqueda Activa) (Figura 26).

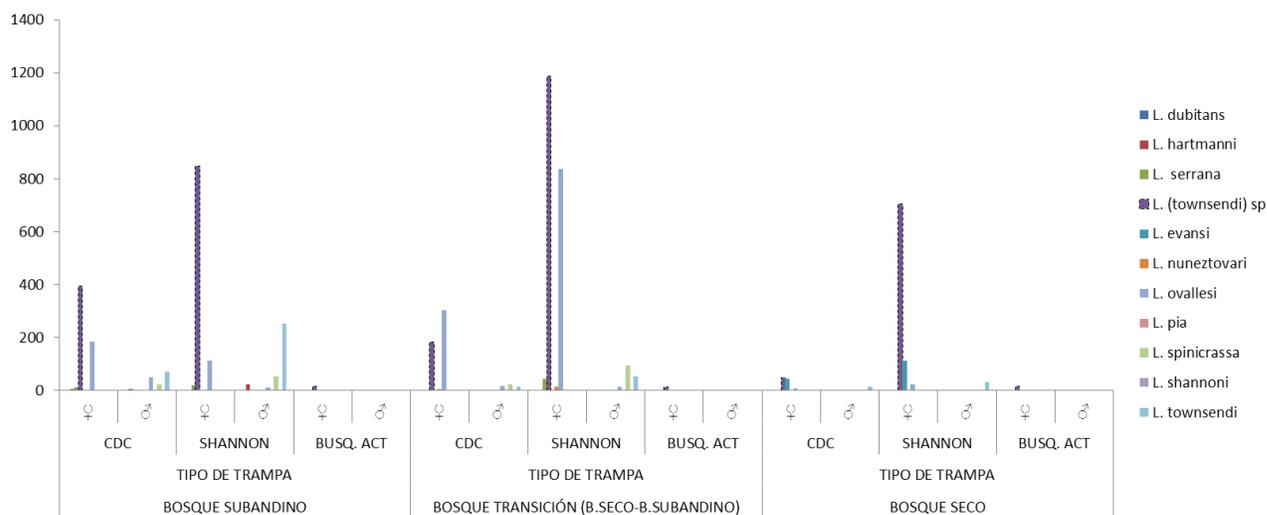


Figura 26. Caracterización de biomas muestreado (Bosque Subandino, Bosque Transición, Bosque Seco), separando el método de muestreo (Trampa CDC, trampa Shannon y Búsqueda Activa), en la cuenca del Río Pamplonita. Norte de Santander, Colombia.

El análisis de varianza paramétrico HSD Fisher demostró diferencias significativas en el número de abundancias (Abundancia B. Subandino H: 57,62; df: 24;p: 0,0001, Transición H: 117,55; df: 24; p:0,001, B. Seco H: 47,60; df:24; p:0,001), De acuerdo, con el análisis de comparaciones múltiples pareadas, mediante el test de Dunn, se encontraron diferencias para los diferentes métodos de muestreo donde se forma un grupo en trampa Shannon, y el otro en trampa CDC y búsqueda activa en bioma bosque transición, en bioma bosque subandino se encontraron diferencia en los tres métodos de muestreo formándose tres grupos lo cual indico que cada método de muestreo se considera un grupo diferente, a diferencia del bioma bosque seco que presenta el mismo patrón del bioma bosque transición

donde se diferencian dos grupos de acuerdo a los diferentes métodos de muestreo, el primero para la trampa Shannon y el segundo para la trampa CDC y búsqueda activa.(figura 27a).

El análisis de varianza no paramétrico de HSD Fisher no mostró diferencias significativas en la riqueza de especies, debido a que no se presentan diferencias para los tres métodos de muestreo, por lo tanto se observó un solo grupo en cada uno de los biomas muestreados (Figura 27b).

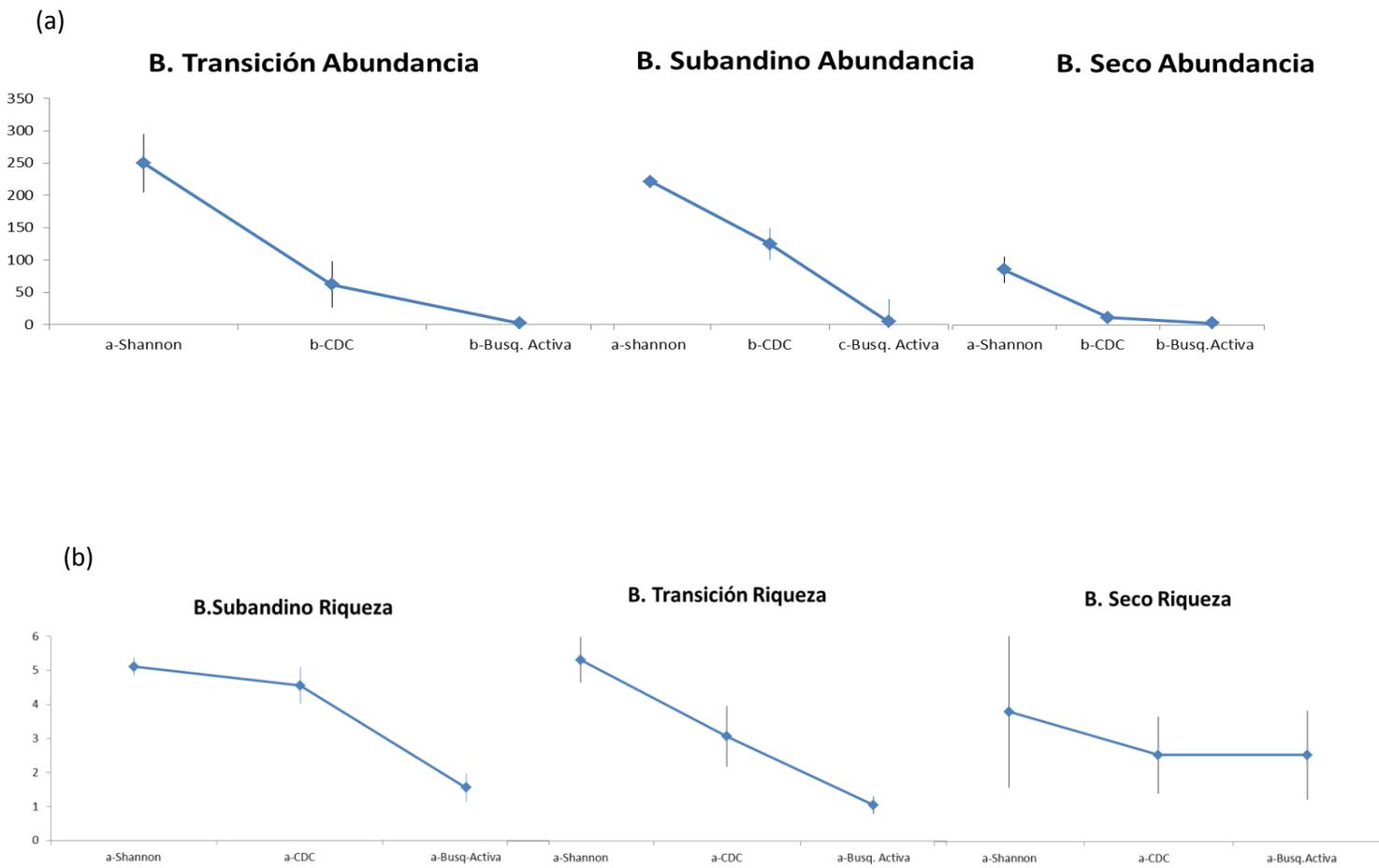


Figura 27. El análisis de varianza no paramétrico de HSD Fisher (a) Abundancia de especies en cada uno de los biomas muestreados (B. Seco, B. Transición, B. Subandino) (b) Riqueza de especies en los biomas muestreados (B. Seco, B. Transición, B. Subandino), en la cuenca del Río Pamplonita, Norte de Santander, Colombia.

6. DISCUSIÓN

6.1 Caracterización de la Comunidad de *Lutzomyia*

El registro de ocho especies del grupo *Verrucarum* en un rango altitudinal entre los 300-2100 msnm constituye un resultado interesante desde la perspectiva de la filogeografía y biogeografía de este grupo, dado que el grupo *Verrucarum* se caracteriza por ser altamente diverso en el noroccidente de Suramérica y con distribución andina de especies endémicas descritas para Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia (Young y Duncan 1994; Bejarano *et al.* 2003a; Bejarano *et al.* 2003b). Considerándose que la especiación del grupo *Verrucarum* es consecuencia de cambios climáticos caracterizados por periodos cíclicos de glaciación de glaciación durante los últimos 2,4 millones de años, que han originado el aislamiento de poblaciones ancestrales de flebotomíneos en refugios de bosque húmedo desde el periodo cuaternario (Bejarano *et al.* 2003a), la limitada capacidad de vuelo-dispersión (Alexander *et al.* 1992b; Morrison *et al.* 1993; Conn & Mirabello 2007), la restricción en el flujo de genes-migración de poblaciones (Hoyos *et al.* 2012), y en consecuencia la fragmentación alopatrica de especies, como se ha sugerido para la serie *townsendi* (Bejarano *et al.* 2003a). Las evidencias palinológicas precisan la fluctuación altitudinal de los bosques andinos de limites ubicados a 3300-3600 m hasta >2000 msnm (Van der Hammen 2000). En este sentido los diferentes bosques que recorren la cuenca del Río Pamplonita constituyen un escenario destacado para estudiar la diversificación evolutiva y nicho ecológico de las

diferentes especies encontradas del grupo verrucarum - género *Lutzomyia*. *L. townsendi* constituye un registro adicional para la diversidad reportada para el grupo *Verrucarum* y el género *Lutzomyia*; esta especie, habita sobre la Cordillera Occidental entre los 1450-1799 msnm (Bejarano *et al.* 2003b), ampliando su rango altitudinal a 2150 metros en nuestra estudio, y ha sido considerada como probable vector de *Le. braziliensis*, en el departamento de Valle del Cauca (Young y Duncan 1994; Bejarano *et al.* 2003a; Bejarano *et al.* 2003b), dada las evidencias experimentales de competencia vectorial para este patógeno (Carnevali & Scorza 1976; Carnevali & Scorza 1982; Scorza & Delgado 1982).

Un considerable número de especies identificadas aparentan una asociación a diversos hábitats dentro de la región andina y una apreciable concentración de diversidad relacionada a ecosistemas cafeteros (Alexander *et al.* 1992a; Alexander *et al.* 1992b; Bejarano *et al.* 2003a; Bejarano *et al.* 2003b; Contreras *et al.* 2014a), adicionalmente la considerable evidencia epidemiológica del rol vectorial en la transmisión de Leishmaniasis cutánea, constituye un factor de riesgo en ecosistemas agropecuarios, incluso, especies como *L. ovallesi* y *L. spinicrassa* evidencian una alta capacidad de adaptación a ambientes antropogénicos, peri-urbanos, urbanos, y contribuyen a la aparición de casos urbanos de leishmaniasis cutánea (Bejarano *et al.* 2002; Lambraño *et al.* 2012). En bosques secos de la Costa Atlántica se ha descrito la presencia de una o dos especies del grupo *verrucarum* (Travi *et al.* 2002; Romero *et al.* 2013; Vivero *et al.* 2013) y en bosques húmedos andinos se registra hasta la presencia de seis o más especies (Bejarano *et al.* 2003b; Contreras *et al.* 2014a), como en nuestra zona de estudio (Tabla 2), algunas de ellas con una apreciable similitud morfológica que dificulta su identificación y en consecuencia determinar la

importancia epidemiológica de especies similares con distribución simpátrica (Bejarano *et al.* 2003a).

La alta abundancia de *L. ovallesi*, puede ser reflejo de la disponibilidad de microambientes favorables para el desarrollo y cría de inmaduros, recientemente se ha descrito el aislamiento de larvas de esta especie de hojarasca en áreas relativamente expuestas bajo efecto directo de la luz, desecación y precipitación en un bosque de transición (húmedo-seco) en Colosó (Sucre) (Vivero *et al.* 2013), considerando que especies antropofílicas presentan una preferencia a la hojarasca como sitio de cría en ambientes silvestres por la composición externa, textura y estabilidad que permiten el desarrollo de abundantes poblaciones de flebotómíneos (Chaniotis *et al.* 1974; Rutledge & Ellenwood 1975). Este rasgo ecológico adquiere notable transcendencia cuando se observa que una de las principales consecuencias de la deforestación de bosques y áreas conservadas para la construcción de hidroeléctricas, vías y adecuación agropecuaria, es el favorecimiento de sitios de cría con abundantes sustratos y materia orgánica vegetal en descomposición, la presencia de animales domésticos como oferta alimenticia abundante y especies como *L. evansi* y *L. ovallesi* con ciclos de vida más cortos (39-42/49-64 días respectivamente) (Montoya-Lerma *et al.* 1998; Cabrera *et al.* 1999) en comparación con otros miembros del grupo *Verrucarum* (94-97 días) (Neira *et al.* 1998); todos estos factores sugieren una rápida tendencia adaptativa a la colonización e invasión de nuevos hábitats en ecosistemas modificados antrópicamente (Valderrama *et al.* 2011; Ramos *et al.* 2014), donde el inadecuado manejo de residuos orgánicos y las precarias condiciones sanitarias crean condiciones atractivas para roedores y marsupiales - reservorios naturales de *Leishmania*

spp.- (Guerra *et al.* 2007) iniciando la emergencia o brotes epidémicos de Leishmaniasis (Ramos *et al.* 2014) y urbanizando la enfermedad (Bejarano *et al.* 2002; Lambraño *et al.* 2012). Algunos estudios indican la importancia del peridomicilio en los nuevos asentamientos humanos por la presencia de granjas con galpones de gallinas, ganado bovino, cerdos y caballos (Hoyos *et al.* 2013), y las comunidades de flebotomíneos residentes en fragmentos de bosque cercano, influenciando la dinámica de transmisión parasitaria para *Leishmania* spp. por cambios en el acceso diferencial a reservorios y hospederos (Neitzke-Abreu *et al.* 2012).

L. hartmanni, es un registro diferente al grupo *Verrucarum*; ubicada en el subgénero *Helcocyrtomyia* – serie *sanguinaria* (Galati 2003) y con significativa presencia en ecosistemas cafeteros y en bosques silvestres asociada a madrigueras de animales y árboles de gran porte (Duque *et al.* 2004; Contreras *et al.* 2014a); se encuentra implicada en la transmisión de *Le. colombiensis*, agente etiológico de Leishmaniasis cutánea (Kreutzer *et al.* 1991). Esta especie es considerada de hábitos antropofílicos y vector sospechoso de *Le. panamensis* en Ecuador (Alexander *et al.* 1992b), también fue encontrada infectada naturalmente con *Le. equatorensis* (Furuya *et al.* 1998) y *Leishmania* spp (Kato *et al.* 2007) (Tabla 3 y tabla4).

Desde el punto de vista epidemiológico, *L. nuneztovari* es antropofílica y aunque en Colombia esta especie no ha sido involucrada como vector principal en ningún foco de leishmaniasis cutánea, *L. nuneztovari* ha mostrado ser susceptible a la infección con *Le. braziliensis* bajo condiciones experimentales (Santamaría *et al.* 1999) por lo que es tratada

como probable vector secundario, dado que su baja densidad no permitiría el mantenimiento del ciclo de transmisión en ausencia de otros vectores (Santamaría et al. 1999). *L. nuneztovari* es considerada en Bolivia como vector de *Le. amazonensis*, *Le. braziliensis* y *Le. lainsoni* (Torrez et al. 1998; Martínez et al. 1999; Bastrenta et al. 2002). En Bolivia, la subespecie *L. nuneztovari anglesi* es considerada vector de *Le. braziliensis* en el foco de Las Yungas (Torrez et al. 1989; Torrez et al. 1998) y de *Le. amazonensis* en Cajuata (Martínez et al. 1999) (Tabla 3 y tabla4).

L. evansi encontrada solo en bosque seco, evidencio su reconocimiento antropofílico y su adaptación al habita domiciliar y peridomiciliar, evidenciando su excelente capacidad de adaptación a ambientes modificados por el hombre en áreas urbanas y periurbanas, además de encontrarse en bosques no intervenidos, ponen de manifiesto la adaptación a ambientes humanos, convirtiendo a la vivienda y las áreas aledañas (Vélez et al., 1991; Pardo, 2006; Santamaria et al., 2006), lo cual es consistente con lo informado por otros miembros del género *Lutzomyia* (Marzorchí & Marzorchí 1994), respaldando la hipótesis que plantea que la gran adaptabilidad de esta especie favorece es establecimiento de focos de Leishamianiasis visceral (Travi et al., 2002)

La especie *Lu. pia* se encontró en menor número y es comparable con los muestreos realizados en el departamento anteriormente por Tesh et al. (1987), Warburg et al. (1991), Alexander et al. (1992), Barreto et al. (1997) y Barreto et al. (2006). Hasta la fecha, *Lutzomyia pia* no ha sido directamente incriminada con la transmisión de agentes patógenos a el hombre. Sin embargo se destaca por su tendencia antropofílica (Zeledón et

al. 1985; Alexander et al. 1992; Agudelo et al. 2002; Bejarano et al. 2004). Existe una fuerte evidencia de un posible papel vectorial de *Lu. pia* en Colombia, ya que ha demostrado ser susceptible a *Le. braziliensis* (Warburg et al. 1991). Las hembras infectadas experimentalmente son potencialmente capaces de transmitir el parásito por la picadura (Killick-Kendrick, 1990). En cuanto a su antropofilia, *L. pia*, se ha observado sutiles diferencias de comportamiento de picadura (Warburg et al. 1991; Zuleta, 2002).

L. shannoni es de hábitos antropofílicos (Jiménez, 2000), fue infectado experimentalmente y tiene la capacidad de mantener la infección de *Leishmania* sp. (Lawyer y Young, 1987). En Colombia, Ferro et al (1998) indican que experimentalmente *L. shannoni* permite el desarrollo de al menos tres especies de parásitos de *Leishmania*, *Leishmania* (*Viannia*) mexicana Biagi 1953, *Le. panamensis* y *Leishmania infantum* Nicolle 1908. En Estados Unidos *L. shannoni* es un vector comprobado de la leishmaniasis visceral y del virus de la estomatitis vesicular (VSV) serotipo Nueva Jersey (Lawyer y Young, 1987; Comer et al. 1994) (Tabla 4-7).

La presencia de una comunidad representada por el grupo *Verrucarum* del género *Lutzomyia* con antecedentes en la transmisión de protozoos responsables de la forma cutánea de la leishmaniasis, constituye un patrón de diversidad interesante para la biogeografía y filogenética de este grupo de especies en la cuenca del Rio Pamplonita, permitiendo plantear preguntas referentes sobre la variación en estructura y composición de las especies presentes en el rango altitudinal de la cuenca (300- 2100 mts), la posible ecología de la transmisión de la Leishmaniasis en esta zona, adaptación a ecosistemas

humanos artificiales y la influencia que ejercen las modificaciones del paisaje en aspectos que favorecen la domiciliación de poblaciones de flebotomíneos competentes a *Leishmania* spp., la invasión de reservorios, la presencia de animales domésticos y hospederos susceptibles, que tienen en consecuencia la emergencia de brotes epidémicos de Leishmaniasis como consecuencia convergente de la ecología de la enfermedad en los ecosistemas humanos.

6.2 Diversidad de la comunidad de *Lutzomyia* spp.

La riqueza de especies de la comunidad de *Lutzomyia* se ve reflejado en el esfuerzo de muestreo, el cual fue el adecuado reportándose 11 especies observadas, siendo un 99% para los tres biomas muestreados (Figura 5-1). La riqueza de especies que se reporta para bioma bosque seco y bosque transición, es mayor en relación con trabajos realizados (Bejarano, 2006, Alexander *et al.*, 2001, Galvis *et al.*, 2013), siendo estas las especies reportadas para estas altitudes, indica la gran riqueza que alberga este tipo de ecosistemas, pero a diferencia de las localidades donde se han recolectado anteriormente, estos ecosistemas no se relacionan con los tipos de vegetación y zonas de vida que se reportan en el presente trabajo, probablemente debido a que estos estudios son enfocados a focos de presencia de vectores de importancia médica y su relación con la enfermedad Leishmaniasis, tomando como sitio de estudios áreas asociadas a zonas periurbanas, urbanas, intradomicilio, peridomicilio, por el contrario nuestra área de estudio está relacionada con la mayor representatividad de bosque nativo. Dichos estudios no superan los 1400 msnm, para el

presente trabajo se llegó a una altura de 2100 msnm que corresponde a bosque subandino con remanentes de bosque nativo asociados a quebradas, potreros y cultivos.

La distribución de abundancia de especies, evidencia la mayor abundancia en el grupo Verrucarum liderado por *L. (townsendi) spp.* seguida de *L. ovallesi* y *L. townsendi* marcados por una gran dominancia en los tres biomas muestreados, siendo una clara evidencia de que estas especies han aprovechado los factores abióticos que más repercusión tienen en los cambios de la dinámica poblacional como son la humedad relativa, la temperatura, las precipitaciones y la altitud (Bejarano *et al.* 2003; Bejarano *et al.* 2004; Vergara *et al.* 2008). Por el contrario las especies rara o poco comunes se evidencio la presencia de *L. pia* y *L. dubitans* que se reportan para el bioma bosque transición en relación con trabajos como (Bejarano, 2006 y Galvis *et al.*, 2013), a diferencia de *L. shannoni* que se reportó en bioma bosque seco y bosque subandino (Figura 19a).

A nivel de cada bioma se corrobora que la especie más abundante fue *L. (townsendi) sp*, seguido de la especies *L. ovallesi* en los biomas bosque subandino y bosque transición, a diferencia de *L. evansi* la cual registra el mayor número de especímenes para el bioma bosque seco, también se encontraron especies poco comunes como *L. serrana* para bosque seco, *L. pia* en bosque transición y *L. shannoni* en bosque subandino (figura 19b).

La baja densidad de *L. spinicrassa* en bioma bosque seco, puede deberse a que esta especie se puede relacionar con zonas o biomas con mayor altura (Figura 19b) (Montoya-Lerma y Ferro 1999, Ferro *et al*, 2005), al comparase con el estudio realizado en bioma bosque seco tropical de la ciudad de Sincelejo (Lambraño, 2007).

6.2.1 Estimación de Diversidad de la Comunidad de *Lutzomyia*

El estudio de la diversidad alfa de riqueza, evidencio que los biomas bosque seco (300-1000 msn) y bosque transición (1.100 y 1.600 msn) presentan el mayor registro de especies, las cuales presentan un total de nueve especies en cada bioma, a diferencia de bosque subandino (1600-2100 msnm), donde el número de especies disminuye a ocho especies, lo cual indica que la mayor riqueza de especies se da en altitudes bajas, indicando que a bajas altitudes (bosque seco-bosque transición) el valor de diversidad es más alto en comparación con el bioma subandino (índice Q0). Observando a nivel de diversidad de Shannon (Q1), el mayor registro de especímenes fueron los biomas bosque Subandino y bosque transición con un valor de 3,2, donde este último continua siendo el bioma con mayor número de especies, esto puede deberse a la hipótesis de dominio medio o efecto Rapoport (Pyrzc & Wojtusiak, 2002, Mahecha *et al.*, 2011, Carrero *et al.* 2013), donde explica cómo se da el cambio en la diversidad a medida que aumenta el gradiente altitudinal, debido al recambio de especies en la transición de zonas bajas hacia zonas altas (Pyrzc *et al.*, 2009) y también a la plasticidad ecológica que tienen las especies de insectos para adaptarse a cambios en la composición del hábitat (Rös *et al.*, 2012). La diversidad de Simpson presentó el mismo patrón de diversidad Shannon (índice Q1), donde los biomas bosque subandino y bosque transición presentan un valor de 2,4, lo que indica que estos dos biomas presentan la misma abundancia relativa, a diferencia de bosque seco con un valor de 1,6 el cual es menos diverso a nivel de abundancia relativa y en equidad, debido a que no hay una distribución de las abundancias de las especies, ya que se encuentran relacionadas a un solo lugar, y si las abundancias son dominancias estas especies se

relacionan solo a un recurso por ejemplo a sitios con mayor perturbación (figura 20, índice Q_2).

El patrón de diversidad a diferentes escalas a lo largo de los diferentes biomas, mantiene en aspectos generales una disminución de la diversidad, lo que se relaciona paralelamente con la disponibilidad del tipo de vegetación que presenta tanto el bioma como las diferentes celdas que componen la ventana y sus diferentes tipos de vegetación (plantas hospedantes, alimenticias y de percha), así como el área que disminuyen a medida que aumenta la altitud (Huertas *et al.*, 2002, Pyrcz *et al.*, 2009, Carrero *et al.*, 2013). Las estaciones con alta riqueza de diversidad de especies, son zonas con una baja inequidad, lo que indica que hay una mayor cantidad de especies raras o poco comunes que están presentando cambios en la composición (Jost *et al.*, 2010 y Rös *et al.*, 2012).

6.3 Estructura y Composición de la comunidad de *Lutzomyia*

La estructura de la comunidad de *Lutzomyia* en los tres biomas muestreados, se ve reflejada en los perfiles de diversidad beta, donde se observa un patrón bien definido formándose dos comunidades definidas para los biomas bosque seco y bosque transición, a diferencia de bosque subandino conformada por una sola comunidad. Mediante el índice de Bray-Curtis con tablas de abundancia, se afirma como en bioma bosque seco se forma dos comunidades la primera formada por las celdas C5 y C6, y la segunda comunidad formada por el resto de celdas (figura22a), del mismo modo se observa en el bioma bosque transición donde la primera comunidad está compuesta por las celdas C1 y C9, y el resto de celdas conforman la segunda comunidad, la formación de dos comunidades se evidencia al

comparar las distancias de disimilaridad de Bray-Curtis, donde bosque seco y bosque transición presentan una disimilaridad de 0,8 evidenciando la formación de dos comunidades en cada bioma, a diferencia de bosque subandino donde se observa solo una comunidad con 0,1 de disimilaridad entre las dos posibles comunidades por ende se dice que este bioma solo presenta una sola comunidad, puede deberse a que esta comunidad se encuentra más separada de los otros dos biomas los cuales se encuentran más compactos en su tipo de vegetación y por ende tienden a compartir más especies.

El agrupamiento de las especies que se encuentran en los diferentes tipos de vegetación muestra dos grupos, el primero en bosque seco (matorral y potrero) el cual es diferente a las especies observadas en los demás tipos de vegetación de los biomas bosque transición y bosque subandino, esto puede deberse a que las especies que se encuentran en bioma bosque seco están relacionadas con sitios con alto grado de perturbación a diferencia de las especies que se encuentran en los diferentes tipos de vegetación de los biomas bosque transición y bosque subandino.

6.3.2 Composición de la comunidad de *Lutzomyia*

Al comparar los tres métodos de muestreo (CDC, Shannon, Búsqueda Activa) de especies de *Lutzomyia* obtenidas en los tres biomas muestreados en la cuenca del Río Pamplonita indicó que el método de recolecta trampa Shannon presento mayor cantidad de individuos a lo largo de todo el periodo de muestreo en los tres biomas, seguido del uso de trampa CDC y búsqueda activa (B.A), esto puede relacionarse al alto rango de atracción por parte de las especies que son fototrópicos positivos o antropofílicos, además del CO₂ emitido por la

persona que está capturando en la trampa Shannon, las trampas CDC y Shannon son usadas para medir los cambios relativos en la abundancia en el tiempo y en el espacio, a pesar de tener un valor limitado en estudios ecológicos de flebotomíneos (Alexander, 2000).

La búsqueda activa en sitios de reposo diurno nos permite obtener una representatividad de la fauna flebotomínea, ya que permite recolectar un número representativo de individuos pertenecientes a diferentes especies, sobre todo aquellas especies que presentan bajas densidades y que no son fototrópicas o antropofílicas, incluyendo las involucradas en la transmisión de *Leishmania* entre mamíferos silvestres (Alexander *et al*, 2001), por ello es importante apoyar los métodos de captura de flebotomíneos con búsqueda activa en potenciales sitios de reposo de cría para coincidir a un conocimiento completo de la fauna de flebotomíneos.

La mayor distribución de las especies en los tres biomas muestreados con respecto a los diferentes métodos de muestreo, evidencio que la mayor cantidad de individuos recolectados fueron hembras de *L. (townsendi)* sp y *L. ovallesi* empleando los tres métodos de captura (Trampa CDC, trampa Shannon y Búsqueda Activa) (figura 5-4), esto puede relacionarse a que las hembras son en su mayoría fototrópicas positivas además de ser antropofílicas, lo cual favorece su captura en los métodos de muestreo trampa Shannon y CDC.

Por otra parte, el determinar la estructura y composición de flebotomíneos contribuye con el conocimiento científico acerca del estado de desarrollo de los diferentes ecosistemas en donde se registran.

Algunos parámetros atmosféricos como precipitación, humedad relativa, temperatura y su comportamiento en los diferentes sistemas ambientales, diferenciar posibles cambios que se presentan en su distribución ayudando a determinar la dinámica poblacional de ciertos organismos y por lo tanto su posible relación con las enfermedades que transmiten, en nuestro caso Leishmaniasis.

Feliciangeli (1987), indicó que la precipitación, humedad relativa y temperatura son los factores climáticos que junto con la cobertura vegetal influyen en las poblaciones de flebotomíneos antropofílicos, donde la precipitación es uno de los parámetros más significativos que se ha relacionado con la dinámica de la población de este grupo de dípteros en diversos trabajos en los Andes venezolanos y Colombianos (Perruolo, 2004), en relación con el presente estudio *L. evansi* presentó mayor abundancia solo en bosque seco y en periodos de lluvia (octubre 2014), hecho que tiene concordancia con lo registrado por Montoya-Lerrna (1996).

Dicho anteriormente se sugiere que las precipitaciones pueden incrementar el número y la calidad de los sitios de vida de los flebotomíneos, así como la densidad de la vegetación que los rodea, influyendo de forma directa con los posibles sitios de reposo (Githeko *et al.*, 2001).

El presente estudio confirma la relación de las especies de *Lutzomyia* con los diferentes biomas asociados a diferentes factores como:

Factores intrínsecos: se relaciona con la capacidad de diapausa (interrupción temporal del desarrollo) en estado de huevo y pupa; fertilidad y longevidad, la plasticidad ecológica ayudado por su ciclo de vida; la preferencia de la hembra por ovipositar en lugares húmedos con gran cantidad de materia orgánica.

Factores extrínsecos: están estrechamente relacionados con los anteriores, los factores extrínsecos más significativos involucrados con las características bióticas y abióticas en el microambiente y el desequilibrio del ecosistema, así:

Las características abióticas particulares que presenta cada ecotopo asociada con la precipitación, el brillo solar, la temperatura, humedad relativa, el suelo, el relieve y la altitud (CENICAFE, 2010). Estos factores en especial la humedad relativa y la temperatura, ya que pueden ser de importancia en la estimulación de la etapa inmadura, en la activación de la diapausa y la eventual emergencia de los adultos. De la misma forma, los factores físicos tales como las barreras geográficas, la disponibilidad de hábitat y los factores bióticos presentes en cada bioma, podrían también condicionar la presencia de flebotomíneos (Contreras-Gutiérrez M A., 2013).

En este sentido, las diferencias en la presencia de flebotomíneos colectados en los tres diferentes biomas, pueden estar relacionados con los gradientes altitudinales, ya que, éstos están directamente correlacionados con las características ambientales bióticas y abióticas.

Estudios sobre la ecología de flebotomíneos informan que la altitud y la estructura

bioclimática tiene un importante impacto en la distribución de especies de flebotomíneos ya que ofrecen diversidad de hábitats, relieves, y perfil climático (Belén y Alten, 2006; Guernaoui *et al.* 2006). Dichos estudios ecológicos de los flebotomíneos en paisajes no intervenidos serían de gran pertinencia para precisar estos aspectos y paso lógico de continuidad para el presente estudio de diagnóstico sobre la presencia e importancia de las especies en la zona.

Generalmente se puede relacionar la presencia y distribución de especies con los cambios ocasionados por la destrucción de los ecosistemas naturales (deforestación, ampliación de la frontera agrícola, etc.) y el efecto de fenómenos físicos (cambio climático), generando cambios en la dinámica de la transmisión de las leishmaniasis, en la vegetación y en algunas especies flebotomíneas, donde algunas de éstas desaparecen, otras se tornan más abundantes, o se adaptan a los ambientes sinantrópicos, generalmente las especies de importancia médica (Agudelo *et al.* 2002; Bejarano *et al.* 2001; 2002; Días-Lima, Guedes y Sherlock, 2003; Petterson y Shaw, 2003).

Anteriormente se hablaba de los factores intrínsecos como la competencia vectorial de la cual se conoce poco en los flebotomíneos vectores, el hecho que las especies exhiban diferentes patrones de comportamiento y bionomía probablemente, sea un factor relacionado con la presencia o no de especies en las localidades, por ejemplo la actividad estacional ó el comportamiento (antropofílico o zoofílico, fitófago, endofágico, exofágico, endofilico, exofílico) (Davies *et al.* 1995; Davies *et al.* 2000; Alexander *et al.* 2001).

A su vez, los factores extrínsecos como las actividades humanas, como el cultivo, minas y cualquier actividad que implique la afectación del sitio provocado por el hombre, podrían también influir en el contacto humano – vector y por ende en que se encuentren especies de comportamiento antropofílico en los diferentes biomas muestreados (Davies *et al.* 2000; Alexander *et al.* 2001; King *et al.* 2004).

Feliciangeli 1987, resalta el hecho que la composición de las especies flebotomíneos puede ser considerado como el resultado de las condiciones geográficas y meteorológicas, el tipo y uso del suelo y la vegetación. Las similitudes en la composición de especies por lo tanto, se espera que este tipo de trabajo se pueda replicar en zonas de vida que presenten similares condiciones siempre y cuando, se utilicen los mismos métodos de colecta (Contreras-Gutiérrez M A., 2013).

7. CONCLUSIONES

Se registró un total de 5.953 especímenes todos del género *Lutzomyia* representados en 8 especies del grupo verrucarum, una especies del subgénero *Migoney*, una especie del subgénero *Helcocyrtomyia* y una especie del subgénero *Psathyromyia*, con el nuevo registro de *L. townsendi* para el departamento de Norte de Santander. Convirtiéndose en el único estudio realizado hasta el momento con la metodología de ventanas (Ros et al. 2012), donde se toma la mayor representatividad al azar a lo largo del paisaje, teniendo en cuenta los diferentes parches y condiciones del bioma.

Es necesario identificar los patrones de biodiversidad del género *Lutzomyia*, las tasas de infección natural a *Leishmania*, comportamiento de picadura y sitios de cría, para la

construcción del escenario de emergencia más probable y generación de una estrategia de prevención para la enfermedad.

En este sentido, es necesario desarrollar herramientas taxonómicas alternativas que permitan la discriminación de hembras con alta abundancia en el área de colecta, pero sin presencia de machos para determinar exitosamente hasta la categoría de especie, como es el caso de *Lutzomyia* sp. (serie *townsendi*); una solución es el uso de los marcadores moleculares como tRNA-SER (Vivero *et al.* 2007), Cytochrome B (Vivero *et al.* 2009) y Cytochrome oxidase I (DNA Barcode) (Azpurua *et al.* 2010; Cohnstaedt *et al.* 2011; Kumar *et al.* 2012; Contreras *et al.* 2014b), cuya utilidad presenta notables adelantos para la identificación y separación de especies, incriminación vectorial, evolución en complejos de especie e identificación de inmaduros (Besansky *et al.* 2003; Hoyos *et al.* 2012; Scarpassa *et al.* 2012; Zapata *et al.* 2012; Contreras *et al.* 2013).

Se presentó una alta diversidad en los biomas bosque seco y bosque transición, debido al efecto de dominio medio y al recambio de especies en transición, indicando la importancia de conservar estos ecosistemas.

La comparación de los métodos empleados en la captura fue positiva, lo que indica que son métodos complementarios a la hora de recolectar *Lutzomyia* estudios de diversidad.

8. Referencias bibliográficas

Acevedo, A., Silva, K., Franco, R. (2011): Distribución, historia natural y conservación de una rana marsupial poco conocida, *Gastrotheca helenae* (Anura: Hemipractidae), en el Parque Nacional Natural Tamá – Colombia. *Boletín Científico Centro de Museos de Historia Natural* 15(1): 68-74.

Acevedo, A., Wake, D., Márquez, R., Silva, K., Franco R., Amezcua, A. (2013): Two New Species of Salamanders, Genus *Bolitoglossa* (Amphibia: Plethodontidae), from the Eastern Colombian Andes. *Zootaxa* 3609(1):069-084.

Acosta-Galvis, A. R. (2000): Ranas, Salamandras y Caecilias (Tetrápoda: Amphibia) de Colombia. *Biota Colombiana* 1:289-319.

Alexander, B. (2000). Amplifying methods for phlebotomine sandflies. *Medical and veterinary entomology* (2000) 14, 109-122.

Alexander, B. & Young, D. 1992b. Dispersal of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a Colombian focus of *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 87: 397-403.

AmphibiaWeb: La información sobre la biología y la conservación de los anfibios. [Aplicación web]. 2013. Berkeley, California: AmphibiaWeb. Disponible: <http://amphibiaweb.org/> . (Consultado: 17 de nov de 2013).

Angulo, A., Rueda-Almonacid, J.V., Rodríguez-Mahecha, J.V y LaMarca, E. (Eds). (2006): Técnicas de inventario y monitoreo para los anfibios de la región tropical andina. Conservación Internacional. Serie Manuales de Campo N° 2. Panamericana Formas e Impresos S.A., Bogotá D.C.

Ardila, M.C. y Acosta, A.R. (2000): Anfibios. En: Rangel-Ch, O. (ed.). Colombia Diversidad Biotica III: La región paramuna de Colombia. UNAL, IAvH. 617-628 p

Armenteras, D., Gast, F., Villareal, H. (2003): Andean forest fragmentation and the representativeness of protected natural areas in the eastern Andes, Colombia. *Biological Conservation* 113:245–256

Armesto, O., Esteban, J.B., Torrado, R. (2009): Fauna de Anfibios del municipio de Cúcuta, Norte de Santander. *Herpetotrópicos* 5: 57-63.

Azpuruá, J., De La Cruz, D., Valderama, A. & Windsor, D. 2010. *Lutzomyia* sand fly diversity and rates of infection by *Wolbachia* and an exotic *Leishmania* species on Barro Colorado Island, Panama. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 4: e62. Bejarano, E. 2006. Lista actualizada de los Psicódidos (Diptera: Psychodidae) de Colombia. *Folia Entomológica Mexicana* 45: 47-56.

Bejarano, E.E., Rojas, W., Uribe, S. & Vélez, I.D. 2003a. Sistemática de especies de *Lutzomyia* del grupo *verrucarum* Theodor, 1965 (Diptera: Psychodidae). *Biomédica* 23: 87-102.

Bejarano, E.E., Sierra, D. & Vélez, I.D. 2003b. Novedades en la distribución geográfica del grupo verrucarum (Diptera: Psychodidae) en Colombia. *Biomédica* 23: 341-350.

Bejarano, E.E., Uribe, S., Rojas, W. & Vélez, I.D. 2002. Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) associated with the appearance of urban leishmaniasis in the city of Sincelejo, Colombia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 97: 645-647.

Blaustein, A.R., Wake, D.B., Sousa, W.P., (1994): Amphibians declines: Judging stability, persistence, and susceptibility of populations to local and global extinctions. *Conservation Biology* 8, 60–71.

Besansky, N., Severson, D.W. & Ferdig, M.T. 2003. DNA barcoding of parasites and invertebrate disease vectors: What you don't know can hurt you. *Trends in Parasitology* 19: 545–546.

Cáceres-Andrade, S.P y Urbina-Cardona, J.N. (2009): Ensamblajes de anuros de sistemas productivos y bosques en el piedemonte llanero, departamento del Meta, Colombia. *Caldasia* 31(1): 175-194.

Carvajal-Cogollo, J. E. y Urbina-Cardona, J. N. (2008): Patrones de diversidad y composición de reptiles en fragmentos de bosque seco tropical en Córdoba, Colombia. *Tropical Conservation Science* Vol.1 (4):397-416. Available online: www.tropicalconservationscience.org

Carnevali, M. & Scorza, J.V. 1976. Infeccion experimental de *Lutzomyia townsendi* (Ortiz, 1959) con una cepa Venezolana de *Leishmania braziliensis*. Boletín de Malariología y Salud Ambiental 16: 33-43.

Carnevali, M. & Scorza, J.V. 1982. Factores dérmicos que condicionan la infección de *Lutzomyia townsendi* (Ortiz, 1959) por *Leishmania* spp. de Venezuela. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 77: 353-365.

Chanotis, B., Correa, M., Tesh, R. & Johnson, K. 1974. Horizontal and vertical movements of phlebotomine sandflies in a Panamanian rain forest. Journal Medical Entomology 3: 369-375.

CORPONOR. (2010): Plan de Ordenación y Manejo de la Cuenca Hidrográfica del Rio Pamplonita – Resumen Ejecutivo. 22 p

Cochero, S., Anaya, Y., Díaz, Y., Paternina, M., Luna, A., Paternina, L & Bejarano, E (2007), Infección natural de *Lutzomyia cayennensis cayennensis* con parásitos tripanosomatídeos (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) en Los Montes de María, Colombia. Revista Cubana de Medicina, v.59 n.1.

Conn, J.E. & Mirabello, L. 2007. The Biogeography and Population Genetics of Neotropical Vector Species. Heredity 99: 245-256.

ERDAS. Field Guide™, ERDAS®LLC, Atlanta. 2002.

Forman, R.T. y Godron, M. (1986): Landscape ecology – Wiley, New York.

Frost, Darrel R. 2013. Especies de Anfibios del Mundo: una referencia en línea. Versión 5.6 (9 de enero de 2013). Base de datos electrónica accesible en <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. Museo Americano de Historia Natural, Nueva York, EE.UU

Haila, Y. (2002): A conceptual genealogy of fragmentation research: From island biogeography to land- scape ecology. *Ecological Applications*, 12: 321-334.

Halfpeter, G. y Rös, M. (2013): A strategy for measuring biodiversity. *Acta Zoológica Mexicana* (n. s.), 29(2): 400-411.

Hoyos, R., Viveros, R., Contreras, M. & Uribe, S. 2013. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) en un área rural de Santa Fe de Antioquia, Colombia. *Revista Colombia de Entomología* 39: 51-55.

Infante, R., y Ortiz, L.F. (2007): Ajuste Metodológico al Índice de Escasez de Agua Propuesto por el Ideam en el Plan de Ordenación Y Manejo de la Cuenca del Río Pamplonita, Norte De Santander, Colombia. *Colombia Forestal*, [S.l.], v. 11, p. 165 - 174, nov. ISSN 2256-201X. Disponible en: <http://revistas.udistrital.edu.co/ojs/index.php/colfor/article/view/3026>. Fecha de acceso: 25 Oct. 2013.

IDRISI. IDRISI Andes® Manual, Clark University. 2006

IUCN. 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.<www.iucnredlist.org>.

Downloaded on 25 October 2013.

Johnson, M.L. Berger, L. Philips, L. y Speare. R. (2003): Fungicidal effects of chemical disinfectants, Uv light, dessication and heat on amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Disease of Aquatic Organisms* 57, 255-260.

Jost, L. (2007): Partitioning diversity into independent alpha and beta components. *Ecology*. 88, 2427-2439.

Kumar, N.P., Srinivasan, R. & Jambulingam, P. 2012. DNA barcoding for identification of sand flies (Diptera: Psychodidae) in India. *Molecular Ecology Resources* 12: 414–420.

Laurance, W.F. et al. (2011): Global warming, elevational ranges and the vulnerability of tropical biota. *Biological Conservation* 144: 548–557

Lambrano, L.F (2007): Determinacion de la especies del género *Lutzomyia* presentes en la ciudad de Sincelejo, asociadas a la aparición de casos urbanos de Leishmaniasis. Universidad de Sucre. Sincelejo- Sucre.

Lynch, J.D. (1999): Ranas pequeñas, la geometría de evolución, y la especiación en los Andes Colombianos. *Revista Acad. Colomb. Cienc.* 23 (86): 143-159

Lynch, J. D. Ruiz-Carranza, P.M. y Ardila-Robayo, M.C. (1997): Biogeographic patterns of Colombian frogs and toads. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias* 21:237-248.

Lynch, J. y Suárez-Mayorga, A. (2002): Análisis Biogeográfico de los Anfibios Paramunos. *Caldasia* 24(2): 471-480

Lynch, J.D. (2006): The Amphibian Fauna in the Villavicencio Region of Eastern Colombia. *Caldasia* 28(1): 135-155

Márquez, G. (2001): De la abundancia a la escasez: La transformación de ecosistemas en Colombia. En: Palacios, G (ed.), 2001. *La Naturaleza en Disputa*. Universidad Nacional de Colombia. UNIBIBLOS. Bogotá

Marsh, D.M. y Pearman, P.B. (1997): The effects of habitat fragmentation on the abundance of two species of terrestrial leptodactylid frogs in an Andean montane forest. *Conservation Biology* 11: 1323–1328.

MAVDT - Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. (2010): Cuarto Informe Nacional ante el Convenio sobre la Diversidad Biológica – República de Colombia. Bogotá, Colombia. 239 p

Morales M. (2007): Representatividad Ecosistémica del Sistema de Parques Nacionales Naturales en los Andes Colombianos. En: Rodríguez N. y D. Armenteras (Eds). *Monitoreo de los ecosistemas andinos 1985/2005: síntesis y perspectivas*. Instituto de Investigación en Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá, D. C. Colombia.

McGarigal K, Cushman SA: FRAGSTATS v4 Spatial Pattern Analysis Program for Categorical and Continuous Maps. Computer software program produced by the authors at the University of Massachusetts, Amherst. Available at the following web site: <http://www.umass.edu/landeco/research/fragstats/fragstats.html>. 2013.

Merlano, J.(2006): *El Bosque Seco Tropical de Colombia*. Ed. Banco de Occidente.

Miles, L., Newton, A.C., DeFries, R.S., Ravilious, C., May, I., Blyth, S., Kapos, V., Gordon, J.E., (2006): A global overview of the conservation status of tropical dry forests. *Journal of Biogeography* 33, 491-505.

Montoya-Lerma, J., Cadena-Peña, H. & Jaramillo-Salazar, C. 1998. Rearing and Colonization of *Lutzomyia evansi* (Diptera: psychodidae), a vector of visceral leishmaniasis in Colombia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 93: 263-268.

Morrison, A., Ferro, C., Morales, A., Tesh, R. & Wilson, M. 1993. Dispersal of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. *Journal of Medical Entomology* 30: 427-435.

Murcia, C., (1995): Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 10, 58–62.

Murcia, M., (2010): Productividad primaria neta del bosque altoandino en la cuenca del río Pamplonita (Norte de Santander - Colombia) sucesión regenerativa del bosque altoandino. Universidad Nacional de Colombia. Tesis de doctorado.

Neira, M., Díaz-Martínez, A. & Bello, F. 1998. Estudio en condiciones de laboratorio de los ciclos de vida de *Lutzomyia torvida* y *Lutzomyia longiflocosa* (Diptera: Psychodidae) posibles vectores de *Leishmania braziliensis* en la zona cafetera colombiana. *Biomédica* 18: 251-255.

Neitzke-Abreu, H.C., Santos, D.R., Silva, A.M., Reinhold-Castro, K.R., Silveira, T.G.V., Lonardoni, M.V.C. & Teodoro, U. 2012. Alteration in frequency of sand flies in domiciles

after changes in the peridomicile area, State of Paraná, Brazil. *Journal of Vector Ecology* 37: 466–470.

Noss, R.F. (1990): Indicators for monitoring biodiversity: a hierarchical approach. *Conservation Biology* 4 (4): 355-364.

Pineda, E. y Halffter, G.(2003): Species Diversity and Habitat Fragmentation: Frogs in a Tropical Montane Landscape in Mexico. *Biological Conservation* 117: 499-508.

Primack, R. B. (1998): *Essentials of conservation biology*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Ramos, W.R., Medeiros, J.F., Juliao, G.R., Ríos-Velásquez, C.M., Marialva, E.F., Desmouliere, S.J., Luz, S.L. & Pessoa, F.A. 2014. Anthropic effects on sand fly (Diptera: Psychodidae) abundance and diversity in an Amazonian rural settlement, Brazil. *Acta tropica* 139: 44-52.

Romero, M.H., Cabrera, E. y Ortiz., N. (2008): Informe sobre el estado de la biodiversidad en Colombia 2006-2007. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander vonHumboldt. Bogotá D. C., Colombia. 181 p

Rös M., Escobar, F. y Halffter, G. (2012): How dung beetles respond to a human-modified variegated landscape in Mexican cloud forest: a study of biodiversity integrating ecological and biogeographical perspectives. *Diversity and Distributions*, 18: 377-389.

Rueda Almonacid, J.V., Lynch, J.D. y Amezcuita A. (eds). (2004): Libro rojo de anfibios de Colombia. Serie de Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Conservación Internacional Colombia, Instituto de Ciencias Naturales – Universidad Nacional de Colombia, Ministerio del Medio Ambiente, Bogotá, D. C. Colombia. 384 p

Saunders, D.A., Hobbs, R.J y Margules, C.R., (1991): Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review. *Conservation Biology* 5, 18–32.

Simmons, J.E. y Muñoz-Saba, Y. (2005): Cuidado, Manejo y Conservación de las Colecciones Biológicas. Serie Manuales de Campo. Conservación Internacional, Andes CBC, Bogotá, 288 p

Speare, R. (2003): Survival of *Batrachochytrium dendrobatidis* in water: quarantine and disease control implications *Emerging Infectious Diseases*

Stuart, S. Chanson, J. Cox, N. A. Young, B. E. Rodrigues, A. S. L. Fishman, D. L. y Waller R. W. (2004): Status and trends of amphibian declines extinctions worldwide. *Science* 306:1783-1786.

Urbina-Cardona, J. N. y Londoño, M. C. (2003): Distribución de la comunidad de herpetofauna asociada a cuatro áreas con diferente grado de perturbación en la isla de Gorgona, Pacífico colombiano. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 102: 105-113.

Urbina-Cardona, J.N., M. Olivares-Pérez y Reynoso, V.H. (2006): Herpetofauna diversity and microenvironment correlates across the pasture-edge-interior gradient in tropical

rainforest fragments in the region of Los Tuxtlas, Veracruz. *Biological Conservation* 132: 61-75.

Van der Hammen, T. 2000. Aspectos de historia y ecología de la biodiversidad norandina y amazónica. *Revista Colombiana de Ciencias* 24: 231-245.

Valderrama, A., Tavares, M.G. & Andrade, J.D. 2011. Anthropogenic influence on the distribution, abundance and diversity of sandfly species (Diptera: Phlebotominae: Psychodidae), vectors of cutaneous leishmaniasis in Panama. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 106: 1024-1031.

Vivero, R., Ortega, E., Aparicio, Y., Torres, C., Muskus, C. & Bejarano, E.E. 2013. Flebotominos adultos e inmaduros (Diptera: Psychodidae): registros para el Caribe colombiano. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental* 53: 157-164.

Wellington, R. y Hearing, R. (2001): Hygiene protocol for the control of disease in frogs. Information Circular Number 6. NSW NPWS. Hurstville NSW.

Wilson, K.A., McBride, M.F., Bode, M., Possingham, H.P. (2006): Prioritizing global conservation efforts. *Nature* 440, 337-340.

WWF. (2013): Guía de iniciativas locales para los anfibios. Pequeños proyectos para un gran beneficio. Madrid, España. 5 p

