

REVISION DE TEMA

Sistemática de especies de *Lutzomyia* del grupo *verrucarum* Theodor, 1965 (Diptera: Psychodidae)

Eduar Elías Bejarano ¹, Winston Rojas ¹, Sandra Uribe ², Iván Darío Vélez ¹

¹ Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales (PECET), Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

² Grupo de Sistemática Molecular, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Colombia.

El grupo *verrucarum* comprende insectos vectores de *Leishmania* spp. y *Bartonella bacilliformis*, y se le considera uno de los grupos de flebotomíneos neotropicales más importantes en salud pública. Debido a la marcada semejanza morfológica entre las especies agrupadas, la identificación de algunos vectores se dificulta al utilizar caracteres taxonómicos convencionales, lo que ha hecho que sean objeto de estudio a través de quetotaxia, morfometría, sistema espiracular larval, estructura coriónica, morfología del atrio genital, citogenética, filogenética morfológica, isoenzimas, amplificación al azar de ADN polimórfico, hidrocarburos cuticulares, hibridación de ADN y secuencias nucleotídicas nucleares y mitocondriales. En la actualidad, el grupo se encuentra dividido en cuatro series de especies, *verrucarum*, *serrana*, *townsendi* y *pia*, con base en características de la terminalia masculina. Después de la revisión efectuada por Young y Duncan en 1994, se han descrito diez nuevos taxones, en su mayoría de origen andino, pertenecientes a las series *verrucarum* (*Lutzomyia maranonensis*, *Lutzomyia cajamarcensis*, *Lutzomyia antioquiensis*, *Lutzomyia falcaorum*), *serrana* (*Lutzomyia robusta*, *Lutzomyia guilvardae*) y *pia* (*Lutzomyia suapiensis*, *Lutzomyia tihuilienis*, *Lutzomyia tocaniensis*, *Lutzomyia limafalcaoae*), lo que eleva a 40 el número de especies agrupadas. Esta diversidad parece ser el resultado de distintos eventos climáticos y biogeográficos entre los que se destacan el aislamiento de poblaciones ancestrales durante el cuaternario, el elevamiento de los Andes como barrera geográfica y el surgimiento del istmo de Panamá, lo que facilitó la dispersión de especies entre Sur y Centroamérica. El presente artículo revisa los más recientes avances en el conocimiento de la sistemática, biogeografía y evolución del grupo *verrucarum*, con énfasis en los 19 taxones presentes en Colombia.

Palabras clave: Psychodidae, flebotomíneos, *Lutzomyia*, taxonomía, leishmaniosis.

Systematics of *Lutzomyia* species of the *verrucarum* group Theodor, 1965 (Diptera: Psychodidae)

The *verrucarum* group of phlebotomine sand flies includes vectors of *Leishmania* spp. and *Bartonella bacilliformis*, and from the perspective of public health is considered as one of the most important groups of neotropical phlebotomine sand flies. Due to marked morphological similarity among species constituting this group, the identification based on conventional taxonomic characters can be difficult. Consequently, the *verrucarum* group has been the focus of numerous taxonomic comparisons which have included the following methods: chaetotaxy, morphometry, larval spiracular system, chorionic structure, morphology of the genital atrium, cytogenetics, morphological phylogenetics, isoenzymes, random amplified polymorphic DNA, cuticular hydrocarbons, DNA probes, and nuclear and mitochondrial nucleotide sequences. Based on morphological characters of the male terminalia, the *verrucarum* group has been divided in four series, i.e., *verrucarum*, *serrana*, *townsendi* and *pia*. Since the revision of the group made by Young and Duncan in 1994, ten new species, principally of Andean origin, have been assigned to 3 of the series *verrucarum* (*L. maranonensis*, *L. cajamarcensis*, *L. antioquiensis*, *L. falcaorum*), *serrana* (*L. robusta*, *L. guilvardae*) and *pia* (*L. suapiensis*, *L. tihuilienis*, *L. tocaniensis*, *L. limafalcaoae*). The total number of *verrucarum* group members is now 40. Explanations for this diversity of species include the isolation of ancestral populations in refugia

of humid forest during the quaternary period, the Andean cordilleras as geographical barrier, and the appearance of the Isthmus of Panama. Biology systematics and evolution of the *verrucarum* group is reviewed with emphasis on the 19 species extant in Colombia.

Key words: Psychodidae, sand flies, *Lutzomyia*, taxonomy, leishmaniasis.

Desde 1913, cuando el investigador Charles Henry Tyler Townsend describió a *Phlebotomus verrucarum*, muchos taxónomos se han dado a la tarea de nombrar, describir y clasificar los flebotomíneos pertenecientes al grupo *verrucarum*. Desde el punto de vista sistemático, el enorme interés que ha suscitado el grupo obedece a su gran diversidad, estrechas relaciones evolutivas, endemismo y coevolución con diferentes patógenos. Los registros de captura dan cuenta de su presencia en México, Guatemala, Belice, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú, Bolivia, Brasil, Guayana Francesa, Cuba, Islas Caimán, Haití, República Dominicana y Trinidad (1,2). A pesar de esta amplia distribución en el neotrópico, el mayor número de taxones se concentra en la Región Andina (1,2).

A lo largo del tiempo, varias especies han sido implicadas en la transmisión de protozoos del género *Leishmania* Ross, 1903, conocidos agentes etiológicos de la leishmaniosis, así como en la transmisión de *Bartonella bacilliformis* (Strong *et al.* 1913) Strong *et al.* 1915, bacteria causante de la bartonelosis humana (1). En Colombia, el grupo *verrucarum* está representado por 19 especies altamente antropofílicas, diez de ellas consideradas vectores comprobados o potenciales de leishmaniosis y bartonelosis en varias regiones del continente americano (cuadro 1). Debido a la marcada semejanza morfológica entre los miembros del grupo, la identificación de algunos vectores se dificulta cuando se utilizan caracteres taxonómicos convencionales, razón por la cual sus relaciones evolutivas siguen generando controversias, cuestionándose la posición específica de varios de ellos (1,37-40).

Correspondencia:

Eduar E. Bejarano, PECET, Universidad de Antioquia, Carrera 50 A No.63-85, Medellín, Colombia. Aparatdo aéreo 1226. Teléfono: 263 5555; Fax: 516 2675. bejarano@medicina.udea.edu.co

Recibido: 16/09/02; aceptado: 14/02/03

El presente artículo realiza una revisión exhaustiva de la literatura sobre la sistemática, biogeografía y evolución del grupo *verrucarum*, con énfasis en las especies presentes en Colombia.

Descripción taxonómica

El grupo *verrucarum* fue definido por Theodor en 1965 (41), basándose en las siguientes características morfológicas: hembras, cibario con cuatro dientes horizontales y una o dos hileras de dientes verticales, espermatecas en forma de saco que se reducen gradualmente hacia el ápice en algunas especies y muestran estrías transversales, ductos individuales cortos y anchos o largos y delgados; machos, parámero simple, tufo basal de setas sobre la coxita, tres a cuatro espinas en el estilo y una pequeña seta subterminal. Dentro del grupo, Theodor reconoció dos series con base en el número de espinas presentes sobre el estilo, cuatro para la serie *verrucarum* y tres para la serie *serrana* (figura 1). Posteriormente, Kreutzer y colaboradores (38), bajo el mismo criterio de García (42), dividieron la serie *verrucarum*, según la ubicación de las espinas, en serie *townsendi*, que presenta tres espinas distales y una espina basal aislada, y serie *verrucarum*, con dos espinas mediales pareadas y dos distales (figura 1). Las hembras de la serie *townsendi* son isomórficas (1), en tanto que los machos se diferencian entre sí, principalmente por la setación del parámero (1,43).

Más recientemente, Galati (44) reconoció una cuarta serie de especies, serie *pia*, lo que concuerda con un estudio de filogenética molecular efectuado por Rojas y colaboradores (45), que muestra una relación evolutiva basal entre *L. pia* y el grupo *verrucarum*. Los machos de esta serie se caracterizan por presentar cinco espinas estilares (figura 1), mientras las hembras son casi indistinguibles morfológicamente (46). El reconocimiento de la serie *pia* retoma la discusión sobre la posible evolución reduccional del número de espinas en el estilo. Theodor (41) consideró la

presencia de cinco espinas como una condición primitiva, lo que, en este caso, explicaría la ubicación de *L. pia* en la base del grupo *verrucarum* (45).

Con la serie *pia* y la descripción de seis nuevas taxa pertenecientes a las series *verrucarum* (47-49) y *serrana* (50,51), se eleva a 40 el número de especies del grupo *verrucarum*, con la distribución que se incluye.

Serie *verrucarum*: *Lutzomyia verrucarum* (Townsend, 1913); *Lutzomyia evansi* (Nunez-Tovar, 1924); *Lutzomyia columbiana* (Ristorcelli y Van Ty, 1941); *Lutzomyia ovallesi* (Ortiz, 1952); *Lutzomyia*

nuneztovari (Ortiz, 1954); *Lutzomyia nevesi* (Damasceno y Arouck, 1956); *Lutzomyia andina* Osorno, Osorno y Morales, 1972; *Lutzomyia disiuncta* Morales, Osorno y Osorno, 1974; *Lutzomyia moralesi* Young, 1979; *Lutzomyia aulari* Feliciangeli, Ordóñez y Manzanilla, 1984; *Lutzomyia deorsa* Perez, Ogusuku, Monje y Young, 1991; *L. maranonensis* Galati, Cáceres y Le Pont, 1995; *L. cajamarcensis* Galati, Cáceres y Le Pont, 1995; *L. antioquiensis* (Wolff y Galati, 2002); *L. falcaorum* (Brazil y Andrade Filho, 2002).

Serie *serrana*: *Lutzomyia serrana* (Damasceno y Arouck, 1949); *Lutzomyia christophei* (Fairchild y Trapido, 1950); *Lutzomyia orestes* (Fairchild y

Cuadro 1. Importancia médica de las especies de *Lutzomyia* del grupo *verrucarum* registradas en Colombia.

Especie flebotomínea	Enfermedad	Estado vectorial	Infección natural	Infección experimental	Referencias
<i>L. columbiana</i>	Bartonelosis, leishmaniosis cutánea	Potencial		<i>L. braziliensis</i> , <i>L. mexicana</i>	3,4,5,6,7
<i>L. evansi</i>	Leishmaniosis visceral	Confirmado	<i>L. infantum</i>	<i>L. infantum</i> , <i>L. mexicana</i> , <i>L. amazonensis</i>	8,9,10,11,12,13,14
<i>L. longiflocosa</i>	Leishmaniosis cutánea y mucocutánea	Potencial		<i>L. braziliensis</i>	15,16,17
<i>L. nuneztovari</i>	Leishmaniosis cutánea, mucocutánea y difusa	Confirmado	<i>L. amazonensis</i> , <i>L. braziliensis</i> , <i>L. lainsoni</i>	<i>L. amazonensis</i> , <i>L. braziliensis</i>	17,18,19,20,21
<i>L. ovallesi</i>	Leishmaniosis cutánea y mucocutánea	Confirmado	<i>L. braziliensis</i> , Complejo <i>L. mexicana</i>	<i>L. braziliensis</i>	20,22,23,24,25,26,27,28
<i>L. quasitownsendi</i>	Leishmaniosis cutánea	Potencial	Flagelados no identificados		28,29
<i>L. spinicrassa</i>	Leishmaniosis cutánea y mucocutánea	Confirmado	<i>L. braziliensis</i>		22,30,31
<i>L. torvida</i>	Leishmaniosis cutánea y mucocutánea	Potencial	Flagelados no identificados	<i>L. braziliensis</i>	20,32
<i>L. townsendi</i>	Leishmaniosis cutánea y mucocutánea	Potencial		<i>L. braziliensis</i>	5
<i>L. youngi</i>	Leishmaniosis cutánea y mucocutánea	Confirmado	<i>L. braziliensis</i>	<i>L. braziliensis</i> , <i>L. infantum</i> , Complejo <i>L. mexicana</i>	6,33,34,35,36

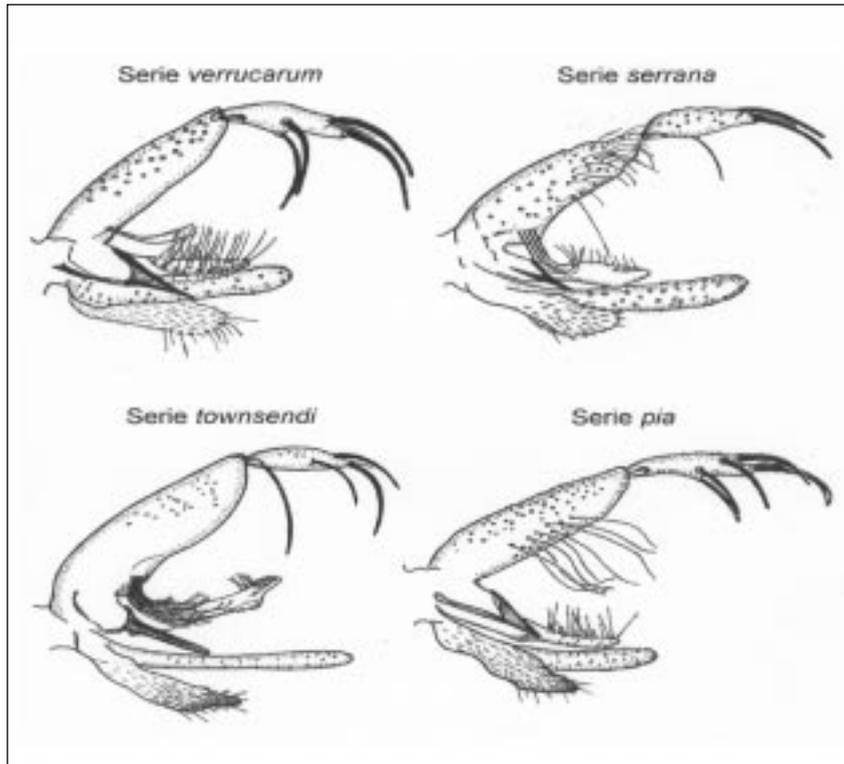


Figura 1. Genitalia masculina de las especies de *Lutzomyia* del grupo *verrucarum*, series *verrucarum*, *serrana*, *townsendi* y *pia*.

Trapido, 1950); *Lutzomyia oresbia* (Fairchild y Hertig, 1961); *Lutzomyia odax* (Fairchild y Hertig, 1961); *Lutzomyia ottolinai* (Ortiz y Scorza, 1963); *Lutzomyia diazi* González y García, 1981; *Lutzomyia novoae* González y García, 1981; *L. robusta* Galati, Cáceres y Le Pont, 1995; *Lutzomyia guilvardae* Le Pont, Martínez, Torrez-Espejo y Dujardin, 1998.

Serie townsendi: *Lutzomyia townsendi* (Ortiz, 1959); *Lutzomyia spinicrassa* Morales, Osorno, Osorno y Munoz, 1969; *Lutzomyia longiflocosa* Osorno, Morales, Osorno y Munoz, 1970; *Lutzomyia quasitownsendi* Osorno, Osorno y Morales, 1972; *Lutzomyia sauroida* Osorno, Morales y Osorno, 1972; *Lutzomyia amilcari* Arredondo, 1984; *Lutzomyia youngi* Feliciangeli y Murillo, 1987; *Lutzomyia nadiae* Feliciangeli, Arredondo y Ward, 1992; *Lutzomyia torvida* Young, Morales y Ferro, 1994.

Serie pia: *Lutzomyia pia* (Fairchild y Hertig, 1961); *Lutzomyia reclusa* Fernández y Rogers, 1991; *L. suapiensis* Le Pont, Torrez-Espejo y Dujardin, 1997; *L. tihuilienensis* Le Pont, Torrez-Espejo y

Dujardin, 1997; *L. tocaniensis* Le Pont, Torrez-Espejo y Dujardin, 1997; *L. limafalcaoae* (Wolff y Galati, 2002).

Sistemática

A lo largo de la historia sistemática de los flebotómicos americanos, el grupo *verrucarum* ha sido objeto de revisión hasta alcanzarse cierto consenso, si bien continúa en discusión la inclusión de algunos taxones. Las especies del grupo han soportado nueve tratamientos infragenéricos (cuadro 2), dos de los cuales persisten en la actualidad: subgénero *Pifanomyia*, categorización formal presentada por Ortiz y Scorza (56), con *L. serrana* como especie tipo, y grupo *verrucarum sensu* Theodor (41). Esta última propuesta es más aceptada, considerando que estableció los principios taxonómicos contemporáneos del grupo con base en la existencia de 'subgrupos naturales'. Es claro que el propósito original del subgénero *Pifanomyia* fue albergar taxones con características morfológicas afines a la serie *serrana*. Más aún, Ortiz y Scorza (56) mencionaron la necesidad de erigir un

Cuadro 2. Tratamientos taxonómicos infragenéricos recibidos por las especies del grupo *verrucarum*.

Subgénero o grupo de especies	Autores y referencias
Subgénero <i>Brumptomyia</i>	Fairchild en 1955 (52)
Subgénero <i>Coromyia</i>	Barreto en 1962 (53), Martins y colaboradores en 1978 (54), parcialmente, Artemiev en 1991 (55), parcialmente.
Subgénero <i>Pifanomyia</i>	Ortiz y Scorza en 1963 (56), Martins y colaboradores en 1978 (54), parcialmente, Galati en 1995 (44), Galati y colaboradores en 1995 (47), Balard y colaboradores en 1999 (57), parcialmente.
Grupo <i>lanei</i>	Theodor en 1965 (41), parcialmente.
Grupo <i>oswaldoi</i>	Theodor en 1965 (41), parcialmente, Young en 1979 (37), parcialmente, Murillo y Zeledón en 1985 (58), parcialmente.
Grupo <i>verrucarum</i>	Theodor en 1965 (41), parcialmente, Lewis y colaboradores en 1977 (59), Martins y colaboradores en 1978 (54), parcialmente, Young en 1979 (37) parcialmente, Murillo y Zeledón en 1985 (58), parcialmente, Kreutzer y colaboradores en 1990 (38), Feliciangeli y colaboradores en 1992 (60), Young y Duncan en 1994 (1), parcialmente, Cazorla en 1995 (61), Balard y colaboradores en 1999 (57), parcialmente, Ibañez-Bernal en 1999 (62), Montoya-Lerma y Ferro en 1999 (63).
Subgénero <i>Lutzomyia</i>	Forattini en 1971 y 1973 (64,65), parcialmente.
Subgénero <i>Trichopygomyia</i>	Forattini en 1971 y 1973 (64,65), parcialmente.
Subgénero <i>Helcocyrtomyia</i>	Young y Duncan en 1994 (1), parcialmente, Balard y colaboradores en 1999 (57), parcialmente.

subgénero diferente a éste para reunir el resto de especies.

La sistemática del grupo se ha intentado construir usando distintas metodologías y clases de caracteres entre los que se encuentran: quetotaxia, morfometría, sistema espiracular larval, estructura coriónica, morfología del atrio genital, citogenética, filogenética morfológica, isoenzimas, amplificación al azar de ADN polimórfico, hidrocarburos cuticulares, hibridación de ADN y genes nucleares y mitocondriales.

Quetotaxia. Hanson (66) es el primer investigador en describir la morfología y quetotaxia de la larva y pupa para especies del grupo *verrucarum*: *L. serrana* y *L. ovallesi*. Casi tres décadas después, Ogusuku y Pérez (67) retomaron la quetotaxia, describiendo las setas cefálicas de los cuatro instares larvales y la pupa de *L. verrucarum*. A este trabajo le siguieron las ilustraciones dadas por Montoya-Lerma (68) de los arreglos setales de cabeza, tórax y últimos segmentos abdominales de larvas de cuarto estadio de *L. evansi*. Posteriormente, Cazorla y Oviedo (69)

determinaron la quetotaxia de larvas de cuarto instar de *L. youngi*, en un intento por explorar la importancia de este estadio pre-imaginal en la determinación taxonómica de la serie *townsendi*. Dado que estos últimos autores detectaron la presencia de setas no reseñadas en los esquemas de numeración disponibles hasta ese entonces, queda por establecer la implicación del hallazgo en la clasificación del taxón. En 1999, Arrivillaga y colaboradores (70) proponen un sistema de nomenclatura para la morfología y quetotaxia del tagma cefálico larval de *Lutzomyia* Franca, 1924, utilizando, entre otras especies, *L. evansi* y *L. youngi*.

A pesar de estas descripciones, no se dispone hasta la fecha de claves taxonómicas para la identificación de estados inmaduros, lo que en parte puede atribuirse a la dificultad que existe para encontrarlos en la naturaleza.

Morfometría. La incorporación de esta herramienta en el estudio del grupo *verrucarum* es relativamente reciente. Galati y colaboradores (50) someten a un análisis de varianza

poblaciones de *L. robusta* y *L. serrana*. Las poblaciones de *L. robusta* se distinguieron de *L. serrana* por cuatro caracteres: longitud de la vena R_5 y la tibia posterior, ancho del parámetro y radio entre la longitud y el ancho del área apical del parámetro.

En 1996, Pérez (71) estudió a hembras de seis especies de la serie *townsendi* presentes en zonas cafeteras de Colombia (*L. longiflocosa*, *L. quasitownsendi*, *L. spinicrassa*, *L. torvida*, *L. youngi* y *L. sauroida*), usando 32 atributos morfológicos que permitieron la diferenciación de la mayoría de taxones. No obstante, para *L. longiflocosa* y *L. quasitownsendi* no se encontraron caracteres que permitieran separarlas, corroborando lo sugerido por Kreutzer y colaboradores (38), en el sentido de que éstas representan una sola especie. Por morfometría, Añez y colaboradores (72) lograron diferenciar hembras de *L. spinicrassa*, *L. youngi* y *L. townsendi*. Aunque la mayoría de los 31 caracteres morfológicos explorados mostró poca utilidad, seis estructuras corporales (fémur medio, palpómero uno, palpómero dos, tarso anterior, ancho del ala y longitud total del cuerpo) aparecieron como las más discriminantes, con una confianza del 90,6%.

Un estudio morfométrico de caracteres cefálicos permitió a Le Pont y colaboradores (46) distinguir *L. suapiensis*, *L. tihuiliensis* y *L. tocaniensis* de *L. pia*. Éstas fueron disgregadas por la longitud del labro y el palpómero dos, exceptuando *L. tihuiliensis* y *L. pia* que se diferenciaron por la distancia interocular. Los mismos autores realizaron una aproximación univariante a especies de la serie *serrana*: *L. serrana*, *L. robusta* y *L. guilvardae* (51). Tres caracteres de la cabeza (segundo flagelómero, labro, palpómero cinco) y cuatro del ala (venas *alpha*, *beta*, *gamma* y ancho del ala) señalaron a *L. guilvardae* como la especie más grande, mientras *L. serrana* apareció como la más pequeña por la longitud del labro y de las venas *alpha* y *beta*. En 1999, Cazorla y colaboradores (73) desarrollaron una evaluación morfométrica de *L. evansi* en focos de leishmaniosis visceral, con el objetivo de explorar su homogeneidad taxonómica y las posibles adaptaciones microevolutivas. Del análisis se derivó que los machos y las hembras de *L. evansi*

poseen un amplio rango de variabilidad morfométrica.

Los trabajos citados demuestran que la morfometría ha permitido identificar caracteres útiles en la separación de taxones morfológicamente similares. Sin embargo, convendría determinar en el futuro si estas mediciones se afectan por las condiciones climáticas, considerando que en especies como *L. verrucarum* se han detectado variaciones estacionales en las dimensiones del ala (74).

Sistema espiracular larval. Fausto y colaboradores (75) examinaron la morfología del sistema espiracular en larvas de cuarto estadio de *L. ovallesi*, *L. youngi* y *L. evansi*. En cada una se observó la presencia de dos pares de espiráculos ubicados en el tórax y en el abdomen. El número de papilas en los espiráculos torácicos varió desde seis en *L. youngi*, hasta ocho en *L. evansi* y *L. ovallesi*, mientras que al nivel abdominal aparecieron 10 papilas en *L. youngi*, 12 en *L. evansi* y 14 en *L. ovallesi*. Sin embargo, debido al pequeño número de taxones analizados, no fue posible establecer una relación directa entre las características de las larvas y su posición taxonómica específica.

Morfología del atrio genital. En la búsqueda de nuevos caracteres morfológicos, Valenta y colaboradores (76) exploraron la utilidad taxonómica del atrio genital o furca en la discriminación de 17 especies flebotomíneas, cinco de ellas pertenecientes al grupo *verrucarum*: *L. nuneztovari*, *L. ovallesi*, *L. pia*, *L. spinicrassa* y *L. youngi*. El estudio de la forma y el tamaño de esta estructura permitió identificar caracteres que se mantienen constantes entre individuos de la misma especie pero que, a su vez, varían interespecíficamente, tornándose útiles en la separación de los taxones.

Morfología coriónica y micropilar. La microscopía electrónica de barrido fue usada por Feliciangeli y colaboradores (77) para estudiar el esculpido coriónico de *L. townsendi*, *L. youngi*, *L. spinicrassa* y *L. evansi*. La superficie exhibió un patrón poligonal, con variaciones interespecíficas que permitieron separar los cuatro taxones. Posteriormente, este modelo poligonal se observó

al explorar la ultraestructura coriónica de *L. evansi* en la Costa Atlántica colombiana (68). En otro estudio, Pérez y Ogasaku (78) describieron el esculpido y micropilo de *L. verrucarum* de distintas localidades de Perú. Estos huevos presentaron un corión de forma reticular con crestas conectadas. También se observaron diferencias morfológicas conspicuas entre las poblaciones, lo cual fue atribuido al aislamiento en diferentes valles andinos, quedando por establecer la importancia de esta variación en el contexto de la actual homogeneidad taxonómica de *L. verrucarum*. La misma técnica fue utilizada por Sierra y colaboradores (79) en especies del grupo *verrucarum* presentes en Colombia: *L. longiflocosa*, *L. colombiana*, *L. evansi* y *L. youngi*. El esculpido correspondió al tipo poligonal, con variaciones interespecíficas. Cabe resaltar que el patrón exhibido por *L. youngi* y *L. evansi* fue idéntico al descrito en Venezuela para ellas (77), indicando que al parecer no varía entre distintas poblaciones geográficas. La más reciente descripción de ultraestructura coriónica y micropilar corresponde a *L. ovallesi* (80), taxón que mostró un modelo relativamente semejante al informado para *L. evansi*.

Citogenética. A pesar de que la citogenética ha mostrado ser útil en la resolución de complejos de especies en insectos de importancia médica, son pocos los estudios realizados para taxones del grupo *verrucarum*. El cariotipo de *L. spinicrassa* y *L. colombiana* fue descrito por Kreutzer y colaboradores (81,82). Estas especies mostraron un número diploide de ocho cromosomas ($2n=8$), sin evidencias de dimorfismo sexual. La fórmula cariotípica de *L. spinicrassa* fue $2n=4M+2SM+2ST$, mientras en *L. colombiana* estuvo representada por $2n=6M+2SM$.

En 1995, Toyama y colaboradores (83) describieron el cariotipo de *L. verrucarum* a partir de ganglios nerviosos del cuarto instar larval. La especie presentó cromosomas metafásicos $2n=8$, que fueron clasificados como submetacéntricos. Por su parte, Escovar y colaboradores (84) realizaron una comparación cariotípica entre *L. longiflocosa*, *L. townsendi*, *L. spinicrassa*, *L. torvida* y *L. youngi*. El número diploide en todas las especies fue ocho, sin heteromorfismo en los

pares cromosómicos, similar a lo previamente informado para el grupo.

Filogenética morfológica. En los estudios sistemáticos más completos realizados para la subfamilia Phlebotominae, incluyendo el grupo *verrucarum* (tratado como subgénero *Pifanomyia*), aparece la clasificación de Galati (44) basada en el análisis de 88 caracteres morfológicos, cualitativos y cuantitativos del imago. *Pifanomyia* apareció dividido en siete series de especies: *townsendi*, *serrana*, *evansi*, *verrucarum*, *pia*, *pacae* y *monticola*, quedando el subgénero *Pintomyia* Costa Lima, 1932, como el más cercano filogenéticamente. Galati (44) propuso un cambio en la taxonomía del subgénero *Pifanomyia*, transfiriéndolo del género *Lutzomyia* al género *Pintomyia* Costa Lima, 1932, propuesta que han seguido algunos taxónomos (48,49,85).

Isoenzimas. Kreutzer y colaboradores (38) utilizaron isoenzimas para explorar las relaciones genéticas entre diez especies del grupo *verrucarum*: *L. andina*, *L. colombiana*, *L. serrana*, *L. spinicrassa*, *L. torvida*, *L. youngi*, *L. townsendi*, *L. longiflocosa*, *L. quasitownsendi* y *L. sauroida*. Los perfiles isoenzimáticos confirmaron las diferencias entre *L. andina*, *L. colombiana* y *L. serrana* y revelaron la existencia de una nueva especie, *L. torvida*. Del mismo modo, el análisis mostró una estrecha relación genética entre los miembros de la serie *townsendi*. Más aún, los autores cuestionaron la posición específica de *L. longiflocosa*, *L. quasitownsendi* y *L. sauroida*, sugiriendo que representan una sola especie, aunque en la actualidad siguen siendo tratadas como especies diferentes. Hernández y colaboradores (86) también usaron isoenzimas en Colombia para estudiar a *L. youngi*, *L. spinicrassa*, *L. longiflocosa*, *L. torvida* y *L. quasitownsendi*. Los investigadores señalaron a *L. longiflocosa* y *L. torvida* como los taxones más estrechamente relacionados, seguidos de *L. torvida* y *L. spinicrassa*, mientras *L. youngi* apareció como el más divergente. Recientemente, Torgerson y colaboradores (87) evaluaron la capacidad de la electroforesis de isoenzimas en acetato de celulosa y poliacrilamida para separar 13 especies flebotomíneas, incluidas *L. ovallesi* y *L. townsendi*. Aunque ambas técnicas mostraron ser

útiles, se detectaron divergencias en la resolución de varios loci diagnósticos en algunos taxones, lo que podría conducir a una separación errónea de especies.

ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD). Mediante la amplificación al azar de ADN polimórfico, Adamson y colaboradores (88) estudiaron dos taxones de la serie *townsendi*, *L. spinicrassa* y *L. youngi*, buscando marcadores moleculares especie-específicos. Estas especies produjeron patrones de bandas, con tamaños entre 0,14 y 4,4 kb, más dos fragmentos de 0,3 y 0,6 kb compartidos por ambos taxones. Así mismo, se logró amplificar una banda de 0,32 kb, que apareció exclusivamente en *L. youngi*, por lo que se consideró como diagnóstica de especie.

Hidrocarburos cuticulares e hibridación de ADN. El análisis de hidrocarburos fue uno de los métodos seleccionados por Maingon y colaboradores (30) para diferenciar especies isomórficas del grupo *verrucarum* (*L. townsendi*, *L. spinicrassa* y *L. youngi*), distribuidas simpátricamente en Venezuela. Con la cromatografía líquida de gas se observó la existencia de hidrocarburos altamente ramificados, los cuales arrojaron patrones consistentes en cada uno de los taxones. De otro lado, un tamizaje diferencial de librerías genómicas permitió identificar secuencias de ADN específicas para *L. spinicrassa* y *L. youngi*, las cuales fueron validadas a través de hibridación.

Secuencias de genes mitocondriales y nucleares. Con el advenimiento de la biología molecular, las secuencias nucleotídicas han comenzado a emplearse para hacer sistemática molecular en el grupo *verrucarum* (89,90). Es de resaltar que pese a la disponibilidad de cebadores universales para distintas regiones genómicas nucleares (91), la mayoría de los investigadores ha seleccionado genes mitocondriales; falta explorar la potencial utilidad de otros marcadores como los espaciadores internos transcritos (ITS1, ITS2), de los cuales sólo se dispone de información para *L. youngi* (92).

Las secuencias de los genes subunidades uno y cuatro de la NADH deshidrogenasa, citocromo b y tRNA para serina (figura 2) fueron usadas por

Rojas y colaboradores (45) para estudiar las relaciones filogenéticas y la evolución de *L. columbiana*, *L. evansi*, *L. ovallesi*, *L. spinicrassa*, *L. youngi*, *L. longiflocosa*, *L. nuneztovari*, *L. pia*, entre otros taxa. Los datos moleculares mostraron que el grupo *verrucarum* ha experimentado, por lo menos, dos destacados procesos evolutivos. El primero de ellos dio origen a la serie *verrucarum*, mientras el segundo originó las especies de la serie *townsendi*. Así mismo, el análisis filogenético ubicó a *L. pia* como rama basal dentro del grupo, lo que confirma parte del esquema taxonómico propuesto por Galati (44).

En cuanto a *L. evansi*, el estudio de la estructura de poblaciones en zonas endémicas y no endémicas de leishmaniosis visceral en la Costa Atlántica de Colombia utilizando estos genes (figura 2), reveló la presencia de flujo genético, lo que podría tener consecuencias epidemiológicas (93). Esto implica que hembras potencialmente infectadas podrían estar migrando desde zonas rurales endémicas hacia áreas urbanas libres de la enfermedad, favoreciendo el establecimiento

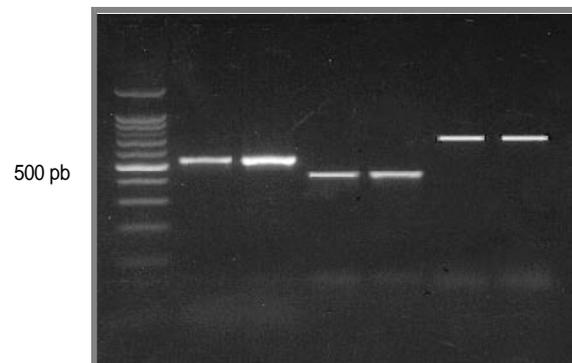


Figura 2. Gel de agarosa al 1,5% que muestra los genes mitocondriales amplificados en *Lutzomyia evansi* de Sincelejo, Colombia. Carriles: 1) marcador de peso molecular 100 pb DNA Ladder Promega; 2 y 3) fragmento de 500 pb correspondiente al extremo 3' del gen citocromo b, espaciadores intergénicos uno y dos, ARN de transferencia para serina y extremo 3' de la subunidad uno de la NADH deshidrogenasa, amplificado con los cebadores CB3-PDR y N1N-PDR; 4 y 5) fragmento de aproximadamente 400 pb de la subunidad larga ribosomal amplificado con los cebadores LRJ12966 y LRN13393; 6 y 7) fragmento de aproximadamente 700 pb del extremo 3' del gen subunidad cuatro de la NADH deshidrogenasa amplificado con los cebadores ND4ar y ND4c.

de nuevos microfocos de transmisión, tal como se ha registrado recientemente (12). De otro lado, un análisis filogenético de poblaciones naturales de *L. evansi* en Sur y Centroamérica (94), mostró un alto grado de divergencia evolutiva, indicando que algunas poblaciones centroamericanas pueden estar representando una especie diferente.

El gen citocromo b también fue usado por Montoya y colaboradores (95) para explorar la variabilidad de *L. evansi* en Colombia y Venezuela. Este gen permitió confirmar su posición taxonómica en la serie *verrucarum* y reveló que dichas poblaciones divergieron en el pleistoceno. De igual manera, Cáceres y colaboradores (39) analizaron los genes citocromo b y subunidad pequeña ribosomal en *L. robusta*, *L. serrana*, *L. maranonensis* y *L. verrucarum*. Los autores concluyeron que *L. robusta* y *L. serrana* pueden ser coespecíficas, lo que confrontaría la previa separación de éstas por análisis morfométrico (50).

Más recientemente, Testa y colaboradores (90) utilizaron secuencias de los genes citocromo b y factor de elongación alfa, para establecer la identidad de miembros del complejo *townsendi* presentes en el Valle del Cauca, Colombia. Dentro del estudio, tres especies de la serie *verrucarum* (*L. colombiana*, *L. evansi* y *L. ovallesi*) fueron seleccionadas como grupo externo para el análisis filogenético. Con base en los datos moleculares y en las características de la terminalia masculina, se corroboró la presencia de *L. townsendi sensu stricto* en las localidades de Versailles y Jiguales, ubicadas en la Cordillera Occidental. En una tercera localidad asentada sobre la Cordillera Central (Mateguadua), la mayoría de los individuos fueron identificados como *L. youngi* por morfología y caracteres moleculares, formando un grupo monofilético con la localidad tipo de Venezuela. Sin embargo, algunas secuencias del gen citocromo b revelaron la existencia de introgresión entre *L. youngi* y *L. townsendi*.

Las anteriores investigaciones permiten postular este carácter como promisorio para la diferenciación de especies isomórficas dentro del grupo *verrucarum*. Se prevee, además, que estos genes facilitarán la macrorreconstrucción de su historia evolutiva (96).

Biogeografía

La presencia de 27 especies del grupo *verrucarum* en Colombia y Venezuela, permite sugerir al noroccidente de Suramérica como lugar de origen del taxón (37). Esto se corrobora también con la distribución típicamente andina que exhiben nueve de las diez especies recién descritas, las cuales son endémicas a Colombia (*L. antioquiensis*, *L. limafalcaoae* (48)), Ecuador (*L. robusta*, *L. maranonensis* (47,50)), Perú (*L. maranonensis*, *L. cajamarcensis*, *L. robusta*, *L. tocaniensis*, *L. suapiensis* (47,50, 85,97)) y Bolivia (*L. guilvardae*, *L. suapiensis*, *L. tihuiliensis*, *L. tocaniensis* (46,51)). La especiación del grupo parece ser el resultado de diversos eventos biogeográficos y climáticos que han afectado la flora y fauna de la región andina. Una interpretación para tal diversificación, especialmente para la serie *townsendi*, es el aislamiento de poblaciones ancestrales en refugios de bosque húmedo durante el periodo cuaternario (37,98,99). Este proceso estuvo dirigido por pronunciados cambios climáticos caracterizados por periodos cíclicos de glaciación-deglaciación, los cuales ocurrieron durante los últimos 2,4 millones de años (100). Se postula que ante tales circunstancias, varias especies se extinguieron, otras sobrevivieron sin cambiar, mientras algunas poblaciones divergieron a nivel de subespecies y especies (40,101). El origen de la serie *townsendi* podría estar en un componente de la serie *verrucarum* ampliamente diseminado, el cual quedó aislado en pequeñas poblaciones en lo alto de los Andes.

La Cordillera de los Andes como barrera geográfica (102) presumiblemente desarrolló un papel muy importante previniendo la migración de individuos desde poblaciones o refugios ancestrales. De acuerdo a la teoría alopátrica de Mayr, la restricción en el flujo de genes, es, por lo general, el resultado de barreras geográficas o grandes distancias entre poblaciones (103). Considerando la limitada capacidad de vuelo de algunas especies (104), es probable que las montañas andinas favorecieran procesos evolutivos de especiación alopátrica al interior del grupo *verrucarum*. Las evidencias aportadas por los estudios palinológicos (105) indican que los límites altitudinales de los bosques andinos fluctuaron

sustancialmente durante el cuaternario, descendiendo desde 3300-3600 m hasta una altura inferior a los 2000 m, lo que eventualmente facilitó la llegada de flebotómíneos a altitudes normalmente inalcanzables. Algunos autores sugieren que el origen del grupo *verrucaurum* comienza con la dispersión de especies presentes a baja altura hacia zonas montañosas, donde posteriormente ocurrió el proceso de diversificación (2).

La aparición del istmo de Panamá también pudo haber afectado la distribución del grupo permitiendo el paso de especies entre Sur y Centroamérica, específicamente, *L. evansi*, *L. ovallesi*, *L. nuneztovari*, *L. serrana*, *L. youngi* y *L. pia*. Si se resalta el surgimiento del istmo, es claro que la dispersión a través de éste debería considerarse como un proceso exitoso, teniendo en cuenta que algunos taxones han logrado llegar hasta México. Sin embargo, es imprescindible examinar otras posibles rutas de dispersión ante la presencia de especies endémicas en Cuba, Haití, República Dominicana e Islas Caimán. Uno de los grandes interrogantes biogeográficos gira en torno a la forma como *L. christophei*, *L. diazi*, *L. novoa* y *L. orestes*, alcanzaron las Antillas. Ante esto, se sugiere que la dispersión pudo haber ocurrido de manera pasiva a través de corrientes de aire (2). El importante hallazgo de un registro fósil del periodo terciario (mioceno) (106), correspondiente a un taxón extinto de la serie *verrucaurum*, *L. falcaorum* (49), podría ser un indicativo de la antiquísima presencia del grupo en las Antillas.

En Colombia, se han registrado 19 especies del grupo *verrucaurum* (48,63,90), nueve de ellas endémicas: *L. columbiana*, *L. andina*, *L. longiflocosa*, *L. disiuncta*, *L. quasitownsendi*, *L. moralesi*, *L. torvida*, *L. antioquiensis* y *L. limafalcaoae*. Éste aparece asociado a diversos tipos de hábitat y cubre la región transandina, cisandina e interandina; si bien un considerable número de especies se concentra en ecosistemas cafeteros (5,107). Cabe resaltar que *L. ovallesi*, *L. evansi* y *L. columbiana* se han encontrado en zonas urbanas y periurbanas de ciudades como Bucaramanga (28), Sincelejo (108) y Medellín (109), respectivamente, evidenciando una

adaptación a ambientes antropogénicos, seguida de la aparición de casos urbanos de leishmaniosis cutánea y visceral (12,28).

Un total de siete, de los nueve taxones que conforman la serie *townsendi*, están presentes en este país: *L. spinicrassa*, *L. longiflocosa*, *L. quasitownsendi*, *L. sauroida*, *L. torvida*, *L. townsendi* y *L. youngi*. Éstos poseen una distribución altamente endémica, con registros puntuales entre las Cordilleras Occidental y Oriental, lo que demuestra una adaptación evolutiva a las grandes alturas.

En la serie *verrucaurum*, cinco especies (*L. evansi*, *L. columbiana*, *L. ovallesi*, *L. nuneztovari*, *L. nevesi*) presentan un amplio ámbito geográfico, mientras cuatro (*L. andina*, *L. disiuncta*, *L. moralesi*, *L. antioquiensis*) exhiben una distribución endémica (2,48,63). *L. ovallesi*, *L. evansi* y *L. columbiana* sobresalen por su presencia en distintos biotopos que van desde zonas xerofíticas de la Costa Atlántica hasta bosques húmedos del interior del país (101,107,110,111). Su éxito ecológico parece reflejarse también en la reducción del tiempo de desarrollo de su ciclo de vida. Mientras *L. evansi* y *L. ovallesi* exhiben promedios de 39,8-41,8 y 48,9-63,4 días (112-115), en taxones de la serie *townsendi*, como *L. longiflocosa* y *L. torvida*, se aprecian valores que son ostensiblemente mayores, 93,8 y 96,8 días, respectivamente (116). Esto pudo haber ofrecido algunas ventajas desde el punto de vista evolutivo a estos miembros de la serie *verrucaurum*, facilitando un establecimiento relativamente rápido en nuevas áreas geográficas.

L. serrana, la única especie de la serie *serrana* registrada en Colombia, está ampliamente diseminada en el territorio nacional y coexiste espacialmente con *L. spinicrassa*, *L. sauroida*, *L. evansi*, *L. ovallesi*, *L. columbiana*, *L. pia*, *L. youngi* y *L. nuneztovari* (107,117-119). Contrariamente, los miembros de la serie *pia*, *L. pia* y *L. limafalcaoae* presentan una distribución más restringida, apareciendo asociados a zonas montañosas y cafeteras (5,48,107,117).

Consideraciones finales

Desde el reconocimiento de las primeras especies, el grupo *verrucaurum* no ha escapado a las

discusiones taxonómicas generadas alrededor de la familia Psychodidae. En efecto, se ha mencionado que la ilustración que Townsend publicó del macho de *L. verrucarum* no corresponde a esta especie (120), aunque el nombre y la autoría del taxón continúan siendo válidos dada la correcta descripción de la hembra.

La taxonomía del grupo *verrucarum* se ha basado, casi exclusivamente, en un pequeño número de caracteres morfológicos del imago que a través del tiempo han sido escogidos y valorados como discriminatorios para establecer dicotomías entre las series. Aunque tales caracteres son la base de las claves para identificar especies, aún existen vacíos en el significado filogenético de algunos de ellos. Parte del problema ha radicado en el peso que se le da a determinado carácter para establecer los esquemas de clasificación. Por ejemplo, mientras la presencia de cinco espinas en el estilo parecería justificar la exclusión de *L. pia* del grupo *verrucarum*, la ausencia de un tufo de setas en la coxita de *L. nevesi* o de una seta subterminal en el estilo de *L. moralesi*, no ha impedido su ubicación dentro de éste. Antes de la exclusión de *L. pia* convendría analizar caracteres morfológicos que parecen mantener su monofilia con el grupo *verrucarum*, entre los que se encuentran espermatecas tipo *verrucarum*, tufo de setas sobre la coxita, arco cibarial completo y seta subterminal en el estilo. Así mismo, características bionómicas y afinidades bioclimáticas tales como su antropofilia y distribución fundamentalmente andina.

Otras discusiones referentes a la posición específica de *L. nuneztovari anglesi* Le Pont y Desjeux, 1984 (1), *L. quasitownsendi* (38,71), *L. sauroida* (37,38), *L. robusta* (39), entre otras, demuestran la urgencia de disponer de nuevas herramientas para la taxonomía e identificación. Desde el punto de vista biológico, el *status* de los taxones cuestionados podría clarificarse realizando cruces interespecíficos, es decir, determinando si existe o no aislamiento reproductivo. Bajo el concepto de especie filogenética también es posible elucidar las relaciones evolutivas entre los componentes del grupo, con criterios de ancestría común. Con ello se podría establecer su posición taxonómica

específica, determinando si evolucionan como entes diferentes, pese a conservar una alta afinidad morfológica. A pesar de la importancia que podrían tener los caracteres morfológicos del imago en la determinación de especie filogenética, se requeriría explorar otras fuentes de información, dadas las pocas diferencias morfológicas observadas entre algunos miembros del grupo.

Es manifiesto que el avance acelerado de la biología molecular en el conocimiento del genoma de estos vectores contribuirá a entender sus relaciones evolutivas y permitirá profundizar en su sistemática. En este sentido, el particular isomorfismo observado a nivel de especie hace conveniente considerar, para la descripción de nuevos taxa, la inclusión de datos moleculares además de los morfológicos, lo que constituye un inmenso reto para los sistemáticos en el estudio del grupo *verrucarum*.

Agradecimientos

Este artículo se deriva de un proyecto de investigación financiado por el Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología Francisco José de Caldas, Colciencias (115-05-106-97). El autor principal recibió apoyo financiero a través del Programa de Formación de Jóvenes Investigadores de Colciencias.

Referencias

1. **Young DG, Duncan MA.** Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Mem Amer Ent Inst 1994;54:1-881.
2. **Williams P.** Patterns in the geographical distribution of members of the genus *Lutzomyia* França (Diptera: Psychodidae - Phlebotominae). En: Burger JF, editor. Contributions to the knowledge of Diptera. Gainesville: Associated Publishers; 1999. p.455-502.
3. **Rozeboom LE.** The identity of the *Phlebotomus* associated with bartonellosis in Colombia. Ann Entomol Soc Am 1947;40:705-14.
4. **Montoya J, Jaramillo C, Palma G, Gómez T, Segura I, Travi B.** Report of an epidemic outbreak of tegumentary leishmaniasis in a coffee-growing area of Colombia. Mem Inst Oswaldo Cruz 1990;85:119-21.
5. **Warburg A, Montoya-Lerma J, Jaramillo C, Cruz-Ruiz AL, Ostrovska K.** Leishmaniasis vector potential of *Lutzomyia* spp. in Colombian coffee plantations. Med Vet Entomol 1991;5:9-16.

6. **Alexander B, Usma MC, Cadena H, Quesada BL, Solarte Y, Roa W, et al.** Phlebotomine sandflies associated with a focus of cutaneous leishmaniasis in Valle del Cauca, Colombia. *Med Vet Entomol* 1995;9: 273-8.
7. **Montoya-Lerma J, Cadena H, Segura I, Travi BL.** Association of *Lutzomyia columbiana* (Diptera: Psychodidae) with a leishmaniasis focus in Colombia due to species of the *Leishmania mexicana* complex. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999;94:277-83.
8. **Travi BL, Vélez ID, Brutus L, Segura I, Jaramillo C, Montoya J.** *Lutzomyia evansi*, an alternate vector of *Leishmania chagasi* in a Colombian focus of visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1990;84:676-7.
9. **Travi BL, Montoya J, Gallego J, Jaramillo C, Llano R, Vélez ID.** Bionomics of *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae) vector of visceral leishmaniasis in northern Colombia. *J Med Entomol* 1996;33:278-85.
10. **Feliciangeli MD, Rodríguez N, De Guglielmo Z, Rodríguez A.** The re-emergence of American visceral leishmaniasis in an old focus in Venezuela. II. Vectors and parasites. *Parasite* 1999;6:113-20.
11. **Vivenes A, Oviedo M, Márquez JC, Montoya-Lerma J.** Effect of a second bloodmeal on the oesophagus colonization by *Leishmania mexicana* complex in *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000;96:281-3.
12. **Bejarano EE, Uribe S, Rojas W, Vélez ID.** Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) associated with the appearance of urban leishmaniasis in the city of Sincelejo, Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002;97:645-7.
13. **Cochero S.** Papel de *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae) como vector de leishmaniasis visceral en un foco de Los Montes de María (tesis). Sincelejo, Colombia: Universidad de Sucre; 2003.
14. **Montoya-Lerma J, Cadena H, Oviedo M, Ready PD, Barazarte R, Travi BL, et al.** Comparative vectorial efficiency of *Lutzomyia evansi* and *Lu. longipalpis* for transmitting *Leishmania chagasi*. *Acta Trop* 2003;85:19-29.
15. **Santamaría E, Castillo M, Cárdenas R, Bello F, Ayala M, Ferro C.** Transmisión experimental de *Leishmania braziliensis* a hámster por picadura de *Lutzomyia longiflora* (Diptera: Psychodidae) provenientes de un foco endémico en la zona cafetera colombiana. *Mélicas UIS* 1998;12:279-84.
16. **Cárdenas R, Romo G, Santamaría E, Bello F, Ferro C.** *Lutzomyia longiflora* (Diptera: Psychodidae) posible vector en el foco de leishmaniasis cutánea del municipio de Planadas, zona cafetera del Tolima. *Biomédica* 1999; 19:239-44.
17. **Pardo R, Ferro C, Lozano G, Lozano C, Cabrera O, Davies C.** Flebotomos (Diptera: Psychodidae) vectores de leishmaniasis cutánea y sus determinantes ecológicos en la zona cafetera del departamento del Huila. *Memorias, XXVI Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología, Santa Fé de Bogotá, Colombia; 1999.* p.147-63.
18. **Torrez M, López M, Le Pont F, Martínez E, Muñoz M, Hervas D, et al.** *Lutzomyia nuneztovari anglesi* (Diptera: Psychodidae) as a probable vector of *Leishmania braziliensis* in the Yungas, Bolivia. *Acta Trop* 1998;71:311-6.
19. **Martínez E, Le Pont F, Torrez M, Telleria J, Vargas F, Dujardin JC, et al.** *Lutzomyia nuneztovari anglesi* (Le Pont & Desjeux, 1984) as a vector of *Leishmania amazonensis* in a sub-Andean leishmaniasis focus of Bolivia. *Am J Trop Med Hyg* 1999;61:846-9.
20. **Santamaría E, Castillo M, Cárdenas R, Bello F, Ayala M, Ferro C.** Competencia vectorial de las especies de *Lutzomyia* del grupo *verrucarum* (Diptera, Psychodidae) en un foco endémico de *Leishmania braziliensis* en Reventones, Cundinamarca. *Biomédica* 1999;19:115-26.
21. **Bastrenta B, Buitrago R, Vargas F, Le Pont F, Torrez M, Flores M, et al.** First evidence of transmission of *Leishmania (Viannia) lainsoni* in a Sub Andean region of Bolivia. *Acta Trop* 2002;83:249-53.
22. **Young DG, Morales A, Kreutzer RD, Alexander JB, Corredor A, Tesh RB, et al.** Isolations of *Leishmania braziliensis* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) from cryopreserved Colombian sand flies (Diptera: Psychodidae). *J Med Entomol* 1987;24:587-9.
23. **Bonfante-Garrido R, Spinetti H, Cupillo E, Momen H, Grimaldi G.** *Lutzomyia ovallesi* (Diptera: Psychodidae) as a vector of cutaneous leishmaniasis in Venezuela. *Parassitologia* 1991;33(Suppl.1):99-104.
24. **Rowton ED, De Mata M, Rizzo N, Porter CH, Navin TR.** Isolation of *Leishmania braziliensis* from *Lutzomyia ovallesi* (Diptera:Psychodidae) in Guatemala. *Am J Trop Med Hyg* 1992;46:465-8.
25. **Barrios M, Rodriguez N, Feliciangeli DM, Ulrich M, Telles S, Pinardi ME, et al.** Coexistence of two species of *Leishmania* in the digestive tract of the vector *Lutzomyia ovallesi*. *Am J Trop Med Hyg* 1994;51:669-75.
26. **Feliciangeli MD, Rodriguez N, Bravo A, Arias F, Guzman B.** Vectors of cutaneous leishmaniasis in north-central Venezuela. *Med Vet Entomol* 1994;8:317-24.
27. **Pardo RH, Farieta S, Munstermann LE, Ferro C.** Estudio preliminar de los flebotomos de Villeta y Quebradanegra, Cundinamarca: sus implicaciones en salud pública. *Biomédica* 1996;16:293-302.
28. **Sandoval CM, Angulo VM, Gutiérrez R, Muñoz G, Ferro C.** Especies de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) posibles vectores de leishmaniasis en la ciudad de Bucaramanga, Santander, Colombia. *Biomédica* 1998;18: 161-8.
29. **Muñoz G.** Incrimination of *Leishmania panamensis* vectors by statistics methods. *Memorias, XXVI Congreso*

- de la Sociedad Colombiana de Entomología, Santa Fé de Bogotá, Colombia; 1999. p.164-71.
30. **Maingon R, Feliciangeli D, Ward R, Chance M, Adamson R, Rodriguez N, et al.** Molecular approaches applied to the epidemiology of leishmaniasis in Venezuela. Arch Inst Pasteur Tunis 1993;70:309-24.
 31. **Perruolo G.** Ecología y potencial vectorial de las especies de *Lutzomyia* spp. (Diptera: Psychodidae) en un foco endémico de leishmaniasis del Estado Táchira, Venezuela (tesis). Maracay, Venezuela: Universidad de Carabobo; 2000.
 32. **Ferro C, Morales A.** Flebótomos de Colombia: Estudios realizados por el laboratorio de Entomología, 1965-1997. En: Toro G, Hernández CA, Raad J, editores. Instituto Nacional de Salud 1917-1997. Una historia, un compromiso. Santafé de Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 1998. p.219-33.
 33. **Scorza JV, Marquez M, Marquez JC.** Hallazgo de *Lutzomyia townsendi* (Ortiz, 1959) naturalmente infectada con *Leishmania braziliensis*, en el área suburbana de Trujillo, Venezuela. Bol Dir Malariol y San Amb 1984;24:21-8.
 34. **Scorza JV, Añez N.** Transmisión experimental de *Leishmania garnhami* al hámster por la picadura de *Lutzomyia townsendi*. Rev Cubana Med Trop 1984;36: 139-45.
 35. **Rojas E, Scorza JV, Espinoza A.** Excretion of promastigotes of *Leishmania pifanoi* by experimentally infected *Lutzomyia youngi*. Rev Saude Publica 1995;29: 496-502.
 36. **Travi BL, Ferro C, Cadena H, Montoya-Lerma J, Adler GH.** Canine visceral leishmaniasis: dog infectivity to sand flies from non-endemic areas. Res Vet Sci 2002;72:83-6.
 37. **Young DG.** A review of the bloodsucking psychodid flies of Colombia (Diptera: Phlebotominae and Sycoracinae). Gainesville, Florida: Technical Bulletin 806, Agricultural Experiment Stations, Institute of Food and Agricultural Sciences; 1979. p.1-265.
 38. **Kreutzer RD, Palau MT, Morales A, Ferro C, Feliciangeli D, Young DG.** Genetics relationships among phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in the *verrucarum* species group. J Med Entomol 1990;27: 1-8.
 39. **Cáceres AL, Regnery RL, Beati L.** Molecular tools for the taxonomic and phylogenetic study of *Lutzomyia* spp. Abstracts, III International Symposium of Phlebotomine Sandflies, Montpellier, France; 1999. p.P48.
 40. **Rojas W.** Relaciones filogenéticas en *Lutzomyia* spp. del grupo *verrucarum* (tesis). Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia; 2001.
 41. **Theodor O.** On the classification of American Phlebotominae. J Med Entomol 1965;2:171-97.
 42. **García JMM.** Posible filogenia del complejo *townsendi* del grupo *verrucarum* en Los Andes (Diptera, Psychodidae). Bionotas 1988;9:15-8.
 43. **Feliciangeli MD, Murillo J.** *Lutzomyia youngi* (Diptera: Psychodidae), a new phlebotomine sand fly previously misidentified as *L. townsendi* in endemic foci of cutaneous leishmaniasis in Venezuela and Costa Rica. J Med Entomol 1987;24:141-6.
 44. **Galati EAB.** Phylogenetic systematics of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) with emphasis on American groups. Bol Dir Malariol y San Amb 1995;35(Suppl.1):133-42.
 45. **Rojas W, Bejarano EE, Uribe S, Vélez ID, Porter CH.** Phylogenetic relationships among *Lutzomyia* spp. of *verrucarum* group based on molecular characters. Entomol Vect 2002;9(Supl.1):14-5.
 46. **Le Pont F, Torrez-Espejo MJ, Dujardin JP.** Phlébotomes de Bolivie: description de quatre nouvelles espèces de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae). Ann Soc Entomol Fr 1997;33:55-64.
 47. **Galati EAB, Cáceres AG, Le Pont F.** Descrições de duas espécies novas de Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) e considerações sobre o subgênero *Pifanomyia* Ortiz & Scorza. Revta Bras Ent 1995;39:431-46.
 48. **Wolff M, Galati EAB.** Description of *Pintomyia limafalcaoae* and *Pintomyia antioquiensis*, two new species of phlebotomine sand fly (Diptera, Psychodidae) from the Colombian Andes. Mem Inst Oswaldo Cruz 2002;97:317-24.
 49. **Brazil RP, Andrade Filho JD.** Description of *Pintomyia (Pifanomyia) falcaorum* sp. n. (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), a fossil sand fly from Dominican amber. Mem Inst Oswaldo Cruz 2002;97:501-3.
 50. **Galati EAB, Cáceres AG, Le Pont F.** Description of *Lutzomyia (Pifanomyia) robusta* n. sp. (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) from Peruvian Equadorean interandean areas. Rev Saúde Pública 1995;29:89-99.
 51. **Le Pont F, Martínez E, Torrez-Espejo JM, Dujardin JP.** Phlébotomes de Bolivie: description de cinq nouvelles espèces de *Lutzomyia* de la région subandine (Diptera, Psychodidae). Bull Soc Entomol Fr 1998;103:159-73.
 52. **Fairchild GB.** The relationships and classification of the Phlebotominae. Ann Entomol Soc Am 1955;48:182-96.
 53. **Barreto MP.** Novos subgêneros de *Lutzomyia* França, 1924 (Diptera, Psychodidae, subfamilia Phlebotominae). Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1962;4:91-100.
 54. **Martins AV, Williams P, Falcão AL.** American sand flies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). Rio de Janeiro, Brasil: Academia Brasileira de Ciências; 1978. p.1-195.
 55. **Artemiev MM.** A classification of the subfamily Phlebotominae. Parassitologia 1991;33(Suppl.1):69-77.

56. **Ortiz I, Scorza JV.** Notas biológicas y taxonómicas sobre algunos Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) de Rancho Grande, Venezuela. *Acta Biol Ven* 1963;3:341-61.
57. **Balard Y, Bermudez H, Dedet JP, Ducan M, Falcão AL, Feliciangeli D, et al.** CIPA group, Computer-aided identification of Phlebotomine sand flies of America. 1999. Disponible en: cipa.snv.jussieu.fr/.
58. **Murillo J, Zeledón R.** Flebótomos de Costa Rica (Diptera: Psychodidae). *Brenesia* 1985;23(Supl.1):1-137.
59. **Lewis DJ, Young DG, Fairchild GB, Minter DM.** Proposal for a stable classification of the phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). *Syst Entomol* 1977;2: 319-32.
60. **Feliciangeli MD, Arredondo C, Ward R.** Phlebotomine sandflies in Venezuela: review of the *verrucarum* species group (in part) of *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) with description of a new species from Lara. *J Med Entomol* 1992;29:729-44.
61. **Cazorla D.** Revisión del grupo *verrucarum* Theodor, 1965 (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). *Rev Ecol Lat Am* 1995;3:51-6.
62. **Ibañez-Bernal S.** Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) de Mexico I. *Brumptomyia* França y Parrot; *Lutzomyia* França, las especies de *L. (Lutzomyia)* França y del grupo *verrucarum*. *Folia Entomol Mex* 1999;107:61-116.
63. **Montoya-Lerma J, Ferro C.** Flebótomos (Diptera: Psychodidae) de Colombia. En: Amat G, Andrade MG, Fernández F, editores. *Insectos de Colombia*. Volumen II. Colección Jorge Álvarez Lleras, No. 13. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Santafé de Bogotá: Centro Editorial Javeriano; 1999. p.211-45.
64. **Forattini OP.** Sobre a classificação da subfamília Phlebotominae nas Américas (Diptera, Psychodidae). *Papéis Avulsos Zool* 1971;24:93-111.
65. **Forattini OP.** *Entomologia Médica*, 4ª vol. São Paulo, Brasil: Editora Blücher Ltda.; 1973. p.1-658.
66. **Hanson WJ.** The immature stages of the subfamily Phlebotominae in Panama (Diptera: Psychodidae) (tesis). Kansas, Estados Unidos: University of Kansas; 1968.
67. **Ogusuku E, Pérez JE.** Head setae of the immature stages of *Lutzomyia* spp. (Diptera: Psychodidae) from Peru. *Bol Malariol y San Amb* 1995;35(Supl.1):257-68.
68. **Montoya-Lerma J.** The biology of visceral leishmaniasis vectors in the San Andrés de Sotavento focus, Colombia (tesis). Londres, Inglaterra: University of London; 1996.
69. **Cazorla D, Oviedo M.** Quetotaxia del IV estadio larval de *Lutzomyia youngi* Feliciangeli y Murillo, 1987. (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). *Bol Malariol y San Amb* 1998;38:109-18.
70. **Arrivillaga J, Navarro JC, Feliciangeli MD.** Morfología y quetotaxia del tagma cefálico larval de *Lutzomyia* França, 1924 (Diptera: Psychodidae): Proposición de un sistema de nomenclatura. *Bol Entomol Venez* 1999;14:1-13.
71. **Pérez SP.** Diferenciación morfométrica de las hembras de la serie *townsendi* del grupo *verrucarum*, género *Lutzomyia*, presentes en Colombia en los focos endémicos de leishmaniasis cutánea (tesis). Santafé de Bogotá, Colombia: Universidad de La Salle; 1996.
72. **Añez N, Valenta DT, Cazorla D, Quicke DJ, Feliciangeli MD.** Multivariate analysis to discriminate species of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae): *Lutzomyia townsendi*, *L. spinicrassa*, and *L. youngi*. *J Med Entomol* 1997;34:312-6.
73. **Cazorla D, Yépez J, Trasmote A, Medina V.** Análisis multivariante de la variación morfométrica infraespecífica de *Lutzomyia evansi* (Nuñez-Tovar, 1924) (Diptera: Phlebotominae) en focos endémicos de leishmaniasis del Estado Falcon, Venezuela. Resúmenes, XVI Congreso Venezolano de Entomología, Santa Ana de Coro, Venezuela; 1999. p.89.
74. **Ogusuku E, Campos M, Pérez E.** Variación estacional de las dimensiones alares de *Lutzomyia verrucarum* (Diptera: Psychodidae). *Rev Per Ent* 1991;34:55.
75. **Fausto AM, Feliciangeli MD, Maroli M, Mazzini M.** Morphological study of the larval spiracular system in eight *Lutzomyia* species (Diptera: Psychodidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1998;93:71-9.
76. **Valenta DT, Añez N, Tang Y, Killick-Kendrick R.** The genital atrium as a good taxonomic character to distinguish between species of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) from Venezuela. *Ann Trop Med Parasitol* 1999;93:389-99.
77. **Feliciangeli MD, Castejon OC, Limongi J.** Egg surface ultrastructure of eight New World phlebotomine sand fly species (Diptera: Psychodidae). *J Med Entomol* 1993;30: 651-6.
78. **Pérez JE, Ogusuku E.** Chorion patterns on eggs of *Lutzomyia* sandflies from the Peruvian Andes. *Med Vet Entomol* 1997;11:127-33.
79. **Sierra D, Vélez ID, Uribe S.** Identificación de *Lutzomyia* spp. (Diptera: Psychodidae) grupo *verrucarum* por medio de microscopía electrónica de sus huevos. *Rev Biol Trop* 2000;48:615-22.
80. **Fausto AM, Feliciangeli MD, Maroli M, Mazzini M.** Ootaxonomic investigation of five *Lutzomyia* species (Diptera, Psychodidae) from Venezuela. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001;96:197-204.
81. **Kreutzer RD, Modi GB, Tesh RB, Young DG.** Brain cell karyotypes of six species of New and Old World sand flies (Diptera: Psychodidae). *J Med Entomol* 1987;24: 609-12.
82. **Kreutzer RD, Morales A, Cura E, Ferro C, Young DG.** Brain cell karyotypes of six New World sand flies (Diptera: Psychodidae). *J Am Mosq Control Assoc* 1988;4:453-5.

83. **Toyama A, Guevara M, Caceres A, Bracamonte O, López A.** Análisis cariotípico de ganglio nervioso de dos especies de *Lutzomyia* (Diptera, Psychodidae) de los Andes Peruanos. *Rev Bras Ent* 1995;39:717-20.
84. **Escovar J, Ferro C, Cárdenas E, Bello F.** Comparación cariotípica de cinco especies de *Lutzomyia* (Diptera, Psychodidae) de la serie *townsendi*, del grupo *verrucarum*, en Colombia. *Biomédica* 2002; 22:499-509.
85. **Cáceres A, Quate L, Galati EA, Baht H.** Flebotominos (Diptera: Psychodidae) de San Pedro, Distrito Kosfipata, Paucartambo - Cusco, y nuevos reportes para el Perú. *Rev Med Exp* 2001;18:24-6.
86. **Hernández C, Ruiz-García M, Bello FJ, Munstermann LE, Ferro C.** Estructura genética y autocorrelación espacial en y entre cinco especies de flebotomos del grupo *verrucarum*, serie *townsendi* (Diptera: Psychodidae) en Colombia. Resúmenes, XXVIII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología, Pereira, Colombia; 2001. p.65.
87. **Torgerson D, Lampo M, Woo PTK.** Ability of cellulose acetate and polyacrylamide enzyme electrophoresis to separate 13 species of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) from Venezuela. *J Med Entomol* 2001;38: 501-9.
88. **Adamson RE, Ward RD, Feliciangeli MD, Maingon R.** The application of random amplified polymorphic DNA for sandfly species identification. *Med Vet Entomol* 1993; 7:203-7.
89. **Bejarano EE.** Nuevas herramientas para la clasificación taxonómica de los insectos vectores de leishmaniosis: utilidad de los genes mitocondriales. *Biomédica* 2001;21: 182-91.
90. **Testa JM, Montoya-Lerma J, Cadena H, Oviedo M, Ready PD.** Molecular identification of vectors of *Leishmania* in Colombia: Mitochondrial introgression in the *Lutzomyia townsendi* series. *Acta Trop* 2002;84:205-18.
91. **Brower AVZ, DeSalle R.** Practical and theoretical considerations for choice of a DNA sequence region in insect molecular systematics, with a short review of published studies using nuclear gene regions. *Ann Entomol Soc Am* 1994;87:702-16.
92. **Depaquit J, Perrotey S, Lecointre G, Tillier A, Tillier S, Ferte, et al.** Systématique moléculaire des Phlebotominae: étude pilote. Paraphylie du genre *Phlebotomus*. *CR Acad Sci Paris, Sciences de la Vie* 1998;321:849-55.
93. **Bejarano EE, Rojas W, Uribe S, Vélez ID, Valle S, Porter C.** Genetic flow between rural and urban populations of *Lutzomyia (verrucarum) evansi* (Nuñez-Tovar, 1924) in Colombia, based on analysis of mitochondrial nucleotide sequences. *Entomol Vect* 2002;9(Supl.1):18-9.
94. **Bejarano EE, Rojas W, Uribe S, Vélez ID, Valle S, Porter C.** Phylogenetic relationships among natural populations of *Lutzomyia (verrucarum) evansi* (Nuñez-Tovar, 1924). *Entomol Vect* 2002;9(Supl.1):12-3.
95. **Montoya-Lerma J, Ready PD, Testa JM, Oviedo M, Lane RP.** Molecular systematics of *Lutzomyia evansi* and the *verrucarum* group. Abstracts, III International Symposium on Phlebotomine Sand Flies, Montpellier, France; 1999. p.P47.
96. **Bejarano EE.** Sobre la evolución de los flebotomíneos americanos (Diptera: Psychodidae): un llamado a los sistemáticos moleculares. *Rev Colomb Entomol* 2002; 28:211-2.
97. **Cáceres AG, Galati EAB, Le Pont F, Velásquez C.** La fauna flebotómica (Diptera: Psychodidae) de tres provincias de la región Nor oriental del Marañón, Perú. *Rev Soc Bras Med Trop* 1995;28:215-21.
98. **Haffer J.** General aspects of the refuge theory. In: Prance GT, editor. *Biological diversification in the tropics*. New York: Columbia University Press; 1982. p.6-24.
99. **Alexander B.** Distribución geográfica. En: Travi BL, Montoya-Lerma J, editores. *Manual de entomología médica para investigadores de América Latina*. Fundación Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas. Cali: Fundación CIDEIM; 1994. p.22-5.
100. **Peltier WR.** Ice age paleotopography. *Science* 1994; 265:195-201.
101. **Bejarano EE.** Variabilidad genética y especiación en *Lutzomyia (verrucarum) evansi* (Nuñez-Tovar, 1924), vector de leishmaniosis visceral americana (tesis). Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia; 2001.
102. **Van der Hammen T.** Aspectos de historia y ecología de la biodiversidad norandina y amazónica. *Rev Acad Colomb Cienc* 2000;24:231-45.
103. **Mayr E.** *Animal species and evolution*. Cambridge, Massachusetts: Belknap Press of Harvard University Press; 1963. p.1-797.
104. **Alexander B, Young DG.** Dispersal of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a Colombian focus of *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1992;87:397-403.
105. **Van der Hammen T.** Paleocology of Tropical South America. In: Prance GT, editor. *Biological diversification in the tropics*. New York: Columbia University Press; 1982. p.60-6.
106. **Andrade Filho JD, Brazil RP.** Relationships of New World phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) based on fossil evidence. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003;98(Supl.1):145-9.
107. **Alexander B, Agudelo LA, Navarro F, Ruiz F, Molina J, Aguilera G, et al.** Phlebotomine sandflies and leishmaniasis risks in Colombian coffee plantations under two systems of cultivation. *Med Vet Entomol* 2001; 15:364-73.

108. **Bejarano EE, Uribe S, Rojas W, Vélez ID.** Presence of *Lutzomyia evansi*, a vector of American visceral leishmaniasis, in an urban area of the Colombian Caribbean coast. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001;95: 27-8.
109. **Agudelo LA, Uribe J, Sierra D, Ruiz F, Vélez ID.** Presence of American cutaneous leishmaniasis vectors surrounding the city of Medellín, Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002;97:641-2.
110. **Travi BL, Adler GH, Lozano M, Cadena H, Montoya-Lerma J.** Impact of habitat degradation on phlebotominae (Diptera: Psychodidae) of tropical dry forests in Northern Colombia. *J Med Entomol* 2002;39: 451-6.
111. **Osorno-Mesa E, Morales-Alarcón A, Osorno F, Ferro-Vela C.** Phlebotominae de Colombia (Diptera, Psychodidae) IX. Distribución geográfica de especies de *Brumptomyia* França y Parrot, 1921 y *Lutzomyia* França, 1924 encontradas en Colombia S.A. *Rev Acad Colomb Cienc* 1972;14:45-68.
112. **Nieves E.** Problemas de colonización de especies flebotominas bajo condiciones de laboratorio con especial referencia a *Lutzomyia youngi*, *Lutzomyia ovallesi* y *Lutzomyia migonei* (tesis). Mérida, Venezuela: Universidad de Los Andes; 1995.
113. **Oviedo M, Moreno G, Graterol D.** Bionomía de los vectores de leishmaniasis visceral en el Estado Trujillo, Venezuela. III - Colonización de *Lutzomyia evansi*. *Bol Dir Malaria y San Amb* 1995;35(Suppl.1):269-76.
114. **Montoya-Lerma J, Cadena-Pena H, Jaramillo-Salazar C.** Rearing and colonization of *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae), a vector of visceral leishmaniasis in Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1998;93:263-8.
115. **Cabrera OL, Neira M, Bello F, Ferro C.** Ciclo de vida y colonización de *Lutzomyia ovallesi* (Diptera: Psychodidae), vector de *Leishmania* spp. en América Latina. *Biomédica* 1999;19:223-9.
116. **Neira M, Díaz-Martínez A, Bello F, Ferro C.** 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* 1998;18:251-5.
117. **Alexander B, Ferro C, Young DG, Morales A, Tesh RB.** Ecology of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in a focus of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in northeastern Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1992;87:387-95.
118. **Vélez ID, Travi BL, Gallego J, Palma GI, Agudelo SP, Montoya J, et al.** Evaluación ecoepidemiológica de la leishmaniosis visceral en la comunidad indígena Zenú de San Andrés de Sotavento, Córdoba: primer paso para su control. *Rev Colomb Entomol* 1995;21:111-22.
119. **Alexander B.** Biology and control of sand flies in Colombian coffee plantations. *Bol Dir Malaria y San Amb* 1995;35(Suppl.1):21-8.
120. **Pérez JE, Ogusuku E.** Nota sobre la descripción de *Lutzomyia verrucarum* (Townsend, 1913) (Diptera: Psychodidae). *Rev Per Ent* 1994;37:127-8.