

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA
CENTRO REGIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA
ESCUELA DE SALUD PÚBLICA DE MÉXICO

**“Diversidad de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) en localidades de la Región
Fronteriza de Chiapas, México”**

Tesis

Requisito parcial para obtener el grado de:

**Maestro en Ciencias de la Salud con área de concentración en Enfermedades
Transmitidas por Vector.**

Presenta:

QFB. Adriana Ramírez Osorio

Director de tesis:

Dr. Carlos Félix Marina Fernández

Asesores:

Dr. Juan Guillermo Bond Campeán

Dr. Sergio Ibáñez Bernal

Tapachula, Chiapas; México. Diciembre 2015

**Diversidad de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) en localidades de la
Región Fronteriza de Chiapas, México**

Artículo sometido de acuerdo a los requerimientos del Instituto Nacional de
Salud Pública para obtener el grado de Maestro en Ciencias de la Salud con
área de concentración en Enfermedades Transmitidas por Vector

Por:

Adriana Ramírez Osorio

Diciembre 2015

Dedicatoria:

A mi madre

Por tus buenos consejos, por tu apoyo en todo momento. Te amo!

A mi hermano y sobrinos

Fernando, Sebastián y Xavier, porque son el motor de mi vida. Cada logro es para ustedes.

Los amo angelitos!

Agradecimientos:

Al CONACYT, por el apoyo financiero otorgado al proyecto: CRISP-CONACYT-FOSSIS-69530 “Ecología e incriminación de vectores de Leishmaniasis Cutánea en la Región Fronteriza de Chiapas México”, del cual derivó este trabajo de tesis.

Al Dr. Carlos F. Marina Fernández, por permitirme trabajar en su proyecto y realizar esta tesis bajo su dirección. Por su confianza en mi trabajo, por su gran apoyo, paciencia, comprensión y por haberme facilitado siempre los medios suficientes para realizar esta tesis. Sobre todo agradezco su gran capacidad para guiar mis ideas y por todas las enseñanzas que no sólo me sirvieron para la realización de este escrito sino también en mi formación académica.

Al Dr. Guillermo Bond Campeán, por todo el apoyo que me ha brindado, por sus buenos consejos y por motivarme a trabajar en este tema, lo cual ha sido sin duda una de las mejores experiencias. Gracias por compartir sus conocimientos que me ayudaron mucho en el análisis de datos. Cada uno de sus comentarios y observaciones al manuscrito fueron importantes y ayudaron a enriquecer este trabajo.

Al Dr. Sergio Ibáñez, por su importante aporte a este escrito y su valioso apoyo en la identificación taxonómica de las especies. Gracias por compartir sus conocimientos y por tener siempre la mejor disposición al resolver mis dudas. Asimismo agradezco dedicar su preciado tiempo en la revisión de esta tesis.

Al MC. David Moo Llanes, por su apoyo incondicional, por su orientación a mis consultas sobre metodología, por prestar su tiempo en revisar este manuscrito, pero sobre todo por sus consejos y su valiosa amistad.

A la MC. Nelva Chirino Díaz, por su apoyo en el laboratorio, por estar al pendiente de lo que necesité y por ayudarme a montar e identificar los especímenes. A José Muñoz Reyes, por su apoyo en la recolecta e identificación de los insectos y por facilitarme siempre información necesarias para este trabajo. Asimismo agradezco a la MC. Angélica Pech May y a la IBT. Nohemí Cigarroa Toledo, por su colaboración en la previa identificación de las especies. Y a los técnicos Magner Roblero Díaz y Aníbal Velasco Duran, por la recolecta de insectos.

A mis amigos Keila, Evaristo y Carlos, por ser buenos compañeros, por convertirse en mi familia y compartir buenos y malos momentos durante estos dos años. Gracias porque a pesar de la distancia, siempre me hicieron llegar su apoyo, palabras de ánimo y todo su cariño. Los amo!

Resumen.

Los flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) pertenecen a la subfamilia Phlebotominae, con más de 800 especies descritas. Algunas especies son vectores de patógenos como: *Bartonella bacilliformis*, varios arbovirus de los géneros *Vesiculovirus* y *Phlebovirus*, y protozoos del género *Leishmania*. En este estudio se analizó la diversidad de flebotomíneos por localidad, tipo de vegetación y a diferentes distancias de la periferia en dos localidades endémicas de Leishmaniasis Cutánea: Guadalupe Miramar del municipio de Maravilla Tenejapa y San Antonio Buena Vista del municipio de la Independencia, de la Región Fronteriza de Chiapas, México. También se investigó la influencia de varios factores en la composición de especies en esta zona. Las colectas se realizaron de junio del 2009 a julio del 2010, usando trampas de luz tipo CDC. Un total de 3,989 ejemplares fueron recolectados; los cuales pertenecen a 10 géneros y 23 especies. Las especies más abundantes fueron: *Psathyromyia panamensis* (25.22%), *Lutzomyia hartmanni* (5.54%) y *Lu. cruciata* (5.36%). Los valores de riqueza (S), diversidad (H') y equidad (E) de especies fueron mayores en Guadalupe Miramar (S=23, H' =2.31, E=0.7) comparado con San Antonio Buena Vista (S=7, H' = 0.84, E= 0.4). En Guadalupe Miramar el valor más alto de diversidad en los tipos de vegetación fue en cultivos de café. También se observó la mayor diversidad a 50 m de la periferia de la localidad comparado con puntos de muestreo más distantes. En San Antonio Buena Vista no existió diferencia en los valores de diversidad analizada por puntos de muestreo y vegetación. En ambas localidades se observó una débil correlación de la abundancia de especies con la temperatura ambiente. Pero, la abundancia de especies no mostró correlación con la precipitación pluvial. Se identificaron seis especies de flebotomíneos de importancia médica en este estudio. Estas especies han sido señaladas como vectores sospechosos o comprobados de leishmaniasis en algunas regiones de México y América. Los resultados indican que la abundancia y diversidad de flebotomíneos podrían estar influenciadas por factores climáticos, tipo de vegetación y la actividad humana en la zona de estudio. Este es el primer estudio formal sobre diversidad de flebotomíneos en Chiapas, México. La información generada en este estudio actualiza el conocimiento sobre la ecología de flebotomíneos en esta región. Esta información puede ser importante en la planeación de programas de control de vectores y prevención de la leishmaniasis.

Palabras clave: Phlebotominae, Diversidad, Leishmaniasis.

Índice

1. Introducción	6
2. Materiales y métodos	9
2.1. Área de estudio y colecta de flebotomíneos	9
2.2. Montaje y determinación taxonómica de flebotomíneos.....	10
2.3. Análisis de datos.....	10
3. Resultados	11
3.1. Estructura de la comunidad de flebotomíneos	11
3.2. Análisis del esfuerzo de captura.....	13
3.3. Similitud de especies.....	13
3.4. Asociación de factores ambientales con la comunidad de flebotomíneos.....	14
4. Discusión	14
5. Referencias	18
6. Tablas y figuras	25

1. Introducción

Los flebotomíneos son dípteros que pertenecen a la familia Psychodidae, subfamilia Phlebotominae, de los cuales se han descrito más de 800 especies. Estas especies se encuentran distribuidas dentro de latitudes 50° Norte y 40° Sur, en el sur de Europa, Asia, África, Australia y América (Young & Duncan 1994, Killick-Kendrick 1999). De acuerdo a la clasificación de Lewis (1977), los flebotomíneos se dividen en seis géneros, tres para el Viejo Mundo: *Phlebotomus*, *Sergentomyia* y *Chinus*, y tres géneros para el Nuevo Mundo: *Lutzomyia*, *Brumptomyia* y *Warileya*. Los géneros con mayor riqueza de especies son: *Phlebotomus* (12.5%), *Sergentomyia* (31.25%) y *Lutzomyia* (>50%) (Salomón 2009). Actualmente existe una clasificación morfológica, propuesta por Galati (1995, 2003), que toma en cuenta aspectos filogenéticos, haciendo hincapié en América, en la que divide en dos tribus a la subfamilia Phlebotominae: Hertigiini y Phlebotomini; esta última está dividida en: Phlebotomina, Australophlebotomina, Sergentomyiina, Brumptomyiina, Psychodopygina y Lutzomyiina; cuyas especies americanas están dentro de las cuatro últimas subtribus. Además divide a Lutzomyiina en 16 géneros dentro de los cuales se encuentra *Lutzomyia*. En México, la riqueza de flebotomíneos es de 50 especies, de las cuales el 66% han sido registradas en el estado de Chiapas (Young & Duncan 1994, Ibáñez-Bernal *et al.* 2004, 2006, 2010, 2011, 2015).

El desarrollo larvario de los flebotomíneos se realiza en el suelo de hábitats húmedos, ricos en materia orgánica. Los insectos adultos se refugian en lugares oscuros y húmedos como: grietas de árboles, madrigueras o matorrales. Se alimentan de azúcares vegetales; y las hembras además requieren alimentarse de sangre para madurar sus huevos (Young & Arias 1991, Boelaert & Sundar 2014). Esta última característica hace que algunas especies de flebotomíneos sean consideradas de importancia médica, debido a que a través de su picadura transmiten agentes patógenos como: *Bartonella bacilliformis* (bacteria causante de la enfermedad de Carrión); varios arbovirus del género *Vesiculovirus*, familia Rhabdoviridae (causantes de estomatitis vesicular) y especies del género *Phlebovirus*, familia Bunyaviridae (agentes etiológicos de la fiebre por flebotomos); y protozoos del género *Leishmania*, familia Trypanosomatidae (causantes de leishmaniasis) (OMS 2010, Ready 2013).

La enfermedad de Carrión, bartonelosis o verruga peruana es endémica en las regiones andinas de Perú, Ecuador y Colombia. La tasa de mortalidad puede ser hasta del 90% si no se detecta a tiempo. El único vector comprobado de *B. bacilliformis* es *Lutzomyia verrucarum* (Fairchild) (Hambuch *et al.* 2004, Cohnstaedt *et al.* 2011). La fiebre por flebotomos, fiebre papataci o sandfly fever, es

endémica en las regiones subtropicales del hemisferio oriental, sobre todo en el sur de Europa y el este del Mediterráneo, el norte de África, el suroeste de Asia y la India, donde los principales vectores de los virus causantes de la enfermedad son especies del género *Phlebotomus*. La mortalidad por este padecimiento es insignificante; sin embargo es incapacitante, y su recuperación puede tardar varias semanas (Depaquit *et al.* 2010, Alkan *et al.* 2013). La estomatitis vesicular es endémica en México, este de Brasil, así como en áreas del sureste de Estados Unidos (Rodríguez 2002). Esta enfermedad afecta principalmente a animales domésticos y silvestres, aunque también a los humanos (Fields & Hawkins 1967, Letchworth *et al.* 1999). Los vectores de esta enfermedad son moscas negras (familia Simuliidae) y flebotomíneos, de estos últimos sólo la especie *Psathyromyia shannoni* (Dyar), ha sido comprobada como vector (Comer *et al.* 1994, Stallknecht 2000). Las leishmaniasis están presentes en los cinco continentes y son endémicas en 98 países del mundo, en los cuales está incluido México (OPS 2013). Se estima que a nivel mundial, más de 12 millones de personas están infectadas con algún tipo de leishmaniasis y cerca de 350 millones están en riesgo de adquirir la enfermedad (OPS 2013, OPS/OMS 2014). Más de 90 especies de flebotomíneos son vectores comprobados o sospechosos de transmitir leishmaniasis, 42 especies del género *Phlebotomus* en el Viejo Mundo y 56 especies de *Lutzomyia sensu lato* en el Nuevo Mundo (OMS 2010, Maroli *et al.* 2013). En México sólo *Bichromomyia olmeca olmeca* (Vargas & Díaz-Nájera) es considerado vector de leishmaniasis, al demostrarse que puede transmitir al humano el parásito *Leishmania mexicana* (Biagi *et al.* 1965). Sin embargo, la Secretaría de Salud también incluye dentro de las especies de importancia médica a: *Pa. shannoni*, *Lu. cruciata* (Coquillett), *Lu. diabolica* (Fairchild & Hertig), *Lu. longipalpis* (Lutz & Neiva), *Lu. gomezi*, *Nyssomyia ylephiletor* (Fairchild & Hertig), *Psychodopygus panamensis* (Shannon), *Pintomyia ovallesi* (Ortiz), *Pi. evansi* (Núñez-Tovar) y *Dampfomyia anthophora* (Addis), por su posible relación en la transmisión de estas enfermedades, debido a que se han encontrado infectados naturalmente con el agente etiológico, o bien por ser considerados vectores en países vecinos de México (SSA 2015).

En México las leishmaniasis están presentes en 25 estados, en varias de sus formas clínicas: Leishmaniasis Visceral, (LV), Leishmaniasis Mucocutánea, (LMC), Leishmaniasis Cutánea Localizada (LCL), y Leishmaniasis Cutánea Difusa (LCD). Durante el periodo de 1990 al 2015, se han reportado más de 19,000 casos de leishmaniasis. Los principales estados endémicos de la enfermedad son: Nayarit (9.14%), Chiapas (10.46%), Campeche (12.66%), Quintana Roo (29.72%) y Tabasco (33.91%) (SSA 1990-2015). A pesar de que en México se presentan cuatro formas clínicas, la LCL es la de mayor frecuencia (99% de los casos) (SSA 2015). La LCL afecta a habitantes de zonas selváticas y agrícolas donde se siembra café, cacao o árboles chicleños; razón

por la cual ha sido considerada como una enfermedad principalmente ocupacional (Becker *et al.* 2005, SSA 2015).

Los factores que influyen en la presencia de las diferentes especies de flebotomíneos en determinada área, son: la cantidad de materia orgánica en el suelo (para su desarrollo), la presencia de mamíferos de los que se puedan alimentar, el clima y la vegetación (Feliciangeli 2004, Ivovic *et al.* 2007, Valderrama *et al.* 2008, Pinto *et al.* 2010). Se ha reportado que el incremento de la riqueza y abundancia de ciertas especies de flebotomíneos está favorecida por grados de conservación de la selva (Silva *et al.* 2007, Pinto *et al.* 2010). La temperatura y la precipitación pluvial influyen también en la abundancia de flebotomíneos (Pérez *et al.* 2014, Menezes *et al.* 2015, Saraiva *et al.* 2015). Estudios de modelación de nichos ecológicos indican que el futuro cambio climático favorecerá las oportunidades para la expansión geográfica de los vectores y por lo tanto probablemente también de las leishmaniasis en América del Norte (Moo-Llanes *et al.* 2013).

En el estado de Chiapas, estudios recientes han dado a conocer algunos aspectos de abundancia relativa estacional y de la composición de especies de flebotomíneos en agroecosistemas de café y zonas urbanas de la Región Soconusco. En estos estudios fueron reportadas diez especies de flebotomíneos, siendo *Lu. cruciata* la más abundante (Mikery-Pacheco *et al.* 2012, 2015, Pérez *et al.* 2014). Se tiene también el listado de especies reportadas para el estado (Ibáñez-Bernal *et al.* 2015). Sin embargo a la fecha, no se tiene registro sobre estudios formales de diversidad de especies de flebotomíneos en Chiapas. El análisis de diversidad de especies puede caracterizar atributos como la abundancia y equidad de flebotomíneos, con la gran ventaja de ser analizados en conjunto a través de comunidades, en lugar de ser estudiadas de forma individual (Ostfeld & Keesing 2000, Moreno 2001).

En este estudio se analizó la diversidad de flebotomíneos y los factores que influyen en la composición de especies en dos localidades endémicas de LC, de la Región Fronteriza de Chiapas, con el objetivo de actualizar la información ecológica de los mismos, en particular de las especies de importancia médica. Esta información puede ser útil para diseñar una mejor planeación y optimización de programas de control de vectores, y para la implementación de medidas de prevención y control de las leishmaniasis en la región.

2. Materiales y métodos

2.1. Área de estudio y recolecta de flebotomíneos

El presente trabajo representa un estudio longitudinal retrospectivo. La muestra de flebotomíneos analizada se obtuvo durante el periodo de un año (julio del 2009 a junio del 2010), en dos localidades de la Región Fronteriza de Chiapas, México: Guadalupe Miramar y San Antonio Buena Vista (Fig. 1). Ambas localidades fueron seleccionadas de acuerdo a los antecedentes de casos de LCL, reportados por las autoridades del sector salud durante el año 2008.

La localidad de Guadalupe Miramar pertenece al municipio de Maravilla Tenejapa ($16^{\circ} 09'22.6''N$; $91^{\circ} 16'45.2''O$), presenta una altitud de 432 msnm. Se ubica en la sierra nororiental de Chiapas (Mullerried 1982). El clima es cálido húmedo, con una temperatura media anual de $32^{\circ}C$ y precipitación anual entre 1,500 y 3,000 mm (García 1988). La vegetación predominante es de bosque tropical perenne con algunas áreas de fragmentaciones (Rzedowski 2006). Esta localidad cuenta con 446 habitantes (INEGI 2011). Por su parte la localidad de San Antonio Buena Vista, del municipio de La Independencia ($16^{\circ} 09'08.9''N$; $91^{\circ} 38' 58.9''O$), presenta una altitud de 1,380 msnm y se ubica en la meseta central del estado (Mullerried 1982). El clima predominante es semicálido subhúmedo, con temperatura media anual de $21^{\circ}C$ y precipitación anual entre 600 y 1,200 mm (García 1988). La vegetación primaria ha sido perturbada; sin embargo aún se pueden encontrar manchones de bosque tropical y bosque de coníferas (Rzedowski 2006). Esta localidad cuenta con 1,487 habitantes (INEGI 2011).

Los muestreos se realizaron durante tres días consecutivos de cada mes, con trampas de luz blanca CDC (modelo 512; John W. Hock Company TM Gainesville, FL, USA). En cada localidad se establecieron cuatro transectos orientados hacia los puntos cardinales (norte, sur, este y oeste). En cada transecto se ubicaron cuatro puntos de muestreo a distancias de: 50, 100, 250 y 500 m, a partir de las últimas casas ubicadas en los límites de la localidad con la vegetación circundante. Las trampas se colocaron en dichos puntos a una altura de 0.5 m del suelo. Las capturas se realizaron en un horario de 18:00 a 06:00 h. La temperatura se registró al inicio y final de cada colecta. Los datos de precipitación pluvial se obtuvieron a partir de las estaciones meteorológicas de CONAGUA (Comisión Nacional del Agua), más cercanas a la zona de muestreo (estación Finca Chayabé para Guadalupe Miramar y estación Las Margaritas para San Antonio Buena Vista). Los flebotomíneos capturados se guardaron en frascos con etanol al 70% y fueron almacenados hasta su montaje y determinación taxonómica.

2.2. Montaje y determinación taxonómica de flebotomíneos

Los ejemplares colectados se montaron en el laboratorio de acuerdo a la metodología propuesta por Ibáñez-Bernal (2005), mediante el uso de microscopios (Carl Zeiss, Axiostar plus 176045 USA) a diferentes aumentos (10X, 40X y 100X). Para la determinación taxonómica y nomenclatura nominal se consideró el sistema de clasificación morfológica propuesta por Galati (1995, 2003); y se consideraron las abreviaturas de género de flebotomíneos propuesta por Brisola-Marcondes (2007).

2.3. Análisis de datos

Los datos obtenidos se organizaron en una base usando el programa Excel ® 2013, donde se calculó la riqueza y abundancia relativa de especies de flebotomíneos. La abundancia relativa se calculó mediante la fórmula: número total de ejemplares colectados de cada especie entre el total de ejemplares por muestra multiplicado por 100. La riqueza de especies se expresa como el total de especies encontrada en el área de estudio. Se determinó la diversidad (α) para las especies de flebotomíneos de las dos localidades de estudio, Guadalupe Miramar y San Antonio Buena Vista, mediante el índice de Shannon (H') y equidad de Shannon (E) (Magurran, 2004); así como para los diferentes puntos de muestreo de los transectos y para los diferentes tipos de vegetación presentes en cada localidad. Los índices de diversidad fueron estimados a través del programa estadístico Species Diversity and Richness, versión 3.02 (Henderson & Seaby 2002). Asimismo, una prueba de aleatorización se utilizó para determinar las diferencias significativas de los valores de H' , la cual se basa en la metodología descrita por Solow (1993). La precisión de los valores de H' se estimó mediante la técnica de Jackknife, que permite reducir el sesgo en la estimación del valor de la población y proporciona un error estándar (Southwood & Henderson, 2000).

Con la finalidad de determinar si el inventario de la riqueza biológica obtenida por medio de las muestras se acerca a la totalidad de las especies presentes en la población y posibilitar su comparación, se construyeron curvas de acumulación de especies para cada localidad (Magurran 2004). La ecuación de Clench se utilizó para modelar la relación entre el esfuerzo de muestreo y el número de especies colectadas (Moreno & Halfpter 2000, Jiménez-Valverde & Hortal 2003). El criterio para considerar si el inventario de especies obtenido es suficientemente fiable para la ecuación de Clench, es cuando el cálculo del valor de la pendiente es aproximadamente <0.1 (Jiménez-Valverde & Hortal 2003).

El índice de similitud de Morisita-Horn se estimó para la comparación de la composición de especies de flebotomíneos en los diferentes tipos de vegetación y puntos de muestreo en los transectos (diversidad β) (Magurran 2004); usando el programa estadístico EstimateS versión 7.5.1 (Colwell 2012). Asimismo, se realizó un Análisis Cluster mediante el programa estadístico Statistica StatSoft, versión 7.0 (Wolda 1981). La prueba de correlación de Pearson se utilizó para determinar la asociación entre la estacionalidad de la abundancia de especies con parámetros climáticos de temperatura y precipitación pluvial.

3. Resultados

3.1. Estructura de la comunidad de flebotomíneos

a) Riqueza y abundancia de especies

El total de flebotomíneos colectados fue de 3,989 ejemplares (97.22% de Guadalupe Miramar y 2.78% de San Antonio Buena Vista) pertenecientes a 10 géneros: *Dampfomyia* (38.78%), *Psychodopygus* (29.98%), *Lutzomyia* (11.16%), *Psathyromyia* (7.85%), *Pintomyia* (4.44%), *Nissomyia* (4.24%), *Bruptomyia* (2.56%), *Bichromomyia* (0.60%), *Micropygomyia* (0.35%) y *Trichopygomyia* (0.05%). Las hembras de las especies *Bruptomyia hamata* (Fairchild & Hertig) y *Br. mesai* (Sherlock), no pueden ser taxonómicamente diferenciadas, por lo que estas se integraron en *Br. sp.* Además, las hembras de las especies *Dampfomyia beltrani* (Vargas & Díaz-Nájera) y *Da. disneyi* (Williams) son muy similares y sólo pueden ser diferenciadas de *Da. deleoni* (Fairchild & Hertig) por la forma de su espermoteca, pero no siempre es posible verla, debido a ello y a que estas especies son simpátricas en el área de estudio, se identificaron como *Da. (Coromyia) sp.* Lo mismo sucedió en el caso del género *Psathyromyia (Psathyromyia)* donde las hembras de la especie *Pa. undulata* (Fairchild & Hertig) pueden confundirse con la especie *Pa. cratifer* (Fairchild & Hertig). Por lo tanto, las tres especies más abundantes, del total de las dos comunidades, fueron: *Ps. panamensis* (25.22%), *Lu. hartmanni* (Fairchild & Hertig) (5.54%) y *Lu. cruciata* (5.36%). La riqueza de especies varió en las dos comunidades, mientras en Guadalupe Miramar se capturó un total de 23 especies, en San Antonio Buena Vista sólo se registraron 7 especies. Las tres especies más abundantes para Guadalupe Miramar fueron: *Ps. panamensis* (25.94%) y *Lu. hartmanni* (5.70%) y *Pa. carpenteri* (5.29%). En San Antonio Buena Vista las más abundantes fueron: *Lu. cruciata* (80.18%), *Pa. shannoni* (5.41%) y *Pi. ovallesi* (4.50%). Es importante mencionar que estas tres últimas especies, además de *Lu. panamensis*, *Bi. olmeca olmeca* y *Ny. ylephiletor* forman parte de las especies de importancia médica en México que se registraron en este estudio (Tabla 1).

b) Diversidad de especies

Los valores de índice de diversidad de Shannon para las especies de flebotomíneos de cada localidad (diversidad total), indicó que existen diferencias significativas evidentes entre ellas ($t=11.88$, $P < 0.05$), siendo el valor de diversidad para Guadalupe Miramar ($H' = 2.31$) significativamente mayor comparado con el valor de diversidad de San Antonio Buena Vista ($H' = 0.84$). El valor de equidad de especies también fue mayor en Guadalupe Miramar ($E = 0.7004$) comparado con el de San Antonio Buena Vista ($E = 0.4046$). Al analizar los valores de diversidad de especies en los distintos puntos de muestreo de los transectos en cada una de las localidades, se encontró que en Guadalupe Miramar se registró el valor de diversidad de especies significativamente más alto a 50 m de distancia de la comunidad ($H' = 2.45$), comparado con los demás puntos de muestreo ($t = 2.05 - 5.03$, $P < 0.05$). También se encontraron diferencias significativas entre los valores de diversidad de los puntos 100 y 500 m ($t = 2.67$, $P < 0.05$) (Tabla 2). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los valores de diversidad de los puntos 100 ($H' = 2.32$) y 250 m ($H' = 2.24$) ($t = 1.45$, $P > 0.05$). Asimismo, al comparar los valores de diversidad a 250 y 500 m ($H' = 2.17$); tampoco hubo diferencia significativa ($t = 1.50$, $P > 0.05$). Los valores de equidad de especies en cada uno de los puntos de muestreo fue de 0.7 o más, excepto a 250 m donde se obtuvo el valor más bajo ($E = 0.68$), lo que indica una baja diferencia en la abundancia de cada especie registrada en las diferentes distancias de muestreo. En la localidad de San Antonio Buena Vista no existieron diferencias significativas en los valores de diversidad de especies de flebotomíneos a las distintas distancias de muestreo con respecto a la periferia de la localidad ($t = 0.82-0.92$, $P > 0.05$); es decir los valores de diversidad fueron similares ($H' = 0.54-0.81$) en todos los puntos. El mayor índice de equidad de especies de flebotomíneos en los diferentes puntos de muestreo en San Antonio Buena Vista, fue a 50 m de distancia de la localidad con un valor de 0.57. Los demás valores de equidad estuvieron debajo del valor registrado a 50 m, es decir que la diferencia entre la abundancia de especies fue alta en cada uno de los casos (Tabla 2).

Los tipos de vegetación presentes en la localidad de Guadalupe Miramar fueron: acahual, cultivo de café y selva. En San Antonio Buena Vista sólo se observó vegetación de acahual y cultivo de café. En Guadalupe Miramar los valores de diversidad en los diferentes tipos de vegetación fueron muy variables. El valor de diversidad de flebotomíneos significativamente más alto fue en la zona con plantaciones de café ($H' = 2.42$) comparado con la vegetación de acahual ($H' = 2.28$), ($t = 2.22$, $P < 0.05$) y selva ($H' = 2.12$), ($t = 2.64$, $P < 0.05$), siendo este último el más bajo de los valores de diversidad. En San Antonio Buena Vista no hubo diferencia significativa entre los valores de diversidad en los dos tipos de vegetación presente ($t = 0.21$, $P > 0.05$), es decir la diversidad de

flebotomíneos fue similar entre la vegetación de acahual ($H' = 0.83$) y cultivo de café ($H' = 0.78$) (Tabla 3).

La técnica de Jackknife indicó que los valores de diversidad, fueron ligeramente subestimados, con un error de 0.27%, para los distintos puntos de muestreo en los transectos en Guadalupe Miramar. La precisión con la que fueron calculados los valores de diversidad en los puntos de muestreo en los transectos de San Antonio Buena Vista, mostró un error de 5.87%. Asimismo, se encontró un error de tan sólo 0.54% para los valores de diversidad de los diferentes tipos de vegetación presentes en Guadalupe Miramar, contrario a San Antonio Buena Vista donde se encontró un error de 4.68% en los valores de diversidad calculados para la vegetación de acahual y cultivo de café (Tabla 4).

3.2. Análisis del esfuerzo de captura

La curva de acumulación de especies construida para la localidad de Guadalupe Miramar, muestra tendencia hacia la forma asíntota a partir de 12 muestras y 23 especies (Fig. 2A). El número de especies esperadas de acuerdo a la Ecuación de Clench ($a=48.20$, $b=2.04$), fue de 22.74 (≈ 23) y el cálculo del valor de la pendiente fue de 0.07. Por lo que el esfuerzo de captura fue adecuado y el inventario de especies fue suficientemente fiable para esta localidad. En la curva de acumulación de especies estimada para San Antonio Buena Vista, la asíntota se alcanzó a partir de 12 muestras y 6 especies (Fig. 2B). De acuerdo a la ecuación de Clench ($a=2.18$, $b=0.23$), el número de especies esperadas fue de 6.82 (≈ 7) y el valor calculado para la asíntota fue de 1.0. Por lo que el esfuerzo de captura fue adecuado y el inventario de especies también es fiable para esta localidad.

3.3. Similitud de especies

La composición de especies de flebotomíneos en los diferentes puntos de muestreo en Guadalupe Miramar, a través del análisis de Morisita-Horn, estuvo dentro de un intervalo de 0.895 a 0.988 de similitud. El valor de similitud más bajo (0.895) se presentó entre los puntos 100 y 500 m de distancia de la periferia de las casas de esta localidad. En tanto que el valor de similitud más alto (0.988) se presentó entre los puntos 100 y 250 m (Tabla 5). Estos resultados coincidieron con el Análisis Cluster en donde los puntos de muestreo de 100 y 250 m de la periferia formaron el grupo más cercano (Fig. 3A). En San Antonio Buena vista, los valores de similitud de especies en los puntos de muestreo oscilaron entre 0.972 a 0.989. El valor de similitud más bajo (0.972) se presentó entre los puntos de muestreo a 50 y 100 m de distancia de la localidad. El valor de similitud más alto (0.989) fue entre 250 y 500 m de distancia de la periferia de la localidad (Tabla 5). Esto

concuera con el Análisis Cluster donde los puntos de muestreo a 250 y 500 m de distancia formaron el grupo más cercano (Fig. 3B). El análisis de similitud entre los diferentes tipos de vegetación encontrados en Guadalupe Miramar varió entre valores de 0.873 a 0.936. La vegetación de acahual y cultivo de café tuvieron el valor de similitud más bajo (0.873). El valor más alto de similitud de especies se observó entre la selva y cultivo de café (0.936). El Análisis Cluster también demostró una mayor semejanza entre estos dos últimos tipos de vegetación en esta localidad. En la localidad de San Antonio Buena Vista, el valor de similitud de especies entre el cultivo de café y acahual fue de 0.992 (Tabla 5). No se realizó un Análisis Cluster debido a que sólo se contó con dos muestras, en este último caso.

3.4. Asociación de factores ambientales con la comunidad de flebotomíneos

La captura de flebotomíneos en Guadalupe Miramar, se realizó dentro de intervalos de temperatura de 22.55 a 32.60 °C y precipitación pluvial de 0 a 87 mm. La temperatura más alta (32.60 °C) se registró en el mes de mayo, mes en el que se colectó el mayor número de especímenes (753 ejemplares). La correlación entre la abundancia de flebotomíneos y la temperatura fue débil ($r=0.52$, $r^2=0.27$, $P<0.05$). No existió correlación, entre la ocurrencia de la captura de flebotomíneos y la precipitación pluvial en esta localidad ($r=0.13$, $r^2=0.02$, $P>0.05$) (Fig. 4A). La captura de flebotomíneos en San Antonio Buena Vista se realizó entre temperaturas de 15.90 a 25.25°C y precipitación pluvial de 0 a 28.2 mm. El mayor número de flebotomíneos se colectó en los meses de mayo y abril (33 y 32 ejemplares, respectivamente), en donde se registraron temperaturas entre 21.45 y 24.25°C. En el mes de enero y febrero no se colectaron flebotomíneos. En estos meses se registraron temperaturas bajas de 15.90 a 20°C. La correlación entre la abundancia de flebotomíneos y la temperatura fue débil ($r=0.47$, $r^2=0.22$, $P<0.05$). No existió correlación entre la cantidad de flebotomíneos colectados y la precipitación pluvial ($r=0.03$, $r^2=0.001$, $P>0.05$) (Figura 4B).

4. Discusión

El presente trabajo registró el 46% de la riqueza total de flebotomíneos reconocidos en México, y el 70% de las especies registradas para el estado de Chiapas. Este resultado fue similar a un estudio paralelo realizado en la misma zona, donde se reportó una riqueza de 26 especies; tres especies más que en este estudio: *Lutzomyia longipalpis*, *Psathyromyia aclydifera* (Fairchild & Hertig) y *Micropygomyia chiapanensis* (Dampf). Estas tres especies fueron colectadas con el mismo método de colecta utilizado en este estudio, aunque con abundancia muy baja (dos ejemplares por especie) (Ibáñez-Bernal *et al.* 2015). Varios autores mencionan que las técnicas de muestreo empleada puede

afectar la probabilidad de que ciertas especies sean o no capturadas (Rebollar *et al.* 2005, May-Uc *eta al.* 2011, Pérez *et al.* 2014). Por ejemplo especies antropofílicas como *Lu. cruciata*, son mayormente capturadas en trampas Shannon (Rebollar *et al.* 1996). Por lo que probablemente *Lu. longipalpis* pudo colectarse con mayor probabilidad con trampas con cebo humano o animal; debido a que se alimentan de vertebrados, entre ellos los humanos (Ibáñez-Bernal *et al.* 2015). Sin embargo, el uso de trampas con un cebo específico causa sesgos en la abundancia de especies, debido a que responden a un cebo en particular, en cambio con las trampas de luz, hay una respuesta más general de las especies. Por otra parte, el inventario de especies en determinado lugar puede cambiar con el tiempo. Existen especies raras o que no son estables a lo largo del tiempo, su distribución puede ampliarse o reducirse de acuerdo a factores ambientales, pudiendo no estar presentes por todo un año (Alexander 2000, Adler & Lauenroth 2003). En México la especie *Pa. aclydifera* sólo se ha registrado en el estado de Chiapas y su abundancia es considerablemente menor en comparación con otras especies (Ibáñez-Bernal *et al.* 2015). Por lo tanto la riqueza de especies depende también del espacio y periodo temporal en el que fueron colectadas las muestras.

La curva de acumulación de especies permite dar fiabilidad al inventario de especies registradas para cierto lugar; debido a que en ella se relaciona el esfuerzo de muestreo con el nuevo registro de especies. Cuanto mayor sea el esfuerzo, mayor serán las especies registradas (Ugland *et al.* 2003, Jiménez-Valverde & Hortal 2003). Las especies comunes hacen que la curva aumente y a medida de que esto sucede, las especies raras y los individuos pertenecientes a otros lugares hacen que la pendiente de la curva tienda a una asíntota (Moreno & Halffter 2000). En ambas localidades de estudio el esfuerzo de muestreo fue suficiente, encontrando el total de especies esperadas con trampas CDC durante el año de colecta.

El grado de perturbación de la vegetación es uno de los factores que varios autores destacan como variable responsable de las diferencias de diversidad y abundancia de flebotomíneos en determinada área. Estudios realizados en zonas endémicas de leishmaniasis en América, reportan que existe una mayor abundancia y diversidad de especies en zonas selváticas o bosques conservados, comparado con zonas modificadas por la inserción de cultivos o la introducción de viviendas (Silva *et al.* 2007, Pinto *et al.* 2010, Carvalho *et al.* 2013, Saraiva *et al.* 2015). Esto coincide con el análisis de diversidad realizado por localidad en este estudio, en donde la mayor abundancia y diversidad de especies de flebotomíneos fue en Guadalupe Miramar, zona en donde la vegetación primaria ha sido menos perturbada comparada con San Antonio Buena Vista.

Se debe destacar que en Guadalupe Miramar se localizaron tres tipos de vegetación a diferencia de San Antonio Buena Vista donde sólo se encontraron dos. Se ha aseverado que entre mayor

diversidad de hábitats (heterogeneidad espacial) exista en determinado lugar, habrá también una mayor cantidad de especies animales (Janzen & Schoener 1968, Janzen 1987). La presencia de mamíferos de los cuales se puedan alimentar algunas especies de flebotomíneos es otro factor que tiene influencia sobre su diversidad (Young & Arias 1992, Pinto *et al.* 2010). Aunque en este estudio no se realizó un estudio de la diversidad de mamíferos presentes en cada localidad; un estudio paralelo realizado en esta misma zona, reportó que en Guadalupe Miramar se capturaron seis especies de mamíferos silvestres correspondientes a dos órdenes: Rodentia con las especies *Mus musculus* y *Rattus rattus*; y el orden Didelphimorphia con *Philander oposum*, *Chironectes minimus*, *Didelphis marsupialis* y *D. virginiana*. Mientras que en San Antonio Buena Vista sólo se reportó esta última especie del orden Didelphimorphia y dos especies del orden Rodentia: *Mus musculus* y *Reithrodontomys sumichrasti* (Cigarroa 2011). Esto sugiere que probablemente, el alto valor de riqueza y diversidad de especies de flebotomíneos en Guadalupe Miramar pueden estar relacionados no sólo con el grado de conservación de la localidad, sino también con la diversidad de mamíferos de los cuales se pueden estar alimentando. Aunque también puede ser que exista un conjunto de factores bióticos y abióticos que favorecen la presencia de las especies en esta zona, recordando además que las localidades estudiadas se encuentran a diferentes altitudes.

Por otra parte, a pesar de que la localidad de Guadalupe Miramar presentó el mayor valor de diversidad de especies con respecto a San Antonio Buena Vista, al realizar el análisis de diversidad, separando las muestras por tipos de vegetación, se encontró que en Guadalupe Miramar la vegetación primaria (selva) registró el menor valor de diversidad de especies y el cultivo de café fue el de mayor valor. Esto podría contradecir el hecho de que a mayor grado de conservación de la vegetación existe una mayor diversidad de especies. Sin embargo, un estudio realizado en Panamá reportó algo similar, en donde la abundancia y diversidad de especies fue mayor en muestras donde se encontraban manchones de bosque primario, pero cuando las muestras se agruparon de acuerdo a las características paisajísticas de los lugares, el valor más alto de diversidad de especies se presentó en los lugares de entorno rural, por lo que estos autores sugirieron que las actividades humanas tienen también un impacto en la diversidad de especies (Valderrama *et al.* 2011). Aunque también se debe tener en cuenta que en la ecología de paisaje, un paisaje que presenta un mosaico de distintos hábitats, representa mayor cantidad de recursos para las especies y por lo tanto una mayor diversidad (Troll 2010). Se ha reportado que en zonas cafetaleras, se encuentran también lugares de descanso y cría para los flebotomíneos (Alexander & Usma 1994); y el cultivo de café es una de las principales actividades agrícolas en la zona de estudio (INEGI 2011). La influencia de las actividades humanas en la diversidad y abundancia de flebotomíneos también puede ser apoyada por los resultados del análisis por punto de muestreo en Guadalupe Miramar. El valor de diversidad

de especies fue mayor a 50 m de distancia de la periferia de la localidad, donde existe una mayor actividad humana; comparada con los valores de diversidad de los puntos de muestreo más distantes. Sin embargo, en San Antonio Buena Vista no hubo diferencia significativa en la diversidad de especies, tanto en los dos tipos de vegetación presentes, como a las diferentes distancias de los puntos de muestreo.

En San Antonio Buena Vista, las zonas muestreadas eran hábitats alterados con gran similitud de especies, aunque en los puntos de muestreo más cercano a la periferia de la localidad (50 y 100 m de distancia) los valores de similitud fueron los más bajos. Esto podría sugerir que existen especies que no han logrado adaptarse del todo a condiciones que ofrecen las áreas perturbadas por acción antropogénica. Los resultados de equidad de especies fueron muy bajos tanto en los puntos de muestreo como en los tipos de vegetación, por lo que algunas especies son más abundantes que otras. En San Antonio Buena Vista la especie colectada con mayor abundancia fue *Lu. cruciata* lo que concuerda con otros estudios realizados en Chiapas en zonas cafetaleras de la región Soconusco y zonas verdes urbanas (Mikery-Pacheco *et al.* 2012, 2015, Pérez *et al.* 2014) demostrando su capacidad de establecerse en zonas perturbadas.

En este estudio no se encontró asociación significativa entre la abundancia de flebotomíneos y la precipitación pluvial, sólo se registró una débil correlación entre la abundancia de flebotomíneos y la temperatura en cada una de las localidades. En un estudio realizado en la Región Soconusco de Chiapas, se encontró una correlación significativa entre la abundancia de flebotomíneos y la temperatura, pero no se encontró correlación significativa con la precipitación pluvial al igual que nuestro estudio (Pérez *et al.* 2014). Sin embargo, en estudios recientes se ha reportado que la abundancia de los flebotomíneos se correlaciona significativamente no sólo con temperatura, sino también con la precipitación pluvial; tanto en áreas conservadas como en perturbadas (Menezes *et al.* 2015, Saraiva *et al.* 2015). Una de las limitaciones de este estudio fue que los datos de precipitación pluvial fueron recabados de estaciones meteorológicas que estaban ubicadas a 17 km de Guadalupe Miramar y a 9 km de San Antonio Buena Vista.

El registro de especies de importancia médica en este estudio, como: *Lu. cruciata*, *Pa. shannoni*, *Pi. ovallesi*, *Ny. ylephiletor*, *Ps. panamensis* y *Bi. o. olmeca*, merece ser destacado. Pues aunque únicamente se ha comprobado como vector de leishmaniasis a *Bi. o. olmeca*, las demás especies han sido encontradas infectadas naturalmente con *Leishmania mexicana* en Campeche (Pech-May *et al.* 2010). Además, en un estudio reciente se reportó a *Pi. ovallesi* infectada naturalmente con el mismo patógeno en una localidad ubicada a siete km de Guadalupe Miramar en la misma zona de muestreo (Morales 2015). Guadalupe Miramar fue la localidad con mayor número de especímenes

colectados y mayor riqueza de especies, de las dos comunidades muestreadas. Asimismo, en esta localidad se encontraron las seis especies de importancia médica antes descritas, representando el 39% de las especies colectadas. Aunque, en San Antonio Buena Vista sólo se reportó una riqueza de siete especies, cuatro de ellas son consideradas de importancia médica: *Lu.cruciata*, *Pa.shannoni*, *Pi. ovallesi* y *Ny. ylephiletor*, las cuales suman el 91% de los especímenes colectados en esa localidad. En cuanto a estos datos, se vuelve extremadamente importante el monitoreo de la riqueza y diversidad de flebotomíneos presentes en estas comunidades, en donde se han reportado casos de leishmaniasis por la SSA. La principal aportación de este estudio es que muestra la diversidad de especies presentes en diferentes tipos de hábitat de Chiapas, midiendo la influencia que diferentes factores ambientales tienen sobre los flebotomíneos; proporcionando así una actualización de la información ecológica de los flebotomíneos para estas dos localidades de la Región Fronteriza e información importante para el control de vectores de leishmaniasis.

5. Referencias

- Adler, PB & Lauenroth, WK. (2003). The power of time: spatiotemporal scaling of species diversity. *Ecol. Lett*, 6, 749-756.
- Alexander, B & Usma, MC. (1994). Potential source of sugar for the phlebotomine sandfly (Diptera: Psychodidae) in a Colombian coffee plantation. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 88, 543-549.
- Alexander, B. (2000). Sampling methods for phlebotomine sandflies. *Med. Vet. Entomol.*, 14, 109-122.
- Alkan, C, Bichaud, L, de Lamballerie, X, Alten, B, Gould, EA & Charrel, RN. (2013). Sandfly-borne phleboviruses of Eurasia and Africa: Epidemiology, genetic diversity, geographic range, control measures. *Antiviral Research*, 100, 54-74.
- Becker, I, Carrada-Figueroa, G, Gudiño-Zayas, M, González, C, Berzunza-Cruz, MB, Rivas-Sánchez, O & Velasco-Castrejón. (2005). Análisis de la leishmaniasis en México, pp. 27-33. Consulta de expertos OPS/OMS sobre la leishmaniasis visceral en las Américas. Informe Final. Brasilia, Brasil. Noviembre del 23-25.
- Biagi, F, de Biagi, A & Beltrán, F. (1965). *Phlebotomus flaviscutellatus*, transmisor natural de *Leishmania mexicana*. *Prensa Med México*, 30, 267-72.

- Boelaert, M & Sundar, S. (2014). Leishmaniasis. Manson's Tropical Infectious Diseases (Twenty-third Edition). Elsevier Saunders, 735-756 pp.
- Brisola-Marcondes, C. (2007). A proposal of generic and subgeneric abbreviations for phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) of the world. Entomol. News, 118 (4), 351-356.
- Carvalho, GMdL, Brazil, RP, Ramos, MCdNF, Serra, e Meira PCL, Zenóbio APLdA, *et al.* (2013). Ecological aspects of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) from a cave of the speleological province of Bambuí, Brazil. PloS one, 8(10).
- Cigarroa, TN. (2011). Detección de reservorios de Leishmaniasis cutánea en mamíferos silvestres y domésticos en la región Fronteriza de Chiapas, México. Tesis de Lic. Universidad Autónoma de Chiapas. Chiapas, México.
- Cohnstaedt, LW, Beati, L, Caceres, AG, Ferro, C & Munstermann, LE. (2011). Phylogenetics of the phlebotomine sand fly group Verrucarum (Diptera: Psychodidae: *Lutzomyia*). Am. J. Trop. Med. Hyg., 84, 913–22.
- Colwell, RK, Chao, A, Gotelli, NJ, Lin, SY, Mao, CX, Chazdon, RL & Longino, JT (2012). Models and estimators linking individual-based and sample-based rarefaction, extrapolation, and comparison of assemblages. J. Plant Ecol., 5, 3-21.
- Comer, JA, Kavanaugh, DM, Stallknecht, DE & Corn, JL. (1994). Population dynamics of *Lutzomyia shannoni* (Diptera: Psychodidae) in relation to the epizootiology of vesicular stomatitis virus on Ossabaw Island, Georgia. J. Med. Entomol., 31(6), 850-854.
- Depaquit, J, Grandadam, M, Fouque, F, Andry, P & Peyrefitte. (2010). Arthropod-borne viruses transmitted by phlebotomine sandflies in Europe: a review. Euro Surveillance 15,19507. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19507>
- Feliciangeli, MD. (2004). Natural breeding places of Phlebotominae sandflies. Med. Vet. Entomol., 18, 71-80.
- Fields, BN, & Hawkins, K. (1967). Human infection with the virus of vesicular stomatitis during an epizootic. New England J. Med., 277(19), 989-994.
- Galati, EAB. (1995). Phylogenetic systematics of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) with emphasis on American groups. Boletín de la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental, 35 (1), 133-142.

- Galati, EAB. (2003). Morfología e Taxonomia. 2.2 - Morfología, terminología de adultos e identificação dos táxons da América. En EF Rangel, R Lainson (eds), Flebotomíneos do Brazil, Fiocruz, Rio de Janeiro, 53-175.
- García, E. (1988). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen, para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana. Instituto de Geografía. UNAM. México, D. F., 205 pp.
- Hambuch, TM, Handley, SA, Ellis, B, Chamberlin, J, Romero, S & Regnery, R. (2004). Population genetic analysis of *Bartonella bacilliformis* isolates from areas of Peru where Carrion's disease is endemic and epidemic. J. Clin. Microbiol., 42, 3675-80.
- Henderson, PA & Seaby, RM: (2002). Species Diversity and Richness III v 3.0.2. Lynton, UK: Pisces Conservation Ltd.
- Ibáñez-Bernal, S, Hernández, R & Mendoza, F. (2006). Collections of Bruchomyiinae and Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) from the north-central portion of the state of Veracruz, Mexico, with the description of a new species. Zootaxa, 1270, 19-33.
- Ibáñez-Bernal, S, May-Uc & Rebollar-Téllez, EA. (2010). Two new species of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) from Quintana Roo, México. Zootaxa, 2448, 26-34.
- Ibáñez-Bernal, S, Muñoz, J, Rebollar-Téllez, EA, Pech-May, A & Marina, CF. (2015). Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) collected near the Mexican border of Chiapas with Guatemala, with an updated list of Mexican species. Zootaxa. 3994(2), 151
- Ibáñez-Bernal, S, Rodríguez-Domínguez, G, Gómez-Hernández, CH & Ricardez-Esquinca, JR (2004). First Record of *Lutzomyia evansi* (Nuñez-Tovar 1924) in Mexico (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 99, 127-129.
- Ibáñez-Bernal, S, Suárez-Landa, MT & Mendoza, F. (2011). An updated checklist of the phlebotomine sandflies of Veracruz, Mexico (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). Zootaxa, 2928, 29-40.
- Ibáñez-Bernal, S. (2005). Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) de México. V. Clave ilustrada para la identificación de los machos de *Lutzomyia* França. Folia Entomol. Mex., 44(1), 49-66.
- INEGI (2011). Instituto Nacional de Estadística y Geografía, <http://www.inegi.org.mx>.

- Ivovic, VM, Patakakis, Y, Tselentis & Chaniotis, B. (2007). Faunistic study of sandflies in Greece. *Med. Vet. Entomol.*, 21,121-124.
- Janzen, DH, & Schoener, TW. (1968). Differences in insect abundance and diversity between wetter and drier sites during a tropical dry season. *Ecol.*, 96-110.
- Janzen, DH. (1987). Insect diversity of a Costa Rican dry forest: Why keep it, and how? *Biol. J. Linnean Soc.*, 30(4), 343-356.
- Jiménez-Valverde, A & Hortal, J. (2003). Las curvas de acumulación de especies y la necesidad de evaluar la calidad de los inventarios biológicos. *Rev. Ibérica de Aracnología*, 8, 151-161.
- Letchworth, GJ, Rodríguez, LL & Del C Barrera J. (1999). Vesicular stomatitis. *Vet J.*, 157, 239-60.
- Lewis, D, Young, D, Minter, D & Fairchild, G. (1977). Proposals for stable classification on the Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). *Syst. Entomol.*, 2, 319-332.
- Magurran, AE. (2004). *Measuring biological Diversity*. Blackwell Publishing. Cowley Road, Oxford, UK. 256 pp.
- Maroli, M., Feliciangeli, MD, Bichaud, L, Charrel, RN & Gradoni, L. (2013). Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. *Med. Vet. Entomol.*, 27, 123-147.
- May-Uc, E, Hernández-Arana, HA, & Rebollar-Téllez, EA. (2011). Distribución de flebotominos (Diptera: Psychodidae) en Quintana Roo, México. *Acta Zool. Mex.*, 27(2), 273-289.
- Menezes, JA, Ferreira, EDC, Andrade-Filho, JD, Sousa, AMD, Morais, M.HG, Rocha, AMS, & Margonari, C. (2015). An Integrated Approach Using Spatial Analysis to Study the Risk Factors for Leishmaniasis in Area of Recent Transmission. *Bio. Med. research international*, 15, 621854. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/621854>
- Mikery-Pacheco, O, Marina, CF, Ibáñez-Bernal, S, Sánchez-Guillén, D & Castillo-Vera A. (2012). Infección natural de *Lutzomyia cruciata* (Díptera: Psychodidae, Phlebotominae) con *Wolbachia* en cafetales del Chiapas, México. *Acta Zool. Mex.*, 28, 401-413.
- Mikery-Pacheco, OF, León, JC, Rebollar-Téllez, EA & Vera, AC. (2015). Sandfly (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) species diversity in an urban area of the municipality of Tapachula, Chiapas, Mexico. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 110(1), 142-144.

- Moo-Llanes, D, Ibarra-Cerdeña, CN, Rebollar-Téllez, EA, Ibáñez-Bernal, S, González, C & Ramsey, JM. (2013). Current and future niche of North and Central American sand flies (Diptera: Psychodidae) in climate change scenarios. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 7(9), 2421.
- Morales, RE (2015). Identificación de fuentes alimenticias en *Lutzomyia* spp. y detección de infección natural por *Leishmania* spp. en localidades de la región Fronteriza, Chiapas; México. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias de la Salud. INSP, México.
- Moreno, CE & Halffter G. (2000). Assessing the completeness of bat biodiversity inventories using species accumulation curves. *J. Appl. Ecol.*, 37, 149-158
- Moreno, CE. (2001). Métodos para Medir la Biodiversidad. Sociedad de Entomológica Aragonesa (SEA). Vol. 1. Zaragoza, España. 84 pp.
- Mulleried, FKG. (1982). Geología de Chiapas. Colección libros de Chiapas. Segunda edición. Editorial La comisión. 180 pp.
- OMS (2010). Control de las leishmaniasis. Informe de una reunión del Comité de Expertos de la OMS sobre el Control de las Leishmaniasis, Organización mundial de la salud, Serie de Informes técnicos, Ginebra.
- OPS (2013). Leishmaniasis. Informe epidemiológico de las américas No1. Organización Panamericana de la Salud.
- OPS/OMS (2014). Leishmaniasis. Pequeñas picaduras, grandes amenazas. Organización Panamericana de la Salud/ Organización Mundial de la Salud.
- Ostfeld, RS & Keesing, F. (2000). Biodiversity series: the function of biodiversity in the ecology of vector-borne zoonotic diseases. *Canadian J. Zool.*, 78(12), 2061-2078.
- Pech-May, A, Escobedo, F, Berzunza-Cruz, M & Rebollar-Téllez, EA. (2010). Incrimination of four sand fly previously unrecognized as vectors of *Leishmania* parasites in Mexico. *Med. Vet. Entomol.*, 24, 150–161.
- Pérez, J, Virgen, A, Rojas, JC, Rebollar-Téllez, EA, Castillo A, Infante, F, Mikery, O, Marina, CF & Ibáñez-Bernal, S. (2014). Species composition and seasonal abundance of sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in coffee agroecosystems. *Mem. Instit. Oswaldo Cruz*, 109(1), 80-86.

- Pinto, SI, Dos Santos, CB, Ferreira, AL & Falqueto, A. (2010). Richness and diversity of sand flies (Diptera, Psychodidae) in an Atlantic rainforest reserve in southeastern Brazil. *J. Vector Ecol.*, 35(2), 325-332.
- Ready, DP. (2013). Biology of Phlebotomine Sand Flies as Vectors of Disease Agents. *Ann. Rev. Entomol.*, 58, 227-250. Disponible en: www.annualreviews.org
- Rebollar-Téllez, EA, Reyes-Villanueva, F, Fernández-Salas, I & Andrade-Narváez, FJ. (1996). Population dynamics and biting rhythm of the antropophilic sand fly *Lutzomyia cruciata* (Diptera: Psychodidae) in southeast Mexico. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, 38, 27-33.
- Rebollar-Téllez, EA, Tun-Ku, E, Manrique-Saide, PC, Andrade-Navaez, FJ. (2005). Relative abundances of sandfly species (Diptera: Phlebotominae) in two villages in the same area of Campeche, in southern Mexico. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 99, 193-201.
- Rodríguez, LL. (2002). Emergence and re-emergence of vesicular stomatitis in the United States. *Virus Res.*, 85, 211-9.
- Rzedowski, J. (2006). Vegetación de México. Primera Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad CONABIO, México, 504 pp.
- Salomón, OD. (2009). Vectores de las leishmaniasis en las américas. *Gazeta médica da Bahia*, 79, (3), 3-15
- Saraiva, L, Reis, AS, Rugani, JMN, Pereira, AAS, Rêgo, FD, da Rocha, AC & Andrade-Filho, JD. (2015). Survey of Sand Flies (Diptera: Psychodidae) in an Environmentally Protected Area in Brazil. *PloS one*, 10(8).
- Silva, DF, Freitas, RA & Franco, AM. (2007). Diversidade e abundância de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) em áreas de mata do nordeste de Manacapuru, AM. *Neotrop. Entomol.*, 36(1), 138-144.
- Solow AR. (1993). A simple test for change in community structure. *J. Anim. Ecol.*, 62, 191-193.
- Southwood TRE & Henderson PA: *Ecological Methods*. 3rd edition. Oxford, UK: Blackwell; 2000.
- SSA (1990-2015). Dirección General de Epidemiología. Anuarios de Morbilidad. Secretaría de Salud. México. [Consulta 15 noviembre del 2015]. Disponible en: <http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/anuarios.html>

- SSA (2015). Manual para el diagnóstico, tratamiento y control de las Leishmaniasis. Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades, Dirección General de Programas Preventivos, Programa de Enfermedades transmitidas por vector. Secretaría de Salud, México.
- Stallknecht, DE. (2000). VSV-NJ on Ossabaw Island, Georgia: The truth is out there. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 916, 431-436.
- Troll, C. (2003). Ecología del paisaje. *Gaceta ecológica*, (68), 71-84.
- Ugland, IK, Gray, SJ & Ellingsen, KE. (2003). The Species-Accumulation Curve and Estimation of Species Richness. *J. Anim. Ecol.*, 72 (5), 888-897.
- Valderrama, CA, Herrera & Salazar, A. (2008). Relación entre la composición de especies Del género de *Lutzomyia* Franca (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) y los diferentes tipos de vegetación en Panamá. *Acta Zool. Mex.*, 24, 67-78.
- Valderrama, A, Tavares, MG & Andrade Filho, JD. (2011). Anthropogenic influence on the distribution, abundance and diversity of sandfly species (Diptera: Phlebotominae: Psychodidae), vectors of cutaneous leishmaniasis in Panama. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 106(8), 1024-1031.
- Wolda H. (1981). Similarity indices, sample size and diversity. *Oecologia*, 50, 296-302.
- Young, D & Arias J. (1992). Flebótomos: Vectores de Leishmaniasis en las Américas. Cuaderno Técnico # 33. Organización Panamericana de la Salud. USA.
- Young, D & Duncan, MA, (1994). Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera:Psychodidae). *Mem. Am. Entom. Inst.*, 54, 1-881.

6. Tablas y figuras

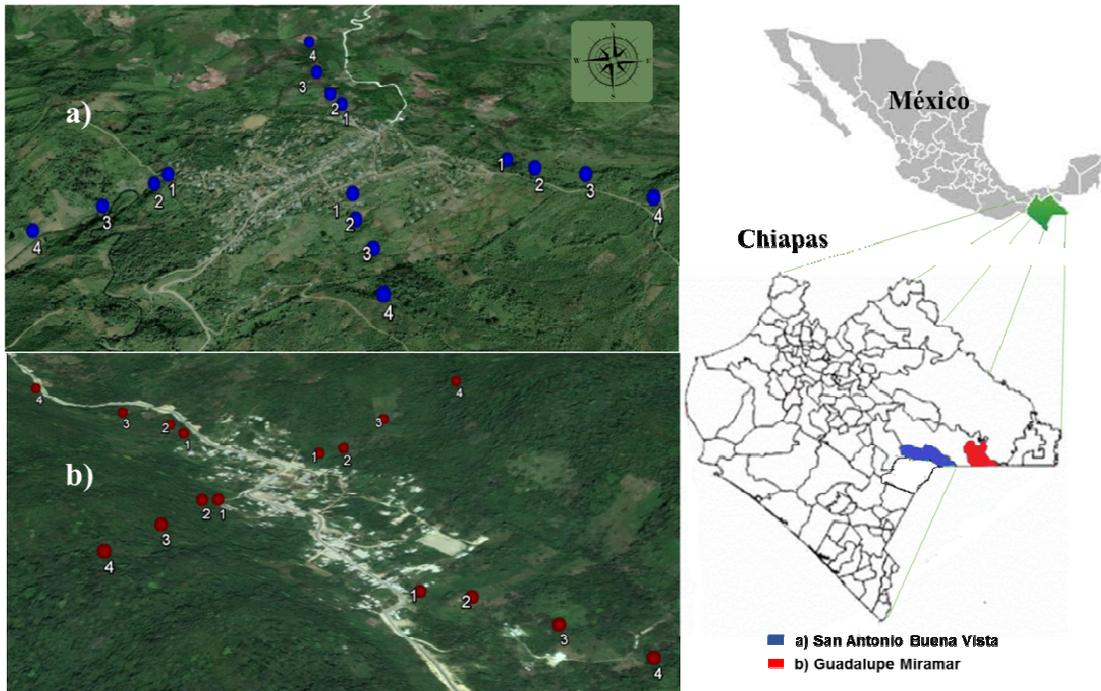


Figura 1. Área de estudio en la Región Fronteriza de Chiapas, México. Los puntos corresponden a los sitios donde se colocaron las trampas en cada transecto a diferentes puntos de muestreo (1=50, 2=100, 3=250 y 4=500 metros).

Tabla 1. Riqueza y abundancia de flebotomíneos capturados en dos localidades de la Región Fronteriza de Chiapas, México, durante el periodo de julio del 2009 a junio del 2010.

Especie	Guadalupe Miramar			San Antonio Buena Vista			Total (%)
	♀	♂	AR	♀	♂	AR	
<i>Brumptomyia hamata</i>	*	7	0.18	-	-	-	7 (0.18)
<i>Br. mesai</i>	*	59	1.52	-	-	-	59 (1.48)
<i>Br. sp*</i>	36	0	0.93	-	-	-	36 (0.90)
<i>Pintomyia (Pifanomyia) ovallesi</i>	115	38	3.95	4	1	4.50	158 (3.96)
<i>Pi. (Pifanomyia) serrana</i>	14	1	0.39	4	0	3.60	19 (0.48)
<i>Dampfomyia (Coromyia) beltrani</i>	*	104	2.68	-	-	-	104 (2.61)
<i>Da. (Coromyia) deleari</i>	*	182	4.69	*	1	0.90	183 (4.59)
<i>Da. (Coromyia) disneyi</i>	*	21	0.54	-	-	-	21 (0.53)
<i>Da. (Coromyia) sp*</i>	1108	0	28.57	4	-	3.60	1112 (27.88)
<i>Da. delpozoi</i>	81	29	2.84	-	-	-	110 (2.76)
<i>Da. (Dampfomyia) permira</i>	11	6	0.44	-	-	-	17 (0.43)
<i>Psathyromyia (Psathyromia) shannoni</i>	34	4	0.98	6	0	5.41	44 (1.10)
<i>Pa. (Psathyromia) undulata</i>	*	3	0.08	-	-	-	3 (0.08)
<i>Pa. (Psathyromia) dasymera</i>	1	0	0.03	-	-	-	1 (0.03)
<i>Pa. (Psathyromia) sp*</i>	5	0	0.13	-	-	-	5 (0.013)
<i>Pa. (Forattiniella) carpenteri</i>	79	126	5.29	1	0	0.90	206 (5.16)
<i>Pa. (Forattiniella) texana</i>	51	3	1.39	-	-	-	54 (1.35)
<i>Trichopygomyia triramula</i>	0	2	0.05	-	-	-	2 (0.05)
<i>Nyssomyia ylephiletor</i>	119	49	4.33	1	0	0.90	169 (4.24)
<i>Bichromomyia olmeca olmeca</i>	15	9	0.62	-	-	-	24 (0.60)
<i>Psychodopygus bispinosa</i>	47	45	2.37	-	-	-	92 (2.31)
<i>Ps. corossoniense</i>	84	14	2.53	-	-	-	98 (2.46)
<i>Ps. panamensis</i>	539	467	25.94	-	-	-	1006 (25.22)
<i>Micropygomyia (Sauromyia) trinidadensis</i>	14	0	0.36	-	-	-	14 (0.35)
<i>Lutzomyia (Tricholateralis) cruciata</i>	88	37	3.22	74	15	80.18	214 (5.36)
<i>Lu. (Helcocyrtomyia) hartmanni</i>	28	193	5.70	-	-	-	221 (5.54)
<i>Lu. sp</i>	10	0	0.26	-	-	-	10 (0.25)
Total S(n)	23 (3,878)			7 (111)			23 (3,989)

AR= abundancia relativa en porcentaje, S= riqueza de especies, - = especies que no se encontraron en el lugar de estudio, *= hembras que no se pudieron diferenciar de otras especies similares.

Tabla 2. Comparación de la diversidad de especies de flebotomíneos recolectadas en los diferentes puntos de muestreo o diferentes distancias en dos localidades de la Región Fronteriza del estado de Chiapas, México.

PM (m)	N	S	H'	H _{max}	E	Var H	LC 95%
Guadalupe Miramar							
50	663	22	2.45 ^a	3.22	0.7609	0.00183	2.347-2.507
100	693	21	2.32 ^b	3.14	0.7306	0.00207	2.214-2.387
250	1397	22	2.24 ^{bc}	3.22	0.6876	0.00113	2.166-2.297
500	1125	18	2.17 ^c	3.04	0.7005	0.00136	2.073-2.229
Total	3878	27	2.31	3.30	0.7004	0.00038	2.267-2.344
San Antonio Buena Vista							
50	19	3	0.63 ^a	1.10	0.5762	0.03633	0.206-0.910
100	30	6	0.81 ^a	1.79	0.4535	0.04981	0.291-0.124
250	19	3	0.54 ^a	1.10	0.4885	0.04102	0.000-0.834
500	43	5	0.78 ^a	1.61	0.4843	0.02818	0.406-1.069
Total	111	8	0.84	2.08	0.4046	0.01488	0.577-1.029

PM= punto de muestreo en metros S= riqueza de especies, H'= índice de diversidad de Shannon, Hmax= diversidad máxima, E= índice de equidad de Shannon, Var H= varianza de la diversidad, LC= límites de confianza al 95%

Tabla 3. Comparación de la diversidad de especies de flebotomíneos recolectadas en los diferentes tipos de vegetación presentes en dos localidades de la Región Fronteriza del estado de Chiapas, México.

Tipo de vegetación	N	S	H'	H _{max}	E	Var H	LC 95%
Guadalupe Miramar							
Acahual	597	21	2.28 ^a	3.22	0.7089	0.0027	2.156-2.355
Cultivo de Café	1457	23	2.42 ^b	3.29	0.7327	0.0009	2.344-2.462
Selva	1824	21	2.12 ^c	3.22	0.6602	0.0008	2.060-2.172
San Antonio Buena Vista							
Acahual	51	5	0.83 ^a	1.79	0.4612	0.0269	0.437-1.062
Cultivo de Café	60	6	0.78 ^a	1.94	0.3995	0.0263	0.375-1.039

S= riqueza de especies, H'= índice de diversidad de Shannon, Hmax= diversidad máxima, E= índice de equidad de Shannon, Var H= varianza de la diversidad, LC= límites de confianza al 95%

Tabla 4. Precisión de los valores de índices de diversidad estimados a través de la técnica de Jackknife, para los diferentes hábitats y puntos de muestreo de dos localidades de la Región Fronteriza de Chiapas.

Muestra	Muestras Analizadas	H'	Pseudo valores ϕ	Jackknife $\phi (\pm SE)$	LC 95%	% Error
Guadalupe Miramar						
	Todas	2.308				
50 m (1)	1,2,3	2.341	2.212			
100 m (2)	1,2,4	2.326	2.256	2.315 \pm 0.018	2.265–2.365	0.273
250 m (3)	1,3,4	2.297	2.343			
500 m (4)	2,3,4	2.262	2.448			
San Antonio Buena Vista						
	Todas	0.841				
50 m (1)	1,2,3	0.841	0.843			
100 m (2)	1,2,4	0.867	0.765	0.891 \pm 0.045	0.765–1.016	5.873
250 m (3)	1,3,4	0.755	1.101			
500 m (4)	2,3,4	0.837	0.855			
Guadalupe Miramar						
	Todas	2.308				
Acahual (1)	1,2	2.440	2.113			
Cultivo de café (2)	1,3	2.210	2.504	2.321 \pm 0.058	2.135–2.507	0.541
Selva (3)	2,3	2.290	2.344			
San Antonio Buena Vista						
	Todas	0.841				
Acahual (1)	1	0.866	0.856			
Cultivo de café (2)	2	0.777	0.905	0.881 \pm 0.082	0.526–1.235	4.678

H' = índice de diversidad de Shannon, LC = límites de confianza al 95%

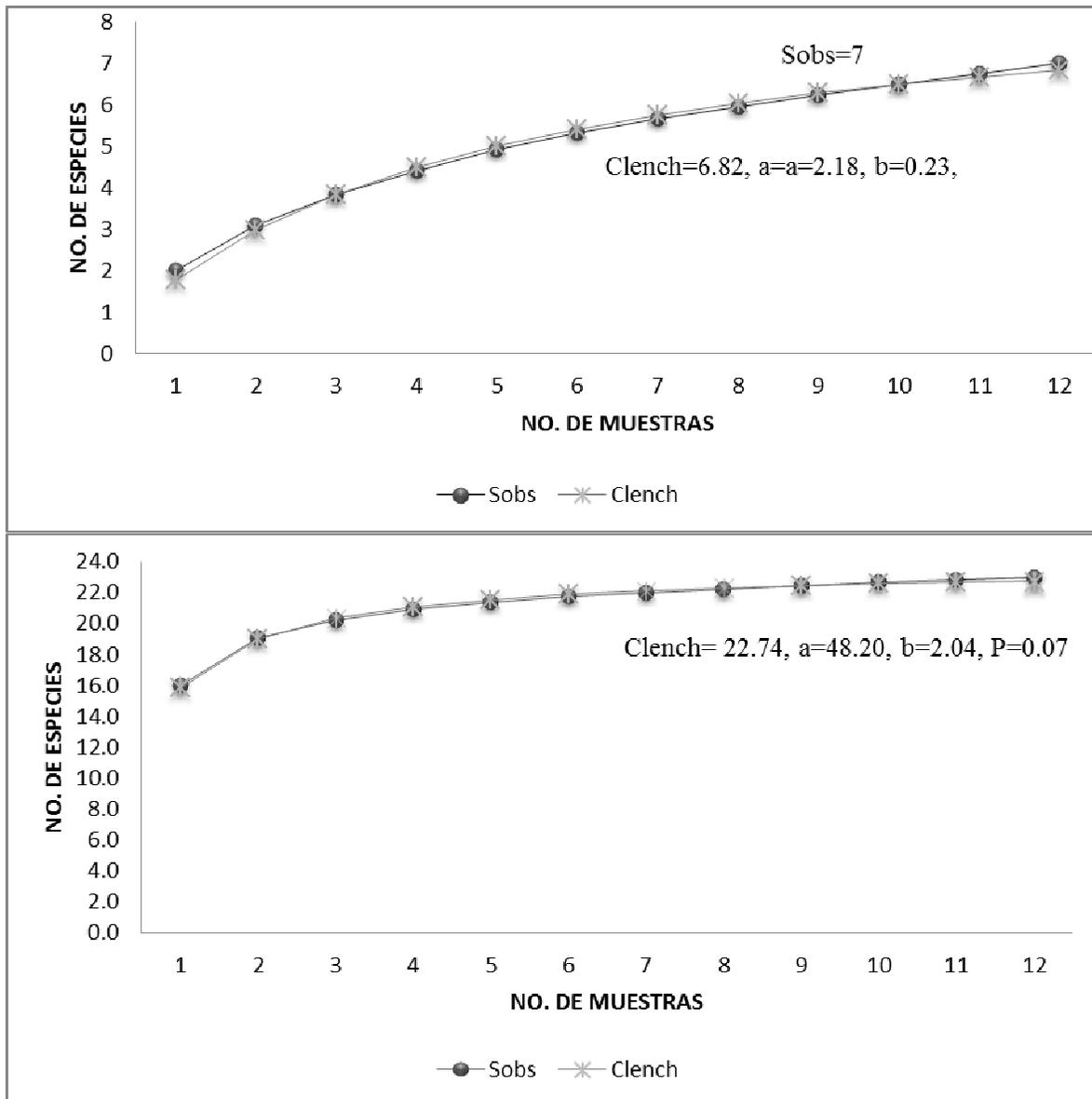


Figura 2. Curva de acumulación mensual de especies de flebotomineos para Guadalupe Miramar (A) y San Antonio Buena Vista (B). Sobs = especies observadas, Clench = Ecuación de Clench, P=pendiente de la curva.

Tabla 5. Valores de similitud para la composición de especies de flebotomíneos para los puntos de muestreo y tipo de vegetación en las dos localidades de la Región Fronteriza de Chiapas.

Punto de muestreo				
Guadalupe Miramar	50	100	250	500
50	1.000	0.946	0.933	0.926
100	0.946	1.000	0.988	0.895
250	0.933	0.988	1.000	0.916
500	0.926	0.895	0.916	1.000
San Antonio Buena Vista	50	100	250	500
50	1.000	0.972	0.973	0.987
100	0.972	1.000	0.987	0.988
250	0.973	0.987	1.000	0.989
500	0.987	0.988	0.989	1.000
Tipo de vegetación				
Guadalupe Miramar	Acahual	Cultivo de café	Selva	
Acahual	1.000	0.873	0.931	
Cultivo de café	0.873	1.000	0.936	
Selva	0.931	0.936	1.000	
San Antonio Buena Vista	Acahual	Cultivo de café		
Acahual	1.000	0.992		
Cultivo de café	0.992	1.000		

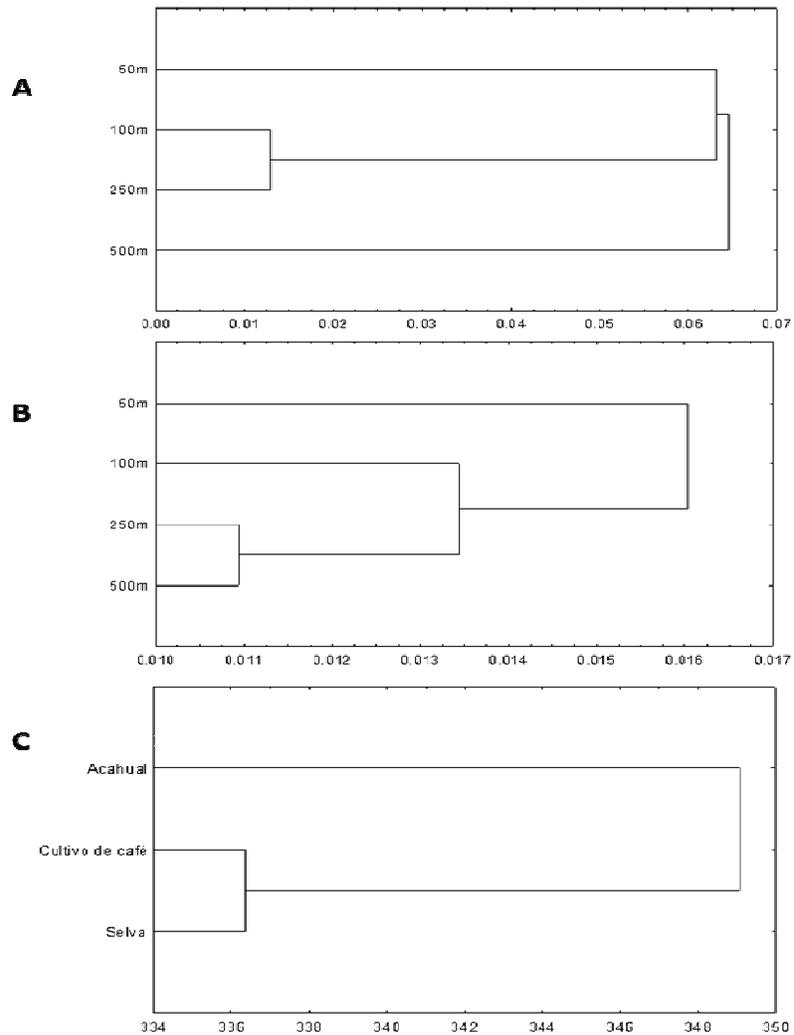


Figura 3. Dendrograma generado para el Análisis Cluster mediante el método Single Linkaje para los puntos de muestreo en Guadalupe Miramar (A) y San Antonio Buena Vista (B); y para el tipo de vegetación en Guadalupe Miramar (C).

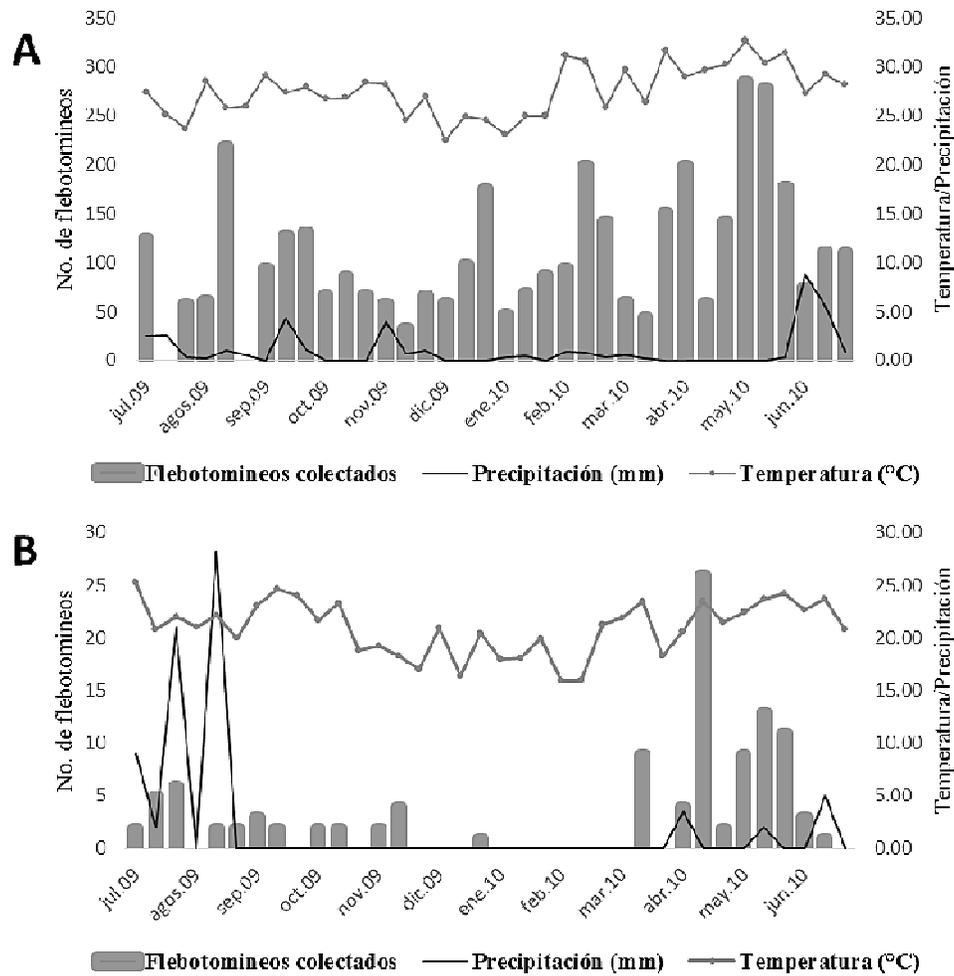


Figura 4. Variación de la abundancia estacional de flebotomíneos relacionados con parámetros climáticos (precipitación pluvial y temperatura) en Guadalupe Miramar (A) y San Antonio Buena Vista (B), durante el periodo de julio del 2009 a junio del 2010.