

# Sobre la evolución de los flebotomíneos americanos (Diptera: Psychodidae): un llamado a los sistemáticos moleculares

On the evolution of American sand flies (Diptera: Psychodidae): a call to molecular systematists

EDUAR ELÍAS BEJARANO M.<sup>1</sup>

Revista Colombiana de Entomología 28 (2): 211-212 (2002)

El naturalista italiano Giovanni Antonio Scopoli, entregado a la denominación binomial y sistemática linneana que en su época se propagaba por toda Europa, posiblemente no alcanzó a dimensionar el enorme interés que despertarían los diminutos insectos que él describiera en 1786 bajo el nombre de *Bibio papatasi*. Desde ese momento el estudio de los flebotomíneos se convirtió en una tarea apasionante para entomólogos de todas las latitudes. A pesar de ello la taxonomía de estos insectos sigue siendo tan controversial como en siglos pasados (Lewis *et al.* 1977; Artemiev 1991; Williams 1993). Aunque la discusión se ha concentrado en su posición como familia o subfamilia y más recientemente como género o subgénero (Rispaill y Léger 1998; Dujardin *et al.* 1999; Depaquit *et al.* 1998), existen aún muchos vacíos a todos los niveles taxonómicos, tanto supra como infra-específicos.

Los flebotomíneos son dípteros nematóceros, colonizadores de un amplio rango de hábitats tropicales y subtropicales del mundo (Montoya-Lerma y Ferro 1999). Éstos revisten gran importancia en salud pública dado que pueden transmitir a humanos y animales, microorganismos patógenos de los géneros *Leishmania* Ross, 1903, y *Bartonella* (Strong *et al.* 1913), agentes causales de leishmaniosis y bartonellosis, respectivamente (Killick-Kendrick 1999; Young y Duncan 1994). Uno de los componentes más importantes en el estudio eco-epidemiológico de estas enfermedades radica en una correcta identificación de las especies involucradas en su transmisión. Sin embargo, ante la amplia diversidad de flebotomíneos sin la existencia de patrones de divergencia claramente establecidos, es de esperar que los estudios eco-epidemiológicos encuentren obstáculos, cuando se quiere hacer una correcta determinación de especie.

A la fecha, la mayoría de sistemáticos agrupan los flebotomíneos americanos en los géneros *Lutzomyia* França, 1924, *Brumptomyia* França y Parrot, 1921, y *Warileya* Hertig, 1948; mientras incluyen las especies del Viejo Mundo en los géneros *Phlebotomus* Rondani y Berté, 1840, *Sergentomyia* França y Parrot, 1920,

y *Chinius* Leng, 1987 (Lewis *et al.* 1977; Martins *et al.* 1978; Young y Duncan 1994), con base en la premisa biogeográfica de que no existe relación entre las especies del Nuevo y Viejo Mundo. Tal premisa, sin embargo, ha sido cuestionada con la reciente descripción de *Lutzomyia derelicta* Freitas y Barrett, 1999, un flebotomíneo que combina caracteres morfológicos diagnósticos de los géneros *Sergentomyia* y *Lutzomyia*.

Para sorpresa de muchos sistemáticos, la nueva especie descubierta en el Amazonas carece del típico bulbo posterior en la pared dorsal del cibario, carácter utilizado para separar las especies americanas de las africanas (Ashford 1991). La presencia adicional de otros caracteres propios de taxones del Viejo Mundo, especialmente del subgénero *Sintonius* de *Sergentomyia* (Rispaill y Léger 1998), sugiere que *Lu. derelicta* podría representar una variante fenotípica de los flebotomíneos africanos (Freitas y Barrett 1999), lo que apoyaría las previas críticas efectuadas a la actual clasificación, en el sentido de que ésta no parece reflejar las relaciones naturales existentes en este grupo de insectos (Artemiev 1991; Ashford 1991; Galati 1995).

En gran parte estas controversias se originan por la homogeneidad de los caracteres morfológicos seleccionados para la clasificación supraespecífica (Bejarano 2001a). En efecto, la separación de los géneros más importantes de Phlebotominae Kertész, 1903, está basada en escasos caracteres morfológicos presentes en unas especies y ausentes en otras (Theodor 1965; Lewis *et al.* 1977; Ashford 1991). Más aún, la apariencia moderna de los ejemplares atrapados en ámbar de hace 30 millones de años indica que estos insectos han evolucionado con muy pocos cambios morfológicos (Quate 1963). Por consiguiente, la taxonomía basada en criterios de similitud morfológica podría no estar distinguiendo especies morfológicamente similares, lo que evidencia la necesidad de incorporar nuevos caracteres que permitan no sólo establecer una clasificación más acorde con sus relaciones evolutivas sino también discriminar los complejos de especies.

Aunque se han usado diferentes metodologías para tratar de esclarecer si los flebo-

tomíneos americanos constituyen un experimento evolutivo que amerite un tratamiento taxonómico distinto al de las especies del Viejo Mundo, los estudios realizados no han arrojado una respuesta satisfactoria. En la constante búsqueda de herramientas taxonómicas, las secuencias nucleotídicas han aparecido como una opción importante para resolver este interrogante (Bejarano 2001a).

La reconstrucción de la historia evolutiva de los flebotomíneos americanos a partir de secuencias nucleotídicas requiere, no obstante, la unificación de criterios básicos entre los sistemáticos. Esto es, la utilización de un mismo lenguaje que evite la aparición del fenómeno "Torre de Babel", el cual ha afectado negativamente la sistemática molecular de algunos grupos de insectos (Caterino *et al.* 2000) y que tiene su origen en la dispersión de los sistemáticos, principalmente, al momento de seleccionar los marcadores moleculares. Este fenómeno se manifiesta como una falta de avances significativos en la clasificación a pesar de los múltiples estudios realizados individualmente.

La unificación de criterios implica, en principio, la selección de un grupo pequeño de genes útiles para comparaciones a distintos niveles taxonómicos, partiendo del hecho que se desconoce el estatus de las especies estudiadas. Entre los candidatos a convertirse en estándares se encuentran los genes mitocondriales citocromo b, subunidad 4 de la NADH deshidrogenasa y subunidad larga ribosomal, así como los fragmentos nucleares segundo espaciador transcrito interno, factor de elongación alfa y subunidad pequeña ribosomal. Los estudios preliminares realizados con algunos de estos genes (Ready *et al.* 1997; Uribe *et al.* 1998; Aransay *et al.* 2000; Di Muccio *et al.* 2000; Bejarano 2001b; Rojas 2001; Uribe *et al.* 2001; Essegir *et al.* 2001) han arrojado resultados promisorios.

Aunque cada sistemático es libre de trabajar con el marcador molecular que considere más apropiado, la selección de al menos un gen en común permitirá en el futuro hacer macrorreconstrucciones evolutivas que incluyan, si no todos, la mayoría de flebotomíneos americanos. Estas filogenias partirían de la información depositada en bases de

<sup>1</sup> Entomólogo Médico. Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales – PECET, Universidad de Antioquia. Carrera 50 A No. 63-85. Tel: 263 5555. Fax: 516 2675 Medellín, Colombia. E-mail: bejarano@medicina.udea.edu.co

datos de secuencias como Genbank / National Center for Biotechnology Information (NCBI), European Molecular Biology Laboratory (EMBL) y DNA Data Bank of Japan (DDBJ). En estas últimas han comenzado a almacenarse, en forma creciente, secuencias nucleotídicas que corresponden, principalmente, a especies del Viejo Mundo. La información depositada para flebotomíneos neotropicales es escasa, reflejando el nivel incipiente en que se encuentran las investigaciones en América, las cuales se han concentrado en descifrar la evolución al interior de complejos de especies como *Lu. longipalpis* (Uribe et al. 2001), *Lu. whitmani* (Ready et al. 1997), *Lu. intermedia* (Marcondes et al. 1997) y *Lu. townsendi* (Rojas 2001), que agrupan importantes vectores de leishmaniosis. Las comparaciones a niveles taxonómicos supraespecíficos son prácticamente inexistentes.

Aunque parezca obvio, es fundamental que los sistemáticos depositen en los bancos moleculares, además de las secuencias nucleotídicas, información clara y precisa sobre la localidad donde fueron colectados los especímenes secuenciados. Así mismo, se debe indicar en qué institución reposarán los montajes entomológicos (cabeza, terminalia, alas, u otros) que permitieron determinar a qué especie flebotomínea corresponde cada secuencia. Aquellas investigaciones que pretendan validar especies deberán incluir, preferiblemente, insectos de la localidad tipo, lo cual permitirá confrontar la descripción morfológica.

Considerando la alta diversidad de flebotomíneos americanos, aproximadamente 400 especies (Young y Duncan 1994), es poco probable que a corto plazo un solo grupo de investigación y menos aún un solo sistemático, alcance a obtener la filogenia de todas las especies, lo que hace necesario articular los esfuerzos individuales. Un buen ejemplo de lo que se podría alcanzar consolidando criterios proviene del grupo CIPA (Computer-aided Identification of Phlebotomine sandflies of America), el cual ha logrado congregarse a especialistas de diferentes países en aspectos tan primordiales como los caracteres morfológicos útiles para la identificación de especies (Bermúdez et al. 1991).

Si se logra el consenso entre los expertos en flebotomíneos sobre la selección de uno o más genes estándares, es factible obtener dentro de algunos años una visión general de la crónica evolutiva de los flebotomíneos americanos, donde la filogenia derivada de secuencias nucleotídicas permitiría probar la robustez de la clasificación morfológica. Esta nota constituye un llamado a la acción de los sistemáticos moleculares.

#### Literatura citada

- ASHFORD, R. W. 1991. A new morphological character to distinguish *Sergentomyia* and *Phlebotomus*. *Parassitologia* 33 (Suppl.1): 79-83.
- ARANSAY, A. M.; SCOUlica, E.; TSELENTIS, Y.; READY, P. D. 2000. Phylogenetic relationships of phlebotomine sandflies inferred from small subunit nuclear ribosomal DNA. *Insect Molecular Biology* 9 (2): 157-168.
- ARTEMIEV, M. M. 1991. A classification of the subfamily Phlebotominae. *Parassitologia* 33 (Suppl.1): 69-77.
- BEJARANO, E. E. 2001a. Nuevas herramientas para la clasificación taxonómica de los insectos vectores de leishmaniosis: utilidad de los genes mitocondriales. *Biomédica* 21 (2): 182-191.
- BEJARANO, E. E. 2001b. Variabilidad genética y especiación en *Lutzomyia (verrucarum) evansi* (Núñez-Tovar, 1924), vector de leishmaniosis visceral americana. Trabajo de Grado de Maestría en Entomología Médica. Universidad de Antioquia, Corporación Ciencias Básicas Biomédicas, Medellín. 89 p.
- BERMÚDEZ, H.; DEDET, J. P.; FALCÃO, A. L.; FELICIANELLI, D.; FERRO, C.; GALATI, E. A. B.; GÓMEZ, E. A. L.; HERRERO, M. V.; HERVAS, D.; LAMBERT, M.; LEBBE, J.; MORALES, A.; OGUSUKU, E.; PÉREZ, E.; RANGEL, E. F.; SHERLOCK, I.; TORREZ, M. E.; VIGNES, R.; WOLFF, M.; YOUNG, D. 1991. Proposition of a standard description for phlebotomine sandflies. *CIPA Group. Parassitologia* 33 (Suppl.1): 127-135.
- CATERINO, M. S.; CHO, S.; SPERLING, F. A. 2000. The current state of insect molecular systematics: a thriving Tower of Babel. *Annual Review of Entomology* 45: 1-54.
- DEPAQUIT, J.; PERROTEY, S.; LECOINTRE, G.; TILLIER, A.; TILLIER, S.; FERTE, H.; KALTENBACH, M.; LEGER, N. 1998. Molecular systematics of Phlebotominae: a pilot study. Paraphyly of the genus *Phlebotomus*. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences. Series III, Sciences de la Vie* 321: 849-855.
- DI MUCCIO, T.; MARINUCCI, M.; FRUSTERI, L.; MAROLI, M.; PESSON, B.; GRAMICICIA, M. 2000. Phylogenetic analysis of *Phlebotomus* species belonging to the subgenus *Larrousius* (Diptera, Psychodidae) by ITS2 rDNA sequences. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 30 (5): 387-393.
- DUJARDIN, J. P.; LE PONT, F.; MARTÍNEZ, E. 1999. Quantitative phenetics and taxonomy of some phlebotomine taxa. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 94 (6): 735-741.
- ESSEGHIR, S.; READY, P. D.; BEN-ISMAIL, R. 2000. Speciation of *Phlebotomus* sandflies of the subgenus *Larrousius* coincided with the late Miocene-Pliocene aridification of the Mediterranean subregion. *Biological Journal of the Linnean Society* 70 (2): 189-219.
- FREITAS, R. A.; BARRETT, T. V. 1999. *Lutzomyia derelicta* (Diptera: Psychodidae) a singular new phlebotomine sand fly from an Inselberg in Northeastern Amazonia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 94 (5): 629-633.
- GALATI, E. A. B. 1995. Phylogenetic systematics of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) with emphasis on American groups. *Boletín de la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental* 35 (Suppl.1): 133-142.
- KILLICK-KENDRICK, R. 1999. The biology and control of phlebotomine sand flies. *Clinics in Dermatology* 17 (3): 279-289.
- LEWIS, D. J.; YOUNG, D. G.; FAIRCHILD, G. B.; MINTER, D. M. 1977. Proposal for a stable classification of the phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). *Systematic Entomology* 2: 319-332.
- MARCONDES, C. B.; DAY, J. C.; READY, P. D. 1997. Introgression between *Lutzomyia intermedia* and both *Lu. neivai* and *Lu. whitmani*, and their roles as vectors of *Leishmania braziliensis*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 91: 725-726.
- MARTINS, A. V.; WILLIAMS, P.; FALCÃO, A. L. 1978. American sand flies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae). *Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, Brasil*. 195 p.
- MONTOYA-LERMA, J.; FERRO, C. 1999. Flebotomos (Diptera: Psychodidae) de Colombia. p. 211-245. En: Amat, G.; Andrade-C., G.; Fernández, F. (eds.). *Insectos de Colombia. Volumen II. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Colección Jorge Álvarez Lleras. No. 13. Editora Guadalupe Ltda. Bogotá. Colombia*.
- QUATE, L. W. 1963. Fossil Psychodidae in Mexican Amber, Part 2 (Diptera: Insecta). *Journal of Paleontology* 37: 110-118.
- READY, P. D.; DAY, J. C.; DE SOUZA, A. A.; RANGEL, E. F.; DAVIES, C. R. 1997. Mitochondrial DNA characterization of populations of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) incriminated in the peri-domestic and silvatic transmission of *Leishmania* species in Brazil. *Bulletin of Entomological Research* 87: 187-195.
- RISPAIL, P.; LÉGER, N. 1998. Numerical taxonomy of Old World Phlebotominae (Diptera: Psychodidae) 2. Restatement of classification upon subgeneric morphological characters. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 93 (6): 787-793.
- ROJAS, W. 2001. Relaciones filogenéticas en *Lutzomyia* spp. del grupo *verrucarum*. Trabajo de Grado de Maestría en Entomología Médica. Universidad de Antioquia, Corporación Ciencias Básicas Biomédicas, Medellín. 87 p.
- THEODOR, O. 1965. On the classification of American Phlebotominae. *Journal of Medical Entomology* 2 (2): 171-197.
- URIBE, S.; PORTER, C.; VÉLEZ, I. D. 1998. Amplificación y obtención de secuencias de rRNA mitocondrial en *Lutzomyia* spp. (Diptera: Psychodidae) vectores de leishmaniosis. *Revista Colombiana de Entomología* 24 (3-4): 109-115.
- URIBE, S.; LEHMANN, T.; ROWTON, E. D.; VÉLEZ, I. D.; PORTER, C. 2001. Speciation and population structure in the morphospecies *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) as derived from the mitochondrial ND4 gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 18 (1): 84-93.
- WILLIAMS, P. 1993. Relationships of phlebotomine sand flies (Diptera). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 88 (2): 177-183.
- YOUNG, D. G.; DUNCAN, M. A. 1994. Guide to identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Memoirs of the American Entomological Institute* 54: 1-881.