

# LA IMPORTANCIA DE LOS CROMOSOMAS POLITENICOS EN LA DETERMINACION TAXONOMICA DE LOS SIMULIDOS\*

por

Paulina Muñoz de Hoyos\*\*

## Resumen

Muñoz de Hoyos, P.: La importancia de los cromosomas politénicos en la determinación taxonómica de los simúlidos. Rev. Acad. Colomb. Cienc. 16 (66): 511-520, 1990. ISSN 0370-3908.

Se explica porqué en la familia Simuliidae la aplicación de los métodos taxonómicos convencionales no es suficiente para la identificación correcta de las especies y cuál es la utilidad de los cromosomas politénicos en la resolución de este problema. Se detallan los pasos a seguir para el análisis de los cromosomas politénicos y se proporcionan algunos ejemplos de especies latinoamericanas para señalar la importancia que tiene la citotaxonomía, en la familia Simuliidae, para caracterizar las especies crípticas dentro de una morfoespecie.

## Introducción

La identificación precisa de las especies es un requisito para llevar a cabo estudios en biología básica en aspectos morfológicos, fisiológicos, ecológicos, filogenéticos, de comportamiento. Si las especies son vectores de algún parásito que produzca una enfermedad, la posición taxonómica es indispensable para el conocimiento de su papel como vector y la subsecuente formulación de estrategias para su control.

Muchas especies del género *Simulium* son relativamente inócuas. Sin embargo, las hembras hematófagas de algunas de ellas tienen gran valor epidemiológico en la transmisión de *Onchocerca volvu-*

*lus* Leuckart, 1893 y *Mansonella ozzardi* Manson, 1897 al hombre, filarias causantes de la oncocercosis y la mansonelosis respectivamente, dolencias presentes en ciertas regiones de Colombia. Por la hematofagia y la toxicidad de sus picaduras, la presencia de los simúlidos impide que los animales domésticos se alimenten y descansen adecuadamente y por lo tanto reducen la producción de carne, leche, huevos y otros productos animales y ocasionan disfunción reproductiva que se traduce en problemas de orden económico.

Los simúlidos, vulgarmente conocidos como jejenes, moscas negras, borrachudos y rodadores y pertenecientes al orden Diptera, suborden Nematocera, familia Simuliidae, han sido poco estudiados en nuestro medio. No se conocen datos sistemáticos, de distribución geográfica, ni inventarios de las especies; no existe una colección de referencia y menos aún claves adecuadas para su clasificación. Las descripciones son escasas, a veces están basadas en pocos ejemplares y sobre una sola etapa de su ciclo de vida y han sido producto de colecciones aisladas en áreas donde se encuentran las condiciones

\* Estudio científico pronunciado en el recinto de la Academia el 22 de octubre de 1989 con ocasión de su posesión como académica correspondiente.

\*\* Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Instituto de Ciencias Naturales, Apartado Aéreo 7495, Bogotá, D.E.

lógicas apropiadas que proporcionan el hábitat adecuado para el desarrollo de los estadios inmaduros.

Los escasos trabajos realizados en el país están relacionados con las especies vectores (Barreto et al., 1970; Little y D'Alessandro, 1971; Tidwell et al., 1980a, b, c), con estudios morfotaxonómicos de algunas regiones frías de los Andes (Wygodzinsky 1953, 1971, 1973a, b, c.; Moncada y Bueno, 1977; Bueno et al., 1979; Moncada et al., 1980; Wygodzinsky y Coscarón, 1982; Muñoz de Hoyos et al., 1982, 1984) y con aspectos citotaxonómicos de los simúlidos de la región de La Calera, Cundinamarca (Duque, 1980; Moreno, 1982; Duque et al., 1988).

El objetivo del presente trabajo es explicar porqué en la familia Simuliidae la aplicación de los métodos taxonómicos convencionales no es suficiente para identificar correctamente las especies y cómo se emplea la citología cromosómica en la resolución de este problema. Adicionalmente, se proporcionan algunos ejemplos de estudios citotaxonómicos realizados en especies vectores de *Onchocerca volvulus* en Latinoamérica y se presentan los resultados resumidos de los trabajos efectuados con simúlidos de la región de La Calera.

### Sistemas de clasificación

Particularmente a nivel supraespecífico, el sistema de clasificación más aceptado por los investigadores en simúlidos es el propuesto por Crosskey. El divide la familia Simuliidae en dos subfamilias, Parasimuliinae (norteamericana) y Simuliinae (cosmopolita). Esta última contiene dos tribus, Prosimuliini con 20 géneros (10 neotropicales: *Araucnephia*, *Araucnephioides*, *Cnephia*, *Cnesia*, *Cnesiarnia*, *Gigantodax*, *Lutzsimulium*, *Mayacnephia*, *Paraustrosimulium*, *Tlalocomya*) y Simuliini con dos géneros, *Austrosimulium* (Australasia) y *Simulium* (cosmopolita). En el género *Simulium* reconoce 45 subgéneros de los cuales 12 son neotropicales: *Cerqueirellum*, *Chirostilbia*, *Coscaroniellum*, *Ectemnaspis*, *Hemicnetha*, *Inaequalium*, *Notolepria*, *Psaroniocompsa*, *Psilopelmia*, *Pternasphata*, *Simulium* y *Trocodagmia* (Crosskey 1981, 1987).

En Colombia están registradas sólo 32 especies de las 300 especies neotropicales del género *Simulium* y 3 de las 29 especies del género *Gigantodax*. Estos datos indican la magnitud del trabajo que es necesario emprender para conocer la fauna de los simúlidos en el país.

### Clasificación morfológica

La clasificación de los simúlidos no es una tarea sencilla, se requieren delicados métodos de disección de larvas, pupas, adultos hembras y adultos machos para evidenciar, a mayor aumento, las diferentes estructuras morfológicas y compararlas con las características anotadas en las claves existentes.

Los tres estadios del ciclo de vida poseen varios atributos con valor taxonómico tales como el dibujo del apotóma cefálico, la forma de la escotadura gular, la amplitud del puente postgenal, la disposición de los dientes del hipostomio, la morfología del esclerito y las agallas anales en la larva; el aspecto, textura y refuerzos anteriores del capullo, la estructura y número de los filamentos respiratorios, la presencia de tricomas y distribución de los papelets en el frontoclipeo y el arreglo de los ganchos en las regiones dorsal y ventral del abdomen de la pupa; la conformación de los ojos, el tamaño de los segmentos antenales, la presencia o ausencia de dientes en el cibario, la venación y presencia de pelos y setas en las venas del ala, el aspecto de las patas y la proporción de los órganos genitales en el adulto.

Cuando se inicia el estudio de los simúlidos de una región determinada estas características contribuyen, en primera instancia, a conformar grupos específicos de individuos semejantes con rasgos morfológicos comunes. Sin embargo, los miembros de la familia Simuliidae presentan una gran homología morfológica en los estadios de larva, pupa e imago que hace difícil su clasificación. Cada morfoespecie puede estar conformada por un complejo de especies crípticas o gemelas. Como consecuencia, al trabajar en la identificación de los simúlidos es esencial utilizar otros métodos para obtener detalles, diferentes a los morfológicos, que ayuden a caracterizar los individuos.

### Otros métodos

Gracias al avance de las Ciencias Naturales existen hoy día la Citotaxonomía y la Quimiotaxonomía áreas que, aplicadas a la taxonomía, son de gran valor, más cuando la especiación ocurre en ausencia de una diferenciación morfológica notable, como ocurre en esta familia. Algunas de estas herramientas, que ayudan a solucionar los problemas de clasificación, son: la citogenética, el análisis de hidrocarburos cuticulares, la electroforesis enzimática y la hibridización del ADN.

- La citogenética, especialmente relacionada con los cromosomas politénicos, ha sido empleada, con éxito, en la identificación de las especies crípticas. Es una herramienta eficaz en la diferenciación de especies biológicas válidas. Las citologías cromosómicas se han utilizado en simúlidos desde los años 50. Esta técnica ofrece la ventaja de que después de extraer las glándulas salivares de la larva los restos pueden guardarse para futuros estudios morfológicos.
- El análisis de hidrocarburos cuticulares por cromatografía de gas líquido, puesto en práctica desde 1981 por Carlson y Walsh, es un método ideal debido a que el espécimen no se daña, puede llevarse a cabo en una estructura cu-

ticular aislada y aplicarse a ejemplares de museo.

- Las variaciones alélicas de las enzimas son particularmente útiles en la identificación de las especies gemelas. La electroforesis enzimática permite procesar gran número de ejemplares muestreados en un área extensa. Sin embargo, es necesario trabajar con individuos vivos o preservados en congelación que se destruyen completamente, situación desventajosa en estudios taxonómicos.
- La hibridización de ADN para estimar las secuencias divergentes, se aplica en simúlidos desde 1972 (Teshima, 1972). El procedimiento es muy laborioso, lento y además, requiere grandes cantidades de ADN y por lo tanto no es útil para procesos taxonómicos rutinarios. El análisis de ADN es el método más directo para demostrar la variación genética por no tener la intervención del medio ambiente.

### Citotaxonomía

La principal contribución de la citología a la sistemática de simúlidos ha sido la demostración de que la morfoespecie del taxónomo está conformada por especies genéticamente diferentes, especies isomórficas que componen un complejo de especies crípticas, especies estrechamente relacionadas pero que están aisladas reproductivamente. Estas especies hermanas pueden ser definidas en términos de las características de los cromosomas de las glándulas salivares, llamados cromosomas politénicos.

### ¿Qué son los cromosomas politénicos?

En 1881 Balbiani evidenció unas estructuras peculiares en los núcleos de ciertas células secretoras de *Chironomus*. Posteriormente Heitz y Bauer en 1933 y Painter en 1934 identificaron esas estructuras como cromosomas, y hoy se sabe que se encuentran en las células de los tejidos de secreción tales como: túbulos de Malpighio, recto, intestino y glándulas salivares de los Diptera. También se han hallado en algunas plantas (Nagl, 1969), en algunos ciliados (Ammermann, 1968) y en Collembola Casagnau, 1971).

Son cromosomas especializados en el sentido de que cada uno contiene ácidos nucleicos específicos y componentes proteínicos y a la vez toman una estructura apropiada a su situación. Son cromosomas de núcleos interfásicos que se forman por varias replicaciones sucesivas de cada par homólogo íntimamente sinapsado donde las cadenas hijas no se separan. Como consecuencia, cada cromosoma consiste de muchas fibras paralelas (aproximadamente 1024) dispuestas a lo largo de su eje con los cromómeros poco espaciados que forman, como resultado de la politenia, un patrón de bandas característico de cada brazo cromosómico y de cada especie. El pa-

trón de bandeamiento de los cromosomas politénicos representa la expresión más completa de la alternancia regular de cromómeros —bandas— y regiones intercromoméricas —interbandas—, aún en cromátides individuales. Hay gran variación en la posición, grosor y morfología de cada banda por la misma diversificación en los cromómeros individuales que la forman.

Algunas bandas con expresión génica se encuentran en estado de expansión. Esta actividad genética es una característica del estado de desarrollo del individuo, así que los cambios en la expresión se pueden seguir con la aparición o desaparición de estos sitios activos, conocidos como "puffs" cromosómicos.

Para cada tejido y en diferente tiempo, durante el desarrollo larval, existe un patrón característico de "puffs" (Beermann, 1952). Generalmente se aprecia un aumento del número de ellos antes de las mudas larvales momentos donde hay producción de ecdisona (hormona de la muda) elaborada por la glándula protorácica y que controla el desarrollo de los "puffs".

Los "puffs" parecen formarse de una simple banda, ocasionalmente de un par de bandas. Existen unos "puffs" de mayor tamaño, llamados anillos de Balbiani, donde no se puede determinar cuál banda, en el sitio del anillo, corresponde al locus activo.

La correspondencia entre el "puff" y el sitio activo para la síntesis de RNA se ha demostrado con estudios autorradiográficos desde 1964 con los trabajos de Pelling quien determinó que cada "puff" es un sitio de transcripción y su tamaño depende de la actividad de la banda o bandas que lo forman.

El valor taxonómico de los cromosomas es universalmente reconocido; Rothfels (1979, 1981a, b) demostró que las diferencias en el patrón de bandas cromosómicas permite el reconocimiento de especies crípticas en simúlidos lo que ha llevado al aumento en el número de citoespecies en esta familia.

Los simúlidos son un material excelente para los estudios citogenéticos por el tamaño y la claridad de los cromosomas politénicos de las glándulas salivares de las larvas y el número reducido de ellos. La mayoría de las especies estudiadas tienen 3 pares de cromosomas. Hasta la fecha sólo se conocen dos excepciones: *Cnephia lapponica* (Petrova, 1972) y algunos miembros del grupo *Eusimulium aureum* (Dunbar, 1958) que poseen 2 pares de cromosomas.

### Procedimiento para el estudio de los cromosomas politénicos

Después de hacer la disección, fijación, coloración y montaje de las glándulas salivares de la larva de último estadio, reconocida por poseer el histo-

blasto de los filamentos respiratorios de color oscuro y tomar las microfotografías de los mejores complementos cromosómicos, se miden los cromosomas para conocer su longitud.

Los cromosomas se nominan con números romanos, en orden decreciente de tamaño, con los brazos corto y largo designados como S y L, respectivamente y los segmentos proximal, central y distal al centrómero como p, c y d respectivamente.

El complemento entero se divide en 100 secciones, la proporción asignada a un brazo es determinada por la contribución, en porcentaje, del brazo a la longitud total del complemento. Las secciones se numeran de 1 a 100 iniciándose en IS y finalizando en IIIL. Es así como, por lo general el cromosoma I se divide en 42 secciones, el cromosoma II en 30 y el III en 28.

### Identificación de marcadores

#### — Marcadores universales

Para identificar cada brazo cromosómico se tienen en cuenta la posición y orientación de los marcadores universales propios de la familia Simuliidae que, en su mayoría, son grupos de bandas con forma y disposición característica. Por su condición de universales lo más apropiado es mantener su designación en Inglés. Entre ellos se pueden mencionar los siguientes:

|        |                                                                                    |                                                                                |
|--------|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| IS =   | "3" basales<br>tasa y platillo                                                     | (basal "3")<br>("cup & saucer")                                                |
| IL =   | marcador mayor<br>"3" subterminales<br>patrón del telómero                         | ("marker")<br>(subterminal "3")                                                |
| IIS =  | Anillo de Balbiani<br>Cordón de zapato central<br>a la doble burbuja<br>Trapezoide | ("Balbiani ring")<br>("shoestring")<br>("double bubble")<br>("Trapezoid (al)") |
| IIIL = | 3 bandas bien definidas<br>Parabalbiani                                            | ("3 sharp")<br>("Parabalbiani")                                                |
| IIIS = | grupo de bandas pesadas<br>ampolla<br>telómero festoneado                          | ("heavy band group")<br>("blister")<br>("frazzled end")                        |
| IIIL = | banda basal pesada<br>marcador basal<br>3 grupos pesados                           | ("heavy basal band")<br>("basal marker")<br>("three heavy groups")             |

#### — Marcadores específicos

La Región organizadora nucleolar (RON), donde tiene lugar la síntesis del ARNr, a causa de su movilidad dentro del genoma, no se emplea como marcador universal para identificar un brazo de un cromosoma. Sin embargo, en cada especie, su posición se conserva.

Otros marcadores específicos aplicables para el señalamiento de una especie son: banda gris

("gray band"), bloques ("blocks"), cuello ("neck"), cápsula ("capsule"), diente de sierra ("sawtooth"), región esponjosa ("spongy") y grieta ("crak").

### Análisis banda por banda

Una vez identificados los brazos de los cromosomas se lleva a cabo el análisis banda por banda de cada brazo con el fin de determinar:

#### — La posición y morfología de la región centromérica.

El centrómero puede corresponder a una banda conspicua, gruesa, bien teñida o a una banda difícil de precisar. En este último caso, el pareamiento ectópico que ocurre entre los centrómeros de los cromosomas, señala la ubicación del centrómero. Si este pareamiento no se evidencia, se emplea la técnica de coloración de bandas C para localizarlo. Con el fin de clasificar los cromosomas como metacéntricos, submetacéntricos o acrocéntricos se estudian los cromosomas mitóticos del cerebro de la larva, cromosomas donde el centrómero se aprecia con facilidad.

#### — La presencia o ausencia de cromocentro

Es la región donde se concentran los centrómeros de los cromosomas. El cromocentro no es tan común en este grupo de animales como si lo es en las especies del género *Drosophila*.

#### — La presencia de inversiones fijas o interespecíficas.

#### — La presencia y frecuencia de polimorfismos cromosómicos intraespecíficos (inversiones flotantes, heterobandas, expresión de bandas).

Las inversiones implican alteraciones en el orden de los genes. Generalmente se forman cuando ocurren dos rompimientos en un cromosoma y el segmento roto se inserta en el mismo lugar pero en posición invertida. Las inversiones que no incluyen el centrómero se llaman paracéntricas y las que lo incluyen pericéntricas. Las inversiones pueden ocurrir en un cromosoma o en los dos cromosomas homólogos. En el primer caso se tiene una inversión heterocigótica que en los cromosomas politénicos se puede notar como un lazo de inversión.

Las inversiones se numeran independientemente de acuerdo con el brazo en el cual ocurren y con el orden de su descubrimiento. Estas pueden ser: inversiones sobrepuestas, en tandem e incluidas, independientes o relacionadas con el segmento sexual y se señalan, de acuerdo con su característica, de la siguiente manera:

Inversiones fijas = subrayadas = IS — 3

Inversiones sobrepuestas separadas por una coma = IS—1, 2

Inversiones en tandem e incluidas, separadas por un punto = IS-1.2

Inversiones independientes separadas por un signo + = IS-1 + 4.

- La diferenciación estructural del segmento determinante del sexo

En simúlidos no existe un cromosoma sexual. Se cree que el sexo es determinado por un locus simple o al menos por una porción muy corta del cromosoma, siendo los machos, en la mayoría de los casos, el sexo heterogamético. El segmento puede situarse en cualquier brazo y parece obedecer a un sistema de transposon (Brockhouse, 1985). Los transposones son esencialmente gimnastas genéticos, son segmentos pequeños de ADN capaces de saltar de un cromosoma a otro.

- Y por último, el grado de asinapsamiento entre los cromosomas homólogos.

La presencia de individuos heterocigotos, es decir, con regiones amplias asinapsadas, confirma la hibridización de especies y la ausencia, entre poblaciones simpátricas, asegura el aislamiento reproductivo y por lo tanto reafirma la existencia de verdaderas especies. Una de las maneras más seguras para demostrar el verdadero aislamiento reproductivo entre las especies crípticas es a través de los cruces entre ellas cuando se tienen las especies colonizadas en el laboratorio, condición no alcanzada con relativo éxito hasta la fecha en los simúlidos.

#### Utilidad de los estudios de los cromosomas politénicos

Al tener en cuenta los datos morfológicos y las características de los cromosomas politénicos y examinar las variaciones dentro de la población analizada pueden definirse las citoespecies o especies crípticas dentro de la morfoespecie estudiada. Por lo tanto, los estudios citogenéticos basados en el análisis de los cromosomas politénicos revelan la existencia de un complejo de especies y certifican su posición taxonómica.

Es muy probable que cuando se tengan definidas las especies crípticas, con base en toda la información que arrojan los cromosomas politénicos, estudios intensivos de ellas revelen diferencias morfológicas menores, variaciones en aspectos de distribución geográfica, ciclo de vida, preferencias de hábitat (temperatura del agua, sustrato de adhesión de las larvas), número de generaciones por año, especificidad para la comida de sangre, potencial vectorial y susceptibilidad a parásitos. En simúlidos los resultados morfológicos y citogenéticos deben ser incorporados a la taxonomía.

El análisis de los cromosomas politénicos por otra parte, proporciona ciertos elementos para de-

terminar relaciones evolutivas en un número considerable de especies (Rothfels, 1987) y permite la construcción de filogenias basadas en arreglos secuenciales de los cromosomas. Para realizar un estudio filogenético detallado se requiere muestrear una zona geográfica amplia para ubicar los centros de especiación, determinar si ésta es simpátrica o alopátrica y considerar el papel jugado por el segmento determinante del sexo y los polimorfismos autosómicos (Rothfels y Featherston, 1981). Al tomar en conjunto los datos de distribución y diferenciación genética se cree que la especiación en simúlidos no ocurre a través de divergencia alopátrica adaptativa (Snyder y Linton, 1984).

#### Estudios citotaxonómicos con especies latinoamericanas

Por la importancia que tiene la citotaxonomía en la clasificación de las especies vectores es conveniente hacer un resumen de lo que han hecho los investigadores con especies latinoamericanas.

- La morfoespecie *Simulium ochraceum*, vector de la *Onchocerca volvulus* en América Central, está constituida en Guatemala por tres citoespecies denominadas A, B y C (Hirai y Uemoto, 1983). La especie A presenta a su vez tres citotipos: a, b y c siendo la citoespecie "c" la importante en la transmisión de *Onchocerca volvulus* (Hirai, 1985; Hirai et al., 1987).
- El estudio citotaxonómico de la morfoespecie *Simulium metallicum*, principal vector de *Onchocerca volvulus* en la zona norte de Venezuela (Lewis e Ibáñez de Aldecoa, 1962) y vector secundario en Guatemala, se inició en Guatemala con el trabajo de Hirai y Uemoto en 1984. Ellos diferenciaron dos especies crípticas: *S. metallicum A* y *S. metallicum B*. con base en la localización de la región organizadora nucleolar y en el bandeamiento C de los cromosomas (Hirai, 1983, 1985, 1987a, b). En *S. metallicum A* la región organizadora nucleolar está situada en el brazo corto del cromosoma II y la región centromérica está formada por una banda punteada. En *S. metallicum B* la región organizadora nucleolar se ubica en el brazo corto del cromosoma I y la región centromérica corresponde a una banda intensa y oscura, citotipo donde los centrómeros tienden a formar un pseudocromocentro.

Las investigaciones de Hirai (1985, 1987b) con *S. metallicum* de Venezuela revelaron que todos corresponden al citotipo. *S. metallicum A* por portar la región organizadora nucleolar en la sección 54 del brazo corto del cromosoma II. Al efectuar el análisis banda por banda de los cromosomas politénicos y comparar el mapa cromosómico con *S. metallicum A* se evidenciaron dos citoespecies diferentes, *S. metallicum D* y *S. metallicum E*:

| Citoespecie            | Inversiones<br>fijas | Segmento<br>sexual | Polimorfismo<br>autosómico (frec.) |
|------------------------|----------------------|--------------------|------------------------------------|
| <i>S. metallicum</i> D | IL-A                 | X1=IIL-B           | IS-A (0.07-0.18)                   |
|                        | IL-B                 | X2=IIL-B+A         | IIL-B, C (0.02)                    |
|                        | IL-C.D.+E.           | Yo= standard       | IIL-E (0.02)                       |
|                        | IIIL-A               |                    | IIIL-C (0.02)                      |
| <i>S. metallicum</i> E | IL-A                 | Xo= standard       | IS-A (0.07-0.18)                   |
|                        | IL-B                 | Yo= standard       | IIIS-A (0.03)                      |
|                        | IL-C.D.+E            |                    | IIIS-B (0.02)                      |
|                        | IIIL-A               |                    |                                    |

senta cromosomas sexuales diferenciados ni polimorfismo autosómico.

De estas tres formas, la *Cayapa* es la que está incriminada directamente en la transmisión de *Onchocerca volvulus* en el Ecuador (Shelley et al., 1986).

El estudio de esta morfoespecie, encontrada en países limítrofes, tiene gran importancia para Colombia por ser el único vector de *Onchocerca volvulus* en el país.

#### El equipo de trabajo y los estudios colombianos

Antes de comentar los resultados globales obtenidos dentro del Programa de Investigación "Biología de los Simúlidos de Colombia" considero procedente dar a conocer los nombres de quienes han trabajado en el Programa de Investigación titulado "Biología de los simúlidos de Colombia" e integran actualmente el "Grupo de Simúlidos" de la Universidad Nacional de Colombia: las Biólogas Martha Lucía Bueno y Ligia Moncada quienes trabajaron en el inventario específico de los simúlidos de la región de La Calera y por fortuna continúan en la línea de investigación, los estudiantes de la carrera de Biología: Jairo Campos, Claudia Moreno, Rafael Miranda, Libia Hernández, Xatli Martínez, Antonio Mejía y Victoria Acero quienes preparan sus trabajos de grado, bajo mi dirección, con los simúlidos de la región de Chisacá, Usme, Cundinamarca. A ellos debo añadir los nombres de los biólogos Sofía Duque, Helena Moreno y Orlando Torres quienes trabajaron en etapas previas del programa de investigación pero que no toman parte hoy en el estudio de los simúlidos de Chisacá. La intervención de todos ellos ha sido muy activa y su aporte es digno de mencionar.

En el Instituto Nacional de Salud al iniciar en 1975 el estudio de los simúlidos de Colombia, motivados sólo por la importancia médica de ellos, se seleccionó un sitio de trabajo cercano a Bogotá para conocerlos, para estudiar su morfología, para evidenciar su variación, estandarizar técnicas de montaje e iniciar una colección. Se decidió levantar el inventario específico de la región de La Calera, Río Teusacá, Cundinamarca, donde se encontraron 7 especies: 4 del género *Simulium*: *S. ignescens*, *S. schmidtummi*, *S. muisorum* y *S. sp* y 3 del género *Gigantodax*: *G. ortizi*, *G. cervicornis* y *G. wygodzinskyi*, dos de ellas descritas por nosotros y cuyos nombres fueron dados en honor a los muisas y al doctor Wygodzinsky, conocedor de nuestros simúlidos.

En el estudio morfotaxonómico se presentaron dos situaciones difíciles: La primera relacionada con la morfoespecie *S. ignescens*, cuyas larvas y pupas no mostraron diferencias morfológicas notorias pero los adultos exhibieron variación en el co-

— *Simulium oyapockense*, morfoespecie antropofílica muy común en algunas regiones de Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Guayanas y Venezuela, es la especie vectora de *Onchocerca volvulus* en el sur de Venezuela y en Brasil. Es un complejo de dos especies crípticas, la forma Manabi y la forma Berm Querer (Procunier et al., 1987).

— *Simulium exiguum*, principal vector de *Onchocerca volvulus* en el Ecuador (Shelley y Arzube, 1985), único vector en Colombia (Tidwell et al., 1980b) y vector esporádico en el norte de Venezuela (Lewis e Ibáñez de Aldecoa, 1962; Duke, 1970), es una morfoespecie que presenta grandes variaciones en su comportamiento, capacidad vectorial, actividad de picar y preferencias por hábitats determinados, condiciones que muy probablemente están relacionadas con la existencia de diferentes citotipos (Shelley, 1988). Procunier et al., (1985) trabajando con material proveniente de varias regiones de Ecuador demostraron la presencia de tres especies crípticas dentro de la morfoespecie con base en las variaciones que presentó el cromosoma IIL:

**Forma Cayapa:** considerada como la forma standar, es una especie monomórfica, sin cromosomas sexuales diferenciados y sin polimorfismo autosómico.

**Forma Aguatico:** Difiere de la forma anterior por dos inversiones fijas, incluidas IIL-3.4 que involucran los marcadores parabalbiani y banda gris, por dos inversiones ligadas al sexo: IIL-1 = Y1 y IIL-1, IIS-2 = Y2 y por 7 inversiones flotantes con frecuencias variables:

IL-1 (54.3%), IL-2 (13%). IIS-1 (54.1%), IIS-3 (4.3%), IIL-2 (13%), IIIS-1 (9.5%), IIIL-1 (17.4%).

Las formas *Cayapa* y *Aguatico* son simpátricas, sin embargo, no se observó ningún ejemplar que indicara hibridización entre las dos, situación que refuerza el aislamiento reproductivo entre ellas.

**Forma Bucay:** Difiere de la forma *Cayapa* por la presencia de dos inversiones en Tandem IIL5+6 que involucran al marcador parabalbiani, no pre-

**Figura 2.** Representación gráfica del complemento cromosómico de *Simulium muiscorum*. AB = anillo de Balbiani. BI = ampolla. C = centrómero. c. y s. = tasa y platillo. cap. = cápsula. crk = grieta. Db = doble burbuja. FE = telómero festoneado. gB = banda gris. Hg = grupo pesado. pB = parabalbiani. RON = región organizadora nucleolar. SH = cordón de zapato. ST = diente de sierra. TR = trapezoide. M = marcador.

cuos, la RON en IS, el Anillo de Balbiani en IIS pero proximal al centrómero, una inversión fija en IIIIL llamada IIIIL-1 y 4 inversiones flotantes en IIIIL conocidas como IIIIL-C1, IIIIL-C2, IIIIL-C3 y IIIIL-C4 (Duque et al., 1988).

Estos criterios sirvieron para identificar dos citoespecies: *S. ignescens* y *Simulium* "C". La citoespecie llamada *Simulium* "C" es una especie nueva y su descripción está en proceso de elaboración actualmente.

— *Simulium muiscorum* Bueno, Moncada y Muñoz de Hoyos, 1979.

Al analizar las fotografías de los cromosomas politénicos de las larvas que poseían un histoblasto constituido por 12 filamentos branquiales, rasgo propio de *S. muiscorum*, se encontró una inversión IIIIL-1, paracéntrica, flotante o intraespecífica, que involucra el segmento diferencial del sexo (Fig. 2).

Este segmento se identificó como una heterobanda, proximal al centrómero, homocigótica en hembras y heterocigótica en machos.

En este caso, los resultados logrados llevaron a concluir que *S. muiscorum* de la región de La Calera, por lo pronto, debe ser considerada como una morfoespecie (Moreno, 1982).

## Conclusiones

El estudio minucioso de los cromosomas politénicos de las glándulas salivares de las larvas de los simúlidos es una herramienta valiosa en la taxonomía para registrar las especies crípticas dentro de una morfoespecie.

Considerando que muchas de las morfoespecies constituyen complejos de especies gemelas (morfológicamente similares) los simúlidos no pueden identificarse solamente por métodos taxonómicos convencionales.

Se recomienda que las descripciones taxonómicas incluyan, en lo posible, referencias citológicas y estén sustentadas con láminas y fotografías de los cromosomas politénicos.

## BIBLIOGRAFIA

- AMMERMAN, D. 1968. Synthese und abbau der nucleinsäuren während der entwicklung des macronukleus von *Stylonychia mytilus* (Protozoa, Ciliate). *Chromosoma* 25: 107-120.
- BARRETO, P., TRAPIDO, H. & V. H. LEE. 1970. Onchocerciasis in Colombia. Entomologic findings in the first observed focus. *Am. J. Trop. Med. Hugg.*, 19: 837-841.
- BEERMANN, W. 1952. Chromomerenkonstanz und spezifische modifikationen der chromosomen-struktur in der Entwicklung und organdifferenzierung von *Chironomus tentans*. *Chromosoma* 5: 139-198.
- BROCKHOUSE, C. 1985. Sibling species and sex chromosomes in *Eusimulium vernum* (Diptera: Simuliidae). *Can. J. Zool.* 63: 2145-2161.
- BUENO, M.L., MONCADA, L. & P. MUÑOZ DE HOYOS. 1979. Simuliidae (Insecta: Diptera) de Colombia. I. Nueva especie de *Simulium* (Hemicnetha). *Caldasia* 12 (60): 581-594.
- CARLSON, D.A. & J.F. WALSH. 1981. Identification of two West African blackflies (Diptera: Simuliidae) of the *Simulium damnosum* species complex by analysis of cuticular paraffins. *Acta tropica* 38: 235-239.
- CASSAGNAU, P. 1971. Les chromosomes salivaires polytenes chez *Bilobella grassei* (Denis) (Collemboles: Neanuridae). *Chromosoma* 35: 57-83.
- CROSSKEY, R.W. 1981. Simulii taxonomy - the contemporary scene: 3-18. In *Blackflies: The future for biological methods in integrated control*. Ed. M. Laird. Academic Press. New York and London. xii + 399 pp.
- . 1987. Part VIII. Black fly species of the world. 32. An annotated checklist of the world blackflies (Diptera: Simuliidae). In *Black Flies: Ecology, Population Management, and Annotated World list*. Eds. Chung, KE and Merrit, R.W. The Pennsylvania State University. USA: XV + 528 pp.
- DUKE, B.O.L. 1970. *Onchocerca-Simulium* complex. VI. Experimental studies on the transmission of Venezuela and West African strains of *Onchocerca volvulus* by *Simulium metallicum* and *Simulium exiguum* in Venezuela. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 64: 421-431.
- DUNBAR, R.W. 1958. The salivary gland chromosomes of two sibling species of black flies included in *Eusimulium aureum* Fries. *Can. J. Zool.*, 36: 23-44.
- DUQUE, S. 1980. Estudio citogenético de *Simulium ignescens* Roubaud, 1906. Trabajo de Grado. Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia.
- DUQUE, S., MUÑOZ DE HOYOS, P. & K.H. ROTHFELS. 1988. The polytene chromosomes of *Simulium* (Ectemnaspid) *ignescens* Roubaud and the related species *Simulium* "C", both from Colombia. *Can. J. Zool.*, 66: 303-309.
- HEITZ, E. & H. BAUER. 1933. Beweise für die chromosomen natur der kernschleifen in den knäuelkernen von *Bibio hortulanus*. *IZ. Zellforsch* 17: 68-82.
- HIRAI, H. 1983. A cytogenetic study of *Simulium metallicum* obtained from Guatemala and Venezuela. In a Comparative study on onchocerciasis between South and Central Americas. ed. by Tada, I. Shimoda Printing & Co. Ltda., pp. 66-67.

- . 1985. The salivary gland chromosomes of *Simulium metallicum* Bellardi from northern Venezuela. In a Comparative study on onchocerciasis between South and Central Americas. Ed. I. Tada. Shimoda Printing Co. Ltd., Kumamoto. pp. 66-73.
- . 1987a. C-banding patterns in polytene chromosomes of *Simulium metallicum* complexes A and B. In a Comparative study on onchocerciasis between South and Central Americas. Ed. I. Tada. Shimoda Printing Co. Ltd., Kumamoto, pp. 39-47.
- . 1987b. Cytotype of *Simulium metallicum* in Miranda, an endemic area in northern Venezuela, for onchocerciasis. In a Comparative study on onchocerciasis between South and Central Americas. Ed. I. Tada. Shimoda Printing Co. Ltd., Kumamoto. pp. 48-52.
- HIRAI, H. & K. UEMOTO. 1983. The analysis of salivary gland chromosomes of *Simulium ochraceum* from Guatemala and México. Jpn. J. Sanit. Zool., 34: 120.
- . 1984. The polytene chromosome analysis in *Simulium metallicum* complex from Guatemala. Jpn. J. Sanit. Zool. 35: 188.
- HIRAI, H., UEMOTO, K. & J. O. OCHOA. 1987. Polytene chromosome polymorphisms of *Simulium ochraceum* Walker (Diptera: Simuliidae) the main vector for Central American onchocerciasis. Am. J. Trop. Med. Hyg. (en prensa).
- LEWIS, D.J. & R. IBÁÑEZ DE ALDECOA. 1962. Simuliidae and their relation to onchocerciasis in Northern Venezuela. Bull. Wld. Hlth. Org. 27: 449-464.
- LITTLE, M.D. & A.D'ALESSANDRO. 1971. Oncocercosis en Colombia. Hallazgos Parasitológicos en el Primer foco observado. Acta Méd. Valle II: 49-54.
- MONCADA, L. & M.L. BUENO. 1977. Inventario específico y algunos aspectos biológicos de los Simúlidos del Río Teusacá. Trabajo de Grado. Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia.
- MONCADA, L., MUÑOZ DE HOYOS, P. & M.L. BUENO. 1980. Simuliidae (Insecta: Diptera) de Colombia. III. Descripción de una nueva especie de *Gigantodax* Enderlein, 1925, Caldasia 13 (62): 301-311.
- MORENO, C.H. 1982. Estudio citogenético de *Simulium* (Hemictetha) *muiscorum* Bueno, Moncada y Muñoz de Hoyos, 1979. Trabajo de Grado. Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia.
- MUÑOZ DE HOYOS, P., BUENO, M.L. & L. MONCADA. 1982. Simuliidae (Insecta: Diptera) de Colombia. II. Especies de Simúlidos registradas en Colombia. Scientiae 1 (2): 141-146.
- . 1984. Simuliidae (Insecta: Diptera) de Colombia. IV. Clave gráfica para la identificación de los Simúlidos de la Región de La Calera, Cundinamarca. Biomédica 4: 14-24.
- NAGL, W. 1969. Puffing of polytene chromosome in a plant (*Phaseolus vulgaris*). Naturwissenschaften 56: 221-222.
- PAINTER, T.S. 1934. Salivary chromosomes and the attack on the gene. J. Hered. 25: 465-476.
- PELLING, C. 1964. Ribonukleinsäure-synthese des riesen-chromosomen autoradiographische untersuchungen an *Chironomus tentans* Chromosoma 15: 71-122.
- PETROVA, N.A. 1972. Kariotipicheskie osobennosti Karelskoji moskhis is roda *Cnephia*. Tsitologiya 14: 769-773.
- PROCUNIER, W.S., SHELLEY, A.J. & M. ARZUBE. 1985. Sibling species of *Simulium exiguum* (Diptera: Simuliidae), the primary vector of onchocerciasis in Ecuador. Rev. Ecuat. Hig. Med. Trop. 35 (2): 49-59.
- . 1987. Cytological identification of *Simulium oyapockense* Manabi form (Diptera: Simuliidae). A potential vector of onchocerciasis in Ecuador. Trop. Med. Parasit. 38: 71.
- ROTHFELS, K.H. 1979. Cytotaxonomy of black flies (Simuliidae). Ann. Rev. Entomol. 24: 507-539.
- . 1981a. Cytotaxonomy: Principles and their application to some northern species complexes in Simulium: 19-29. In Blackflies: The future for biological methods in integrated control. Ed. M. Laird. Academic Press. New York and London xii + 399 pp.
- . 1981b. Cytological approaches to the study of blackfly systematics and evolution. In Application of genetics and cytology in insect systematics and evolution. Edited by M.W. Stock. Proceedings of a symposium, National Meeting of the Entomological Society of America, Atlanta, GA, December 1-2, 1980. Forest, Wildlife and Range Experiment Station, University of Idaho, Moscow, ID. pp. 67-83.
- . 1987. Cytological approaches to black fly taxonomy: 39-52. In Black flies: Ecology, Population management and annotated world list. Eds. Chung, K.E. and Merritt. The Pennsylvania State University. USA. xv. 528 pp.
- ROTHFELS, K.H. & D.W. FEATHERSTON. 1981. The population structure of *Simulium vittatum*. the IHL-1 and IS-7 sibling species. Can. J. Zool. 59: 1857-1883.
- SHELLEY, A.J. 1988. Vector aspects of the epidemiology of onchocerciasis in Latin América. Ann. Rev. Entomol. 30: 337-366.
- SHELLEY, A.J. & M. ARZUBE. 1985. Studies on the biology of Simuliidae (Diptera) at the Santiago onchocerciasis focus in Ecuador, with special reference to the vectors and disease transmission. Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 79: 328-338.
- SHELLEY, A.J., PROCUNIER, W.S. & M. ARZUBE. 1986. Direct incrimination of *Simulium exiguum* Cayapa form as a vector of *Onchocerca volvulus* in Ecuador. Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 80: 845.
- SNYDER, T.P. & M.C. LINTON. 1984. Population structure in blackflies: allozymic and morphological estimates for *Prosimulium mixtum* and *P. fuscum* (Diptera: Simuliidae). Evolution 38: 942-956.
- TESHIMA, I. 1972. DNA-DNA hybridization in blackflies (Diptera: Simuliidae). Can. J. Zool. 50: 931-940.
- TIDWELL, M.A., TIDWELL, M. & P. MUÑOZ DE HOYOS. 1980a. Development of *Mansonella ozzardi* in a black Fly species of the *Simulium sanguineum* group from eastern Vaupés, Colombia. Am. J. Trop. Med. Hyg. 29: 1209-1214.
- TIDWELL, M.A., TIDWELL, M., MUÑOZ DE HOYOS, P. & A. CORRADOR. 1980b. *Simulium exiguum* the vector of *Onchocerca volvulus* on the Rio Micay Colombia. Am. J. Trop. Med. Hyg. 29: 377-381.
- TIDWELL, M.A., TIDWELL, M., MUÑOZ DE HOYOS, P., CORRADOR, A. & P. BARRETO. 1980c. Vectores de *Onchocerca volvulus* y *Mansonella ozzardi* en Colombia. Colombia Medica 11: 119-127.
- WYGODZINSKY, P. 1953. Sobre algunos simúlidos de los países andinos (Diptera). Ann. Inst. Med. Reg. Univ. Nac. Tucumán 3 (3): 321-337.

- 1971. Descriptions and redescrptions of species of the blackfly genus *Simulium* from the northern Andes (Simuliidae: Diptera). American Museum Novitates (2447): 1-38.
- 1973a. On a species of *Simulium* (*Ectemnaspis*) from the northeaster United States (Diptera). J. New York. Ent. Soc. 81: 10-12.
- 1973b. A Blackfly of the subgenus *Simulium* (*Psaroniocompsa*) (Simuliidae : Diptera) from the high Andes of Colombia American Museum Novitates (2513) 1-11.
- 1973c. Diagnoses of new species of *Gigantodax* Enderlein (Simuliidae: Diptera) from the northern Andes. J. New York Entomol. Soc. 81 (4): 243-246.
- WYGODZINSKY, P. & S. COSCARON. 1982. Description of three unusual species of the black fly subgenus *Simulium* (*Ectemnaspis*) from the Andes of Colombia (Diptera: Simuliidae). American Museum Novitates 2736: 1-13.