

CARACTERIZACIÓN DE LOS CROMOSOMAS POLITÉNICOS DE *Simulium* sp. QUEBRADA LA ALDANA RESERVA CEDRO ROSADO-QUINDIO

CHARACTERIZATION OF CHROMOSOMES polytene of *Simulium* sp.
QUEBRADA LA ALDANA PINK SEDAR RESERVE-QUINDIO

Mónica Vargas Montes¹, Mateo Murillo¹, Katherine Chacon¹, Luisa Fernanda Arias¹ y Nohra Rodríguez Castillo²

¹. Estudiantes de Biología Universidad del Quindío.

². MSc Docente Universidad del Quindío

Recibido: 20 de Septiembre de 2014

Aceptado: 15 de Octubre de 2014

*Correspondencia del autor.: nohrarodriguez@gmail.com

RESUMEN

Considerando la importancia de *Simulium* sp. como posible vector de *Onchocerca volvulus*, parásito causante de la oncocercosis, y teniendo en cuenta que el análisis de los cromosomas politénicos se ha convertido en un herramienta poderosa para la identificación y clasificación de las poblaciones vectoras o no vectoras; se realizó un estudio preliminar basado en la estandarización de la técnica de extracción de los cromosomas politénicos y la caracterización de estos para individuos del género *Simulium* sp. encontrados en la quebrada la Aldana de la Reserva Natural de Cedro Rosado, Quindío. Los resultados del estudio indicaron que la especie tiene una dotación $n=3$. La longitud relativa es 125 micras, de las cuales el 46% corresponde al cromosoma I, el 33% al cromosoma II y el 21% al cromosoma III del complemento total. Los cromosomas I y II son submetacéntricos y el III metacéntrico. Se identifican los marcadores cromosómicos en la especie estudiada y un índice asimétrico=0,51.

Palabras claves: *Simulium*, cromosoma politénico, citogenética, citotaxonomía

ABSTRACT

Considering the importance of *Simulium* sp. as a possible vector of *Onchocerca volvulus*, the parasite that causes oncocercosis, and considering that polytene chromosome analysis has become a powerful tool for identification and classification of vectors or vector populations, a preliminary study was carried out based on the standardization of the extraction technique polytene chromosomes and characterization of these for individuals *Simulium* sp. found in the Quebrada La Aldana, into Nature Reserve Cedro Rosado, Quindio. The results of the study indicated that the species has $n = 3$. The relative length is 125 microns, 46 % corresponds to chromosome I, 33% to chromosome II and chromosome III 21% to total complement. Chromosomes I and II are submetacentric and metacentric III. Chromosomal markers are identified in the tested species and asymmetric index = 0.51.

Keywords: *Simulium*, polytene chromosome, cytogenetic, cytotaxonomy

INTRODUCCIÓN

En la familia Simuliidae se encuentran alrededor de 1500 especies a nivel mundial, 300 están en el Neotrópico y 45 de éstas en Colombia, 33 del género *Simulium* y 12 del género *Gigantodax* (1-3). En Colombia son limitados los estudios realizados en simúlidos y dada la posición geográfica del país, es posible que el número de especies sea mayor que el anotado (4). A nivel local se han realizado diferentes estudios donde se ha indicado la presencia de *Simulium* sp, como reporta Garcia-Alzate (5) en el río Roble ubicado en el departamento del Quindío entre los municipios de Quimbaya y Montenegro, encontraron que *Simulium* sp tiene una abundancia relativa en periodo de lluvias del 18,7% y en el periodo seco 1,2%. Del mismo modo Villareal y Sánchez (6) reportan a *Simulium* sp, en la quebrada la Aldana ubicada en el sendero Cedro Rosado de la universidad del Quindío.

Tidwell *et al.* (7) identificaron que *Simulium exiguum*, encontrado en el municipio López de Micay, es el vector de *Onchocerca volvulus* en Colombia; siendo esto de gran importancia biológica, ya que dicho parásito es causante de la enfermedad conocida como oncocercosis.

Con la introducción de la citogenética en el estudio del género *Simulium*, el análisis de los cromosomas politénicos de las larvas se han convertido en un herramienta poderosa para la identificación y clasificación de las poblaciones vectoras o no vectoras de este Díptero. (8).

Los cromosomas politénicos fueron observados por primera vez por E. G. Balbiani en 1881 (1) en núcleos interfásicos, que no completan la mitosis, por consiguiente los cromosomas se quedan estacionados en interfase, llegando a representar más de 1000 copias de una cromátide en un fenómeno llamado politenia. Cada cromosoma está constituido por un par de homólogos, íntimamente sinapsados, caracterizados por el patrón de bandas originado por la alineación de los diferentes cromómeros a todo lo largo del cromosoma. Es notable la constancia en la localización y distribución de los discos o bandas en los dos cromosomas homólogos. Es así muy fácil construir mapas topográficos de las bandas y de las interbandas y relacionarlos con los mapas genéticos. El patrón de bandas es específico para cada especie lo que permite observar cualquier anomalía de tipo estructural como

deleciones, inversiones translocaciones y duplicaciones.

Niño (9) realizó estudios comparación de cromosomas politénicos y ubicación marcadores cromosómicos en Simuliidae: *Gigantodax basinflatus* y *Gigantodax* sp. en la Quebrada la Vieja en el departamento de Cundinamarca-Colombia obteniendo como resultado un mapa citogenético por medio bandeado cromosómico extraído glándulas salivales de la mosca adulta, llegando a una comparación de las dos especies con una diferencia de distancias la ubicación de los marcadores.

La información obtenida a partir de herramientas citogenéticas también han contribuido con esta determinación taxonómica, en el caso de *Simulium*, estos estudios se han basado en la presencia de cromosomas gigantes o cromosomas politénicos. Estos cromosomas se encuentran en diferentes órganos (glándulas salivales, intestino, recto, túbulos de Malpighi, ovarios, cuerpos grasos) de las larvas. En *simulium* estos cromosomas se localizan más fácilmente en las glándulas salivales de las larvas.

Teniendo en cuenta lo anterior, el propósito del actual estudio fue estandarizar el método de extracción de los cromosomas politénicos de las glándulas salivales de la larva de *Simulium* sp. encontrada en la quebrada la Aldana de la Universidad del Quindío; y a su vez realizar la caracterización de los cromosomas extraídos.

METODOLOGÍA

Área de estudio

Teniendo en cuenta estudios previos que reportan la presencia de *Simulium* sp. se escogió la quebrada la Aldana en la reserva Natural Cedro Rosado localizada en el campus de la Universidad del Quindío como lugar de muestreo.

La Reserva se encuentra al noroeste de la ciudad de Armenia en la vertiente occidental de la cordillera Central de los Andes colombianos (4°32'40"N; 75°46'13"W). Tiene una extensión aproximada de 15 ha. Se encuentra a una altura entre los 1490 y 1530 msnm., el clima presenta una distribución bimodal de lluvias, con dos periodos de máxima precipitación en los meses de marzo-mayo y septiembre-noviembre, y dos periodos de menores precipitaciones entre diciembre-febrero y junio-agosto. El promedio anual

de precipitación es de 2436 mm, la temperatura es de 19°C, con una humedad relativa entre 65 y 75%, por lo cual la zona de vida es de bosque muy húmedo premontano (bhm-P) (10).

Recolección del material biológico

Se recolectaron larvas de *Simulium sp* en la quebrada mencionada anteriormente, por el método de colecta directa, teniendo en cuenta que se localizan donde la corriente del río y la caída del agua son muy fuertes y están adheridas sobre piedras, hojas, troncos o plásticos a poca profundidad. Las larvas fueron fijadas en Carnoy y otras en etanol al 95% y fueron transportadas en frío a 4°C hasta el laboratorio.

Disección de las larvas de *Simulium sp.*

Para la disección de las glándulas salivares, en una lámina con unas gotas de fijador diluido, se colocó una larva de último estadio (con su histoblasto maduro) bajo estereoscopio y utilizando dos agujas de disección de punta fina la larva se perforó el integumento por la parte ventral, con una escisión desde el sexto hasta el noveno segmento abdominal (2/3 partes osterio-ventral del abdomen). Una vez abierta la pared corporal, se localizaron fácilmente las glándulas salivares a lado y lado del intestino, reconocidas como dos bolsas alargadas, recubiertas o rodeadas de cuerpos grasos, que se retiraron posteriormente. Se fijaron las glándulas con unas gotas de Carnoy por dos o tres minutos. Se retiraron las glándulas, a una lámina limpia en la cual se adicionaron unas gotas de ácido acético al 50%, para fragmentar el tejido. Posteriormente se agregaron unas 3-4 gotas de orceína lactoacética para tincionar las células por 5 minutos. Se sobrepuso la laminilla y se efectuó el esparcimiento del tejido por un simple movimiento de rotación del dedo índice sobre la laminilla, entre dos papeles absorbentes (toallas de papel)(11).

Una vez logrados los montajes se realizaron los estudios citogenéticos que para este caso consistieron en la evaluación del tamaño cromosómico con ayuda del software IMAGE J, sobre imágenes logradas con la cámara fotográfica CANON REBEL T3 adaptada al microscopio marca ZEISS AXIO SCOPE. Sobre los registros fotográficos se identificaron las bandas e interbandas cromosómicas para determinar los segmentos a lo largo del cromosoma. Adicionalmente se identificaron marcadores cromosómicos teniendo en cuenta la metodología descrita por Moreno (12-13), Muñoz (14), Henry *et al.* (15), y Chaliow *et al.* (16) y

Mustapha *et al.* (17).

Los cromosomas fueron clasificados teniendo en cuenta la nomenclatura propuesta por Levan (18) y se determinó la Asimetría Intracromosómica de acuerdo al método establecido por Romero & Zarco (19) mediante la fórmula:

$$A1 = 1 - \sum \frac{b1}{B1} / n$$

b1: Longitud promedio del brazo corto

Donde: B1: Longitud promedio del brazo largo

n: Número de pares de cromosomas homólogos

RESULTADOS

Se recolecto aproximadamente 500 larvas de *Simulium sp.* Se diseccionaron adecuadamente 100 de las 500 larvas de *Simulium sp.* recolectadas y los preparados permitieron la identificación de una dotación cromosómica n=3. El cromosoma I (Figura 1), presenta una longitud relativa de 57,39 micras, que se subdividen en 70 segmentos (Tabla 1).

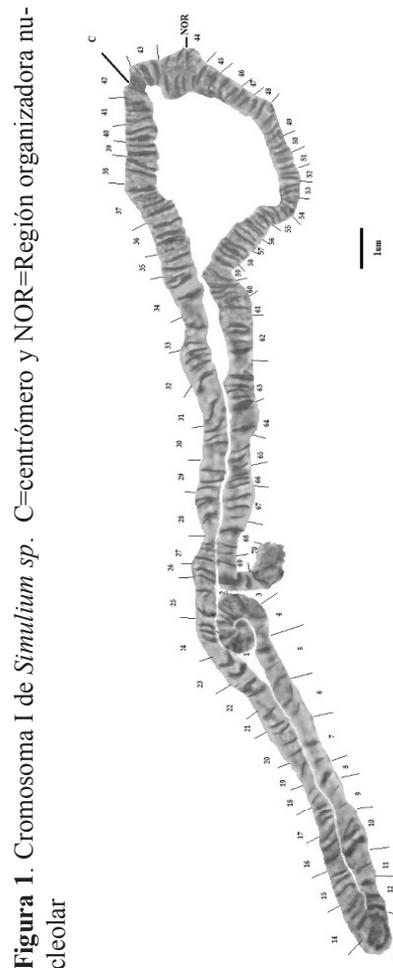


Figura 1. Cromosoma I de *Simulium sp.* C=centrómero y NOR=Región organizadora nucleolar

Tabla 1. Longitudes relativas del cromosoma I

Segmento	PERIM	ANGLE	CIRC	LENGTH(UM)
1	62,8	162.4	0.2	0,93202731
2	86,6	9.2	0.1	1,28524785
3	72	-89.2	0.2	1,06856634
4	58,6	-162.2	0.2	0,86969427
5	91	-168.6	0.1	1,35054912
6	74,8	-168.5	0.2	1,1101217
7	71,2	-167.1	0.2	1,05669338
8	36,2	-173.7	0.4	0,53725141
9	57	-169.9	0.2	0,84594835
10	75,8	-169.3	0.2	1,1249629
11	53,6	174.6	0.2	0,79548828
12	61,5	-176.3	0.2	0,91273375
13	126,3	135.3	0.1	1,87444346
14	72,1	33.7	0.2	1,07005046
15	63,2	18.4	0.2	0,93796379
16	58,6	11.9	0.2	0,86969427
17	51,9	25.1	0.2	0,77025824
18	45,4	24.9	0.3	0,67379044
19	42,6	19.3	0.3	0,63223508
20	60,3	34.8	0.2	0,89492431
21	41,2	25.9	0.3	0,61145741
22	61,5	41.0	0.2	0,91273375
23	58,5	47.1	0.2	0,86821015
24	71,3	8.1	0.2	1,0581775
25	69,4	3.3	0.2	1,02997922
26	22,7	0	0.6	0,33689522
27	50,5	-12.4	0.3	0,74948056
28	78,3	14.0	0.2	1,16206589
29	60,9	-10.4	0.2	0,90382903
30	61,3	0	0.2	0,90976551
31	59,6	10.6	0.2	0,88453547
32	74,8	22.1	0.2	1,1101217
33	55,1	-6.2	0.2	0,81775007
34	85,1	32.6	0.1	1,26298605
35	40,1	14.4	0.3	0,59513209
36	59,2	22.7	0.2	0,87859899
37	84	35.8	0.2	1,24666073
38	42,7	0	0.3	0,6337192
39	21,4	-2.7	0.6	0,31760166
40	28,8	12.1	0.5	0,42742654
41	48,7	-9.5	0.3	0,7227664
42	68,6	-24.0	0.2	1,01810626
43	54,5	-68.6	0.2	0,80884535
44	88,5	-96.5	0.1	1,31344613
45	34,2	-110.6	0.4	0,50756901
46	42,2	-108.0	0.3	0,6262986
47	25,9	-125.5	0.5	0,38438706
48	35	-106.9	0.4	0,51944197
49	69,8	-153.8	0.2	1,0359157
50	37,9	-161.6	0.3	0,56248145
51	30,5	-156.8	0.4	0,45265657
52	32,2	-172.9	0.4	0,47788661
53	30,7	-178.2	0.4	0,45562481
54	37,6	156.8	0.3	0,55802909
55	28,1	120.3	0.5	0,4170377
56	24,5	151.4	0.5	0,36360938
57	24	125.0	0.5	0,35618878
58	34	137.4	0.4	0,50460077
59	40,8	168.7	0.3	0,60552093
60	27,4	-132.0	0.5	0,40664886
61	45,5	174.9	0.3	0,67527456
62	83,2	173.1	0.2	1,23478777
63	70,1	170.9	0.2	1,04036806
64	73,3	178.4	0.2	1,0878599
65	41,8	157.7	0.3	0,62036213
66	34,9	-173.5	0.4	0,51795785
67	67,6	164.5	0.2	1,00326506
68	59,9	159.4	0.2	0,88898783
69	63,2	-137.5	0.2	0,93796379
70		65 -25.4	0.2	0,96467795
70		TOTAL 1		57,3983378

El cromosoma II (Figura 2), presenta una longitud de 41,20 micras, que se subdividen en 46 segmentos (Tabla2).

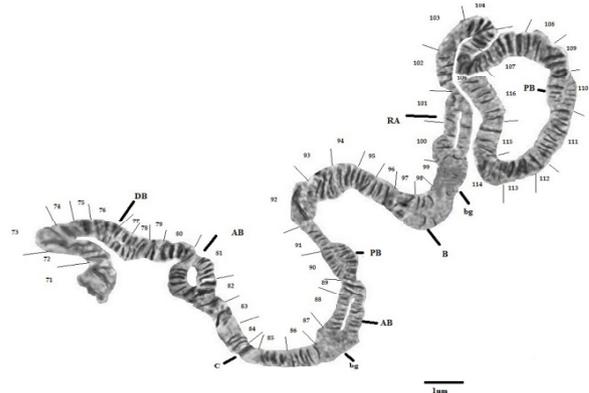
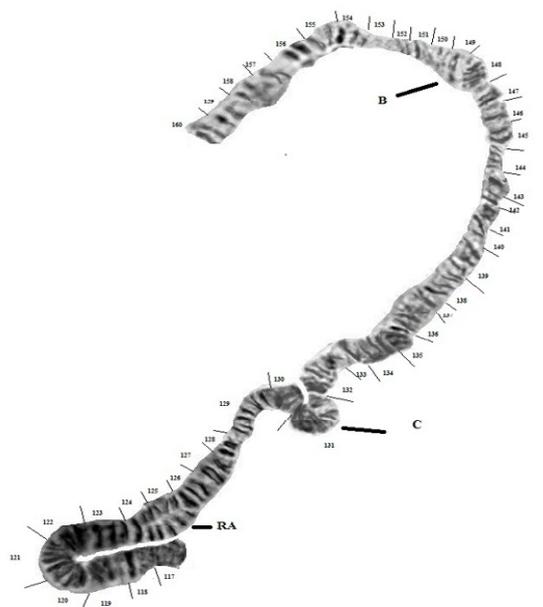


Figura 2. Cromosoma II. DB=doble bucle, AB=anillo de Balbiani, C=centrómero, bg=banda gris, PB=anillo parabalbiani, RA=Región Asináptica

Tabla 2. Longitudes relativas en el cromosoma II

Segmento	PERIM	ANGLE	CIRC	LENGTH
117	38,2	-171.0	0.3	0,56693381
118	36,1	-164.1	0.4	0,53576729
119	45	-178.7	0.3	0,66785396
120	36,6	167.5	0.4	0,54318789
121	59	78.3	0.2	0,87563075
122	43,7	17.2	0.3	0,6485604
123	51,6	6.6	0.3	0,76580588
124	40,8	25.9	0.3	0,60552093
125	41,4	19.7	0.3	0,61442565
126	38,5	23.2	0.3	0,57138617
127	42,2	45	0.3	0,6262986
128	42,2	46.0	0.3	0,6262986
129	37	64.1	0.3	0,54912437
130	79,2	62.1	0.2	1,17542297
131	49,2	-29.2	0.3	0,730187
132	92,1	-8.1	0.1	1,36687444
133	57,6	70.9	0.2	0,85485307
134	41,9	2.7	0.3	0,62184625
135	42,8	22.3	0.3	0,63520332
136	19,3	47.1	0.7	0,28643514
137	41,9	37.1	0.3	0,62184625
138	16,4	42.5	0.8	0,24339567
139	44,2	54.2	0.3	0,655981
140	38,6	57.5	0.3	0,57287029
141	32,7	83.1	0.4	0,48530721
142	25,8	64.4	0.5	0,38290294
143	23,6	77.7	0.6	0,3502523
144	33,3	76.0	0.4	0,49421193
145	37,7	90	0.3	0,55951321
146	38,8	87.1	0.3	0,57583853
147	34,7	114.3	0.4	0,51498961
148	38,9	113.2	0.3	0,57732265
149	38,1	142.5	0.3	0,56544969
150	29,5	172.1	0.4	0,43781538
151	36,7	178.5	0.4	0,54467201
152	23,1	175.0	0.6	0,3428317
153	30,8	161.0	0.4	0,45710893
154	36,4	160.6	0.4	0,54021965
155	42,6	-152.2	0.3	0,63223508
156	53	-155.8	0.2	0,78658356
157	36,5	-152.0	0.4	0,54170377
158	38,9	-156.0	0.3	0,57732265
159	43,7	-134.1	0.3	0,6485604
160	27,5	-139.4	0.5	0,40813298
	44	TOTAL 3		26,3846839

El cromosoma III (Figura 3), presenta una longitud de 26,38 micras, que se subdividen en 44 segmentos (Tabla 3).



Segmento	PERIM	ANGLE	CIRC	LENGTH
117	38,2	-171.0	0.3	0,56693381
118	36,1	-164.1	0.4	0,53576729
119	45	-178.7	0.3	0,66785396
120	36,6	167.5	0.4	0,54318789
121	59	78.3	0.2	0,87563075
122	43,7	17.2	0.3	0,6485604
123	51,6	6.6	0.3	0,76580588
124	40,8	25.9	0.3	0,60552093
125	41,4	19.7	0.3	0,61442565
126	38,5	23.2	0.3	0,57138617
127	42,2	4.5	0.3	0,6262986
128	42,2	46.0	0.3	0,6262986
129	37	64.1	0.3	0,54912437
130	79,2	62.1	0.2	1,17542297
131	49,2	-29.2	0.3	0,730187
132	92,1	-8.1	0.1	1,36687444
133	57,6	70.9	0.2	0,85485307
134	41,9	2.7	0.3	0,62184625
135	42,8	22.3	0.3	0,63520332
136	19,3	47.1	0.7	0,28643514
137	41,9	37.1	0.3	0,62184625
138	16,4	42.5	0.8	0,24339567
139	44,2	54.2	0.3	0,655981
140	38,6	57.5	0.3	0,57287029
141	32,7	83.1	0.4	0,48530721
142	25,8	64.4	0.5	0,38290294
143	23,6	77.7	0.6	0,3502523
144	33,3	76.0	0.4	0,49421193
145	37,7	90	0.3	0,55951321
146	38,8	87.1	0.3	0,57588853
147	34,7	114.3	0.4	0,51498961
148	38,9	113.2	0.3	0,57732265
149	38,1	142.5	0.3	0,56544969
150	29,5	172.1	0.4	0,43781538
151	36,7	178.5	0.4	0,54467201
152	23,1	175.0	0.6	0,3428317
153	30,8	161.0	0.4	0,45710893
154	36,4	160.6	0.4	0,54021965
155	42,6	-152.2	0.3	0,63223508
156	53	-155.8	0.2	0,78658356
157	36,5	-152.0	0.4	0,54170377
158	38,9	-156.0	0.3	0,57732265
159	43,7	-134.1	0.3	0,6485604
160	27,5	-139.4	0.5	0,40813298
44			TOTAL3	26,3846838

Figura 3. Cromosoma III. RA=Región Asináptica, C=centrómero, B=Blister

De acuerdo a las normas de Levan (18), los cromosomas 1 y 2 son submetacéntricos con proporciones de brazos de 2,09 y 2,78 respectivamente y el cromosoma 3 es metacéntrico con una relación de brazos de 1,61 (Tabla 4).

Tabla 4. Longitudes relativas en los cromosomas de *Simulium* sp.

	cromosoma I	cromosoma II	cromosoma III
longitudp	18,51884832	10,87859899	10,10240427
longitudq	38,87948946	30,33095874	16,28227961
Longitud relativa	57,39833779	41,20955773	26,38468388
Proporcion de brazos q/p	2,099455041	2,788130969	1,611723226
IC:Indice Centromerico= 100 (p/p+q)]	67,73626374	26,39824252	38,28889639
Clasificación	submetacentrico	submetacentrico	metacentrico

Metacéntrico I a 1.7; submetacéntrico, 1.7 y 3; subtolocéntricos entre 3 y 7; y acrocéntricos > 7

La longitud relativa de los cromosomas politénicos en la especie estudiada comprende aproximadamente 125 micras, de las cuales el 46% corresponde al cromosoma I, el 33% al cromosoma II y el 21% al cromosoma III del complemento total.

El cromosoma I, presenta un brazo corto con una longitud relativa de 18,5micras y un brazo largo de 38,8micras. En este cromosoma se identificaron dos marcadores cromosómicos, el centrómero en el segmento 42/43 y la región organizadora nucleolar en el brazo corto, en el segmento 44.

El cromosoma II, presenta un brazo corto con una longitud relativa de 10,8micras y un brazo largo de 30,3micras. En este cromosoma se identificaron 9 marcadores cromosómicos, el centrómero en el segmento 84/85, en el brazo corto un doble bucle en el segmento 76/77, y el anillo de Balbiani, en los segmentos 81/82. Y en el brazo largo dos anillos de Parabalbiani en los segmentos 90 y 110, dos regiones de banda gris localizadas en los segmentos 87 y 99, un Blister en el segmento 97/98 y una región asináptica en el segmento 100/101.

El cromosoma III, presenta un brazo corto con una

longitud relativa de 10,1 micras y un brazo largo de 16,3 micras. En este cromosoma se identificaron 3 marcadores cromosómicos, el centrómero en el segmento 131, en el brazo corto una región asináptica en el segmento 124/125 y en el brazo largo un blíster en el segmento 148/149.

Discusión

La buena cantidad de larvas recolectadas (500 larvas de *Simulium sp.*), indica que las características fisiocquímicas de la quebrada “La Aldana” son buenas desde el punto de vista del nivel trófico, ya que esta especie es indicadora de la calidad de las aguas y se localiza en sistemas con buena aireación, es importante tener en cuenta que a la quebrada son arrojados los desechos de la universidad sin previo tratamiento de estos residuos.

En la estandarización de la técnica citogenética es clave el proceso de fijación, el cual se realizó con carnoy 3:1 a bajas temperaturas, condiciones bajo las cuales el proceso de deshidratación celular por el etanol es lento y el reemplazamiento de agua por ácido acético permite mantener las estructuras celulares en buen estado.

Una vez obtenidas buenas placas (láminas) y registros fotográficos, se evaluaron las características citogenéticas, teniendo en cuenta lo reportado en la literatura, encontramos que los segmentos denominados como duplicaciones, son regiones de bandas e interbandas que tienen relación con las zonas de genes activos (bandas claras) y no activos y/o zonas de regulación de la expresión de genes (bandas oscuras). Encontrándose que no hay una relación uno a uno de bandas e interbandas. Según Muñoz (14), los cromosomas son divididos hasta 100 segmentos, sin embargo al analizar las bandas se identificaron en este estudio 160 segmentos de los cuales, el autor, indica que se dividen en segmentos más o menos uniformes por cromosoma 42 (cromosoma I), 30 (cromosoma II) y 28 (cromosoma III), valores que difieren significativamente ($p < 0.05$) de los observados en el presente estudio 70 (cromosoma I), 45 (cromosoma II) y 43 (cromosoma III). Lo anterior indica variabilidad en las especies presentes en la Quebrada La Aldana, por lo cual es importante ampliar las zonas de muestreo.

Los marcadores cromosómicos son específicos dentro de las especies, las regiones de síntesis de ARN como los NOR, y los Puffs que son regiones engrosadas

que se denominan anillos de Parabalbiani, con la cromatina poco extendida y los Anillos de Balbiani que presentan la cromatina muy distendida, se localizan a lo largo de los cromosomas, generalmente asociados, los dos últimos, al cromosoma II, en nuestra especie encontramos un NOR (cromosoma I), 2 Anillos de Balbiani, y 2 Anillos de Parabalbiani (cromosoma II).

Pelling (20), estableció que estos puffs, son sitios de transcripción, y su tamaño depende de la actividad de las bandas o interbandas que lo forman. En nuestro estudio se observó que el anillo de Balbiani del segmento 81/82 es más pequeño (1,63 μm) que el del segmento 88/89 (1,95 μm), indicando esto la transcripción diferencial de tales segmentos.

Marcadores cromosómicos similares fueron localizados por Henry *et al.* (15), Chaliow *et al.* (16) y Mustapha *et al.* (17), excepto por que en el cromosoma II se encontraron dos anillos de Balbiani y dos zonas de bandeado gris. En cuanto a la clasificación, de los cromosomas, el autor establece que los cromosomas I y II son metacéntricos y el III submetacéntrico, en el presente estudio, los resultados fueron diferentes, los cromosomas I y II son submetacéntricos y el cromosoma III metacéntrico. Lo anterior se puede explicar por el grado de condensación de los cromosomas al momento de la fijación, y por otro lado es una posible evidencia de que estos caracteres morfológicos de los cromosomas determinan que esta especie es diferente de la que trabajaron (15-17), siendo un carácter taxonómico que es necesario validar mediante la comparación con otras poblaciones distribuidas en una zona geográfica mayor.

Las regiones de asinapsamientos varían de un individuo a otro, estas determinan el grado de heterocigocidad en las poblaciones, convirtiéndose estas regiones en las zonas que evidencian la hibridación, en este estudio se logró establecer que los diversos individuos evaluados presentaban amplias zonas de asinapsamiento, lo cual determina el alto flujo génico en la especie y su potencial dispersamiento como especie vectora de múltiples parásitos de tipo filárico (nematodos) que afectan animales domésticos y al hombre.

El índice de asimetría Intracromosómica dio como resultado cariotipos asimétricos con un valor de $A1 = 0,51$. De acuerdo al resultado de las asimetrías cromosómicas se corrobora lo planteado por Romero-

Zarco (19) que cuando los índices se acercan a cero los cromosomas son en su mayoría metacéntricos y los cariotipos son simétricos. Lo cual es corroborado en la clasificación metacéntrica y submetacéntrica al usar la relación de brazos propuesta por Levan (18).

Por lo tanto, se concluye que la metodología evaluada

permite la caracterización de los cromosomas en la especie y se recomienda determinar la especie a través de un especialista en dípteros, y adicionalmente evaluar otras poblaciones de *Simulium* sp. para determinar la utilidad de la citogenética en su esclarecimiento taxonómico y a determinación de las especies vectoras de parásitos filáricos.

BIBLIOGRAFIA

1. Muñoz P., Bueno M.L. y Moncada L.I. (1982). Simuliidae (insecta: díptera) de Colombia, especies de simulidos registradas en Colombia. *Scientia I.* 141-146
2. Crosskey, R.W. (1987). Black fly species of the world. Part VIII. 32 An annotated checklist of the world black flies(Diptera: Simuliidae)425-520. In *Black flies: Ecology, Population management and annotated world list.* Eds. K.C.Kim and R.W. Merrit. The Pennsylvania State University. Press, University Park. 528p.
3. Wigodzinsky P. y Coscarón S. (1989).Description of three unusual species of the black fly subgenus *Simulium* (*Ectemnaspis*) from the Andes of Colombia (Diptera: Simuliidae). In: *American Museum of natural History*, Nov 2736: 1-13
4. Campos J y Muñoz P. (1990) Los cromosomas politénicos de *Simulium furcillatum* (Diptera: Simulidae) Chisaca, Cundinarma, Colombia. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 17 (67): 715:723.
5. Garcia C A, Román C, Taphorn D y Gonzalez M. (2010) Physicochemical and biological characterization of the Roble river, Upper Cauca, western Colombia. *Rev. Mus. Argentino Cienc. Nat.*, n.s. 12(1): 5-16, Buenos aires, ISSN 1514-5158.
6. Villareal A y Sanchez J A, (2009). Macroinvertebrados acuaticos como un sistema de evaluación de la calidad de aguas de la quebrada Cedro Rosado. *On line* consultada el 02/12/11 disponible en: [http://issuu.com/alejovillarreal/docs/macroinvertebrados como bioindicadores](http://issuu.com/alejovillarreal/docs/macroinvertebrados%20como%20bioindicadores).
7. Tidwell M A, Tidwell M, Muñoz P y Corredor A. (1980). *Simulium exiguum*, the vector of *Onchocerca volvulus* on the Río Micay, Colombia. *Am J Trop Med Hyg* 29(3):377- 381.
8. Dunbar, R.W. (1966). Four sibling species includes in *Simulium damnosum* Theobald (Diptera: Simuliidae) from Uganda. *Nature*, 209:597-9
9. Niño E. A. (2003) Caracterización, comparación de cromosomas politénicos y ubicación de marcadores cromosómicos en *Gigantodax basinflatus* Y *Gigantodax* sp. (Diptera: Simuliidae). Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá-Colombia
10. Rodríguez, C. T. (1999). Biodiversidad del relicto “Cedro Rosado” de la Universidad del Quindío, *Biología y Educación* (9):17-18.
11. Bueno M.L. (2002). Cromosomas Politénicos, En: *Manual de guías de laboratorio de genética.* Universidad Nacional de Colombia.
12. Moreno C. (1990) Estudio citogenético de *Gigantodax ortizi* Wygodzinsky, (Diptera: Simulidae) de la región de Chisacá. Trabajo de grado (Biólogo) Universidad Nacional de Colombia, facultad de Ciencias, Departamento de Biología..
13. Moreno C. (1999) Los cromosomas politénicos como herramienta para el estudio de especies de la familia Simuliidae. *SOCOLEN* (Sociedad Colombina de Entomología). XXVI, 137-146. 6-30-. Santafé de Bogotá..
14. Muñoz P. (1990). La importancia de los Cromosomas politénicos en la determinación taxonómica de los Simulidos. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias exactas, Físicas y Naturales* 17(66), 511-522.
15. Henry W., Dey S., Varma R., Thapa S. y Procunier W. (2010) Polytene chromosomes of an

- Indian Himalayan black fly *Simulium (Nevermannia) praelargum* (Diptera: Simuliidae). *Current Zoology* 56 (4): 437–444.
16. Chaliow K, Unchulee L, y Visut B. (1966) *Cytotaxonomy of Simulium siamense* Takaoka and Suzuki (Diptera: Simuliidae) in Thailand. *Genome* 51: 972–987, 2008 Dunbar R W. *Nature*, 209, 597–599.
 17. Mustapha M, Post RJ, y Krüger A. (2004). The cytotaxonomy and morphotaxonomy of *Simulium mengense* (Diptera: Simuliidae). *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*. 98(5) 509–523.
 18. Levan A, Freda K y Sandberg A. (1964). Nomenclature for centromeric position of chromosomes. *Hereditas* (52) 201-220.
 19. Romero-Zarco, C. (1986) A new method for estimating karyotype asymmetry. *Revista Taxon* (35) 526-531. 1986.
 20. Pelling C. (1969). Chromosomal synthesis of ribonucleic acid as shown by the incorporation of uridine labeled with tritium. *Nature London* (184): 655-656.