

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

SUBDIRECCION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



**GENÉTICA POBLACIONAL DE *Simulium ochraceum*
(DIPTERA:SIMULIIDAE) WALKER 1981,
EN EL SUR DE MEXICO.**

TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON
ESPECIALIDAD EN:
ENTOMOLOGIA MEDICA**

PRESENTA

Q.A. ARNOLDO OROZCO BONILLA

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L.

OCTUBRE DE 1997.

TM

Z5 32

FCB

1997

076

1



1020119985

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

SUBDIRECCION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



**GENÉTICA POBLACIONAL DE *Simulium ochraceum*
(DIPTERA:SIMULIIDAE) WALKER 1981,
EN EL SUR DE MEXICO.**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON

ESPECIALIDAD EN:

ENTOMOLOGIA MEDICA

PRESENTA

Q.A. ARNOLDO OROZCO BONILLA

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L.

OCTUBRE DE 1997.

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**GENÉTICA POBLACIONAL DE *Simulium ochraceum*
(DIPTERA:SIMULIIDAE) WALKER 1981, EN EL SUR DE MEXICO.**


TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON
ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGÍA MÉDICA**

PRESENTA

Q.A. ARNOLDO OROZCO BONILLA

COMISION DE TESIS



DR. ILDEFONSO HERNANDEZ SALAS
PRESIDENTE



M. en C. ROBERTO MERCADO HERNANDEZ
SECRETARIO



M en C. ALFONSO FLORES LEAL
VOCAL

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**GENÉTICA POBLACIONAL DE *Simulium ochraceum*
(DIPTERA:SIMULIIDAE) WALKER 1981, EN EL SUR DE MEXICO.**

TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON
ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGÍA MÉDICA**

PRESENTA

Q.A. ARNOLDO OROZCO BONILLA



DR. MARIO HENRY RODRIGUEZ LOPEZ



DR. ILDEONSO FERNANDEZ SALAS
ASESOR INTERNO

DEDICATORIA

A mis padres

Francisco Orozco Martínez †

Guadalupe Bonilla Castellanos

Para

Rosa Amanda Meza Alvarez

y especialmente a nuestro hijo

Arnoldo Iván Orozco Meza

AGRADECIMIENTOS

- Al Dr. Mario Henry Rodríguez López.** Director del Centro de Investigaciones Sobre Enfermedades Infecciosas (CISEI). Por sus críticas, sugerencias y el apoyo brindado para la realización del presente trabajo.
- Al Dr. Juan Ignacio Arredondo Jiménez.** Director del Centro de Investigación de Paludismo, CIP. DGE. Por el apoyo otorgado para el desarrollo del presente trabajo.
- Al Dr. Hdefonso Fernández Salas.** Coordinador de la Maestría en Entomología Médica (UANL). Por su apoyo incondicional y sugerencias.
- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).** Por haber otorgado el soporte económico para continuar mis estudios de Maestría.
- Al Dr. Gregory Lanzaro,** Profesor Asistente. University of Texas Medical Branch (UTMB). E.U.A. Por haberme apoyado con su experiencia y las facilidades necesarias para el desarrollo del presente trabajo.
- Al Dr. John-Paul Mutebi y al Técnico Scott Marriot.** UTMB. Por su asesoría y apoyo brindado para el procesamiento de las muestras.
- Al M. en C. Roberto Mercado Hernández.** UANL. Por su participación en la revisión del trabajo e integrar la comisión de tesis.
- Al M. en C. Alfonso Flores Leal.** UANL. Por su participación en la revisión del trabajo e integrar la comisión de tesis.
- Al Dr. Ricardo Cerda Flores.** Centro de Investigaciones Biomédicas del IMSS. Por compartir su experiencia en genética humana evolutiva.
- Al Departamento de Computación: Ing. Teresa Wong Koo, Leticia Romero y Guillermina Angeles.** CIP. Agradezco su apoyo, en la realización de las figuras y tablas del presente trabajo.
- Al Dr. John Stenos y Dr. Vinesh Delhia.** UTMB. Por su ayuda para la integración de la base de datos y por su amistad.
- A los Técnicos de la localidad de Las Golondrinas, Mpio. de Acacoyagua, Chis.: Guillermo Matías Ramírez, Eugenio Roblero Díaz y Bernardo Gtz.** Por su apoyo en las diferentes actividades de campo y por su amistad.
- Al grupo Oncocercosis: Marco Alessio y su esposa Leticia Valdivieso, Rafael Vázquez, Raúl Rodríguez.** CIP. Por transmitirme su experiencia en campo con esta especie de mosca.
- A la familia Rodríguez Ramírez.** Por sus atenciones y haber hecho grata mi estancia en la ciudad.
- Al Ing. Salvador Partida Pérez.** CIP. Por dar las facilidades en el área administrativa, para la realización del presente trabajo.
- Al M. en C. Cuauhtémoc Villarreal Treviño.** CIP. Por su apoyo y compartir sus conocimientos en genética.

A mis compañeros : Armando Ulloa García y René Roque Solis. Por su amistad y apoyo en los momentos de estudio y estancia en la ciudad.

A mis compañeros de la UNIVERSIDAD: Rosario Patiño, Norma, Rosario Najera, Jorge, Cecilia, Felipe, Carolina, Angélica, Zinnia, Yolanda, Armando, Adriana, Chava, Andrés, Cuauhtémoc, Héctor, Botello y Ezequiel.

A mis maestros:

**Dr. Ildefonso Fernández Salas (Entomología médica)
M. en C. Filiberto Reyes Villanueva (Biología y control de vectores).**

Dr. Humberto Martínez Quiroz (Entomología acuática),

Dr. Rahim Foroughbakhch (Bioestadística)

M. en C. Alfonso Flores (Fisiología de Insectos)

Dr. Alejandro Gonzalez H. (Biosistemática)

Dr. Ricardo Fuentes Pensamiento (Medicina Tropical e Higiene)

Dr. Enrique Loyola (Epidemiología)

Dr. Celso Ramos (Arbovirología)

Al grupo de Investigadores y Técnicos del Centro de Investigación de Paludismo. INSP. (Malariología).

A mis compañeros del CIP: José Domingo Méndez, Jorge Torres, Ciro Montero, Mauricio Casas, Yunuen Grant, Guadalupe Vázquez, Rogelio Danis, Guillermo Bond.

CONTENIDO

	Pag.
Resumen	i
I. Introducción	1
II Objetivo	4
III. Antecedentes	5
IV Materiales y métodos	9
4.1. Area de estudio	9
4.2. Forma de captura	9
4.3. Preservación de las muestras	10
4.4. Procesamiento de las muestras	11
4.4.1 Preparación de las muestras	11
4.4.2 Desplazamiento de las muestras en el gel	12
4.4.3 Lectura de las bandas	13
V. Análisis estadístico	14
VI. Resultados	16
VII. Discusión	19
VIII. Conclusiones	22
IX. Literatura citada	23
X. Apéndice	28

INDICE DE TABLAS

- Tabla 1.** Localidades muestreadas en el foco Soconusco, indicando sus altitudes sobre el nivel del mar (msnm), localizaciones geográficas y las fechas en que se realizaron las capturas de *Simulium ochraceum*.
- Tabla 2.** Concentración de los reactivos empleados para la preparación de los buffers de gel y buffers de electrodo, así como el voltaje utilizado para cada uno de ellos.
- Tabla 3.** Nomenclatura, abreviatura y tipos de buffers empleados para los 30 loci ensayados en *S. ochraceum*.
- Tabla 4.** Reactivos que se emplearon para la tinción de enzimas.
- Tabla 5.** Formato empleado para la lectura de las bandas en los geles.
- Tabla 6.** Número de simúlidos capturados por localidad y tipo de captura.
- Tabla 7.** Frecuencia alélica para los 30 loci ensayados por localidad.
- Tabla 8.** Variabilidad genética en 30 loci ensayados de *S. ochraceum*.
- Tabla 9.** Índice de similitud y coeficiente de las distancias genéticas entre las seis localidades del foco Soconusco.
- Tabla 10.A.**Clave de las localidades por tipo de captura.
- Tabla 10.B** Frecuencia alélica para los 18 loci ensayados en los 16 tipos de capturas realizadas por localidad.
- Tabla 11.** Matriz del promedio del Coeficiente de las distancias genéticas, en base a los tipos de captura.

INDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** A. Representación esquemática de los tres focos oncocercosos que se localizan en el sur de México. B. Ubicación de las seis localidades muestreadas en el foco Soconusco.
- Figura 2.** A. Placa de acrílico utilizada para el macerado de las muestras. B. Macerador en peine.
- Figura 3.** Gel expuesto a una corriente eléctrica. A. Molde del gel en forma de U invertida. B. Fuente de poder.
- Figura 4.** Molde del gel en forma de U invertida, ilustrando los cortes hechos en el gel para cada uno de los buffers empleados.
- Figura 5.** Corte del gel en hojas de 2 cm de espesor. A. Vista dorsal. B. Vista lateral.
- Figura 6.** Dendrograma de los Coeficiente de las distancias genéticas de *S. ochraceum*, en seis localidades del foco.
- Figura 7.** Dendrograma del Coeficiente de las distancias genéticas de *S. ochraceum* por tipos de capturas.

En el presente estudio se describió la estructura genética de la población de *Simulium ochraceum* en el foco Soconusco de Chiapas. Asimismo, se trató de identificar la presencia de subpoblaciones de estos vectores de acuerdo al equilibrio de Hardy-Weinberg, en relación a la frecuencia alélica de isoenzimas; para especímenes capturados en seis localidades (situadas a diferentes altitudes) del foco, en base a capturas en cebo humano (peridomiciliar y extradomiciliar) y cebo animal.

Los resultados que se obtuvieron al ensayar 30 loci en la población de moscas, demostraron que no hubo diferencias significativas en el equilibrio de Hardy-Weinberg ($p > 0.05$). Los valores de las similitudes genéticas por localidad se presentaron en un rango de 0.980 a 0.998 y los coeficientes de la distancias genéticas fue de 0.001 a 0.017. Por otro lado, los valores de las distancias genéticas por sitio de captura, se presentaron en un rango de 0.000 a 0.012. El valor promedio de *Fst* fue de 0.0657 y valor de *Nem* fue de 3.55 individuos.

Mediante la técnica de isoenzimas, no se detectaron diferencias genéticas entre la población de *S. ochraceum* capturadas en cebo humano peridomiciliar (centro de la localidad) y cebo humano extradomiciliar (plantación de café), localizadas en el foco Soconusco. Igualmente, no se encontraron diferencias genéticas entre los simúlidos capturados por cebo humano y cebo animal.

Se concluye que existe libre flujo genético entre la población de *S. ochraceum*, no existiendo barreras geográficas (altitud), biológicas, de flora y fauna, que impida la migración y el entrecruzamiento de los individuos.

I. INTRODUCCION

La oncocercosis humana (enfermedad de Robles, ceguera de los ríos) es una enfermedad parasitaria no mortal causada por el nemátodo filarial *Onchocerca volvulus* (Leuckart), cuya complicación más grave es la ceguera.

La oncocercosis es un padecimiento endémico en algunos países como Africa, Yemen, México, Guatemala, Venezuela y Brasil (WHO, 1991). En México, esta enfermedad es de importancia en salud pública, existiendo tres focos endémicos bien definidos, dos en el estado de Chiapas y otro en el estado de Oaxaca, conocidos como: foco Soconusco (latitud/longitud: 15°04'-15°57' N/90°05'-93°07' W), foco Chamula (16°52'-17°07'N/92°29'-92°40' W) y foco Oaxaca, también conocido como foco del Alto Papaloapan (17°25'-17°48' N/96°12'-96°40' W) (Figura 1A). La extensión territorial que incluye a los tres focos es de 16,900 km² (Sria. de Salud, 1992).

Los simúlidos vectores de la enfermedad, identificados morfológicamente para Guatemala son: *Simulium ochraceum* Walker 1861 (Diptera: Simuliidae), *S. metallicum* Bellardi 1859 y *S. callidum* Dyar & Shannon 1927 (Davis y Crosskey, 1991).

En México, *Simulium ochraceum* ha sido reportado como el principal vector transmisor de filarias causantes de la oncocercosis (Ortega *et al.*, 1989, 1991). Además, Ortega *et al.* (1989) reportaron diferencias en la transmisión para las localidades que se localizan a diferentes niveles de altitud en el foco Soconusco, Chiapas. Por otro lado, se han realizado algunos estudios de densidades de *S. ochraceum* en los sitios de actividad humana, cuyos resultados demostraron que el centro de la localidad presentó la mayor densidad de *S. ochraceum* con diferencias significativas en relación a otros espacios de actividad (plantaciones de café, maíz y frijol) (Ortega *et al.*, 1986). Posteriormente, Ortega *et al.* (1991) comparó los espacios de actividad humana y determinó el grado de infectividad de *S. ochraceum*. Los resultados revelaron diferencias significativas correspondientes al centro de la localidad en comparación con los otros espacios de actividad humana que fueron anteriormente mencionados.

Son pocos los estudios que se han realizado en *S. ochraceum* para determinar la presencia de subpoblaciones. Uemoto (1984) reportó por primera vez a ésta especie como un complejo de especies, conformado por lo menos de tres especies, y observó diferencias en la morfología de larvas capturadas en México y Guatemala.

Hirai (1985) realizó un estudio de cromosomas politénicos en glándulas salivales de larvas (ya que es difícil la interpretación de los cromosomas en estado adulto), utilizando muestras capturadas en las mismas localidades donde Uemoto (1984) llevó a cabo su estudio de morfología comparativa. Hirai (1985) observó gran variabilidad en el patrón de bandas de los cromosomas politénicos para estas áreas, especialmente en el cromosoma Y. También clasificó a las larvas de México y Guatemala como A, B y C, en base al patrón de las inversiones cromosómicas X y Y. Posteriormente, Millest (1992) llevó a cabo un estudio comparativo de los cromosomas politénicos en las poblaciones de larvas pertenecientes a cada uno de los tres focos localizados en México (Soconusco, Oaxaca y Chamula), observando diferencias en las inversiones de las bandas de los cromosomas y los llamó citotipos A, B y C respectivamente. Sin embargo, los tres citotipos no se encontraron en simpatria y es difícil asegurar que dichas poblaciones se encuentren reproductivamente aisladas.

Hirai *et al.* (1994) confirmaron los resultados hechos por Millest (1992), al observar el mismo patrón para los focos Soconusco y Oaxaca (citotipos A y B), a partir de un estudio de larvas de *S. ochraceum*. En Guatemala identificaron al citotipo A, cuyo foco es similar al encontrado en México. Además, reportaron al citotipo C en una área no endémica con características de sabana árida. Los resultados que se obtuvieron fueron en base a mapas de cromosomas politénicos e idiogramas, demostrando que los tres presentan diferentes cromosomas sexuales.

La diferencia que presenta *Simulium ochraceum* C con respecto a *S. ochraceum* A y *S. ochraceum* B, es debido a cinco inversiones interespecíficas designadas como IIS-7, 8 y IIIL-12, 13 + 14, 15. Son muy pocos los estudios

que han empleado el método indirecto, para estimar el flujo genético entre poblaciones basados en la distribución geográfica de la frecuencia alélica. Sin embargo, el único trabajo realizado en adultos de *S. ochraceum* empleando isoenzimas fue el realizado por Agatsuma (1987), en donde observó algunas diferencias genéticas en áreas geográficamente separados por 5 Km, dicha área pertenecía a una zona endémica en Guatemala. Por otro lado, Agatsuma reportó que el promedio de heterocigosis en poblaciones de moscas, capturadas en áreas no endémicas, fue más bajo que el de las áreas endémicas. En base a estos resultados, el nivel taxonómico de *S. ochraceum* como especie monotípica ha sido cuestionado, por lo que puede considerarse a esta especie como un complejo de especies.

El objetivo del presente trabajo consistió en investigar la presencia de subpoblaciones de *S. ochraceum*, a partir de la población que se localiza en el foco Soconusco considerado como el citotipo A, en base a un estudio isoenzimático y determinar la variabilidad genética expresada por la frecuencia alélica de los grupos comparados. Los grupos corresponden a áreas donde el ser humano desarrolla diversas actividades, como son: el centro de las localidad y el área de plantación de café, así como aquellas moscas que fueron capturadas en cebo animal.

La importancia del presente trabajo, consiste en reconocer la presencia de subpoblaciones de moscas adultas asociados a los sitios de actividad humana, ya que en el centro de la localidad de Las Golondrinas, se localizaron moscas de *S. ochraceum* con filarias en estado infectivo, no así para las moscas capturadas en el área de plantaciones de café, maíz y frijol (Ortega *et al.*, 1991).

Al documentar la presencia de subpoblaciones asociadas con los sitios de actividad humana, con diversos riesgos de adquirir la infección oncocercosa, se podrán hacer recomendaciones principalmente a la población en general, así como también a los organismos encargados del control del vector, para disminuir los contactos hombre-vector y combatir las poblaciones de simúlidos de acuerdo a cada espacio de actividad humana.

II. OBJETIVO

General:

El objetivo del presente trabajo, fue describir la estructura genética de la población de moscas adultas de *Simulium ochraceum* en el foco Soconusco, mediante el uso de marcadores bioquímicos (isoenzimas).

Específico:

Investigar la presencia de subpoblaciones de *S. ochraceum* de acuerdo al equilibrio de Hardy-Weinberg, en relación a la frecuencia alélica de isoenzimas, para los especímenes capturados en seis áreas (situadas a diferentes altitudes) del foco Soconusco, en base a capturas en cebo humano (peridomiciliar y extradomiciliar) y cebo animal.

III. ANTECEDENTES

El rango de transmisión de la oncocercosis en México y Guatemala, se localiza entre los límites de 500 a 1,300 msnm. La temperatura tiene una influencia sobre la dinámica de transmisión de la enfermedad, ya que a temperaturas bajas (altitudes arriba de 1,500 msnm) no existe desarrollo del parásito; por lo cual, la endemia es menor o está ausente, independientemente de la presencia de *Simulium ochraceum* (Dalmat, 1955). Por otro lado, en áreas por debajo de 500 msnm, las temperaturas son demasiado cálidas para sostener poblaciones de vectores. En Africa, las áreas endémicas se localizan en zonas de sabana donde las temperaturas son más o menos constantes y el área endémica coincide usualmente con el área infestada por los vectores.

Ortega *et al.* (1989) estudiaron las densidades de adultos para tres localidades del foco Soconusco que se localizan en diferentes altitudes (400, 800 y 1,200 msnm). Los resultados indicaron que en la franja de altitud entre 800 y 1,200 msnm, se observó la mayor densidad de adultos de *S. ochraceum*, y en alturas inferiores (400 msnm), la densidad fue menor. *S. ochraceum* presentó una distribución diferencial de acuerdo a la altura, por lo que Ortega *et al.* (1989) concluyeron, que las densidades y porcentajes de infección-infectividad se localizan en áreas con 1,200 msnm, ya que observaron a *S. ochraceum* con larvas metacíclicas (L3) a esta altitud.

Ortega *et al.* (1984) trataron de encontrar alguna diferencia en los hábitos domiciliarios de *S. ochraceum* en la localidad de Morelos, Mpio. de Huixtla, Chis. Los resultados demostraron que no hubieron diferencias significativas entre la endofilia y la exofilia presentada por esta especie. Además, observaron que un número bajo de *S. ochraceum* fueron atraídos por el cebo animal (caballo), ya que de 2,010 moscas capturadas, el 71% correspondió a *S. metallicum*, el 28% a *S. callidum* y el 1% pertenecieron a *S. ochraceum*.

Ochoa (1982) observó poca preferencia de *S. ochraceum* hacia el caballo y si una alta antropofilia (85%), en algunos trabajos realizados en Guatemala. Esta misma especie también presentó poca preferencia por vacas,

asnos, cerdos, ovejas, perros, cabras y gatos, así como algunas aves como palomas, patos, pavos y pollos. Comparó la preferencia alimenticia de esta mosca entre el hombre y la cabra, y observó que el 60% fueron atraídos por el hombre y el 40% a la cabra.

Ortega *et al.* (1986) estudiaron las densidades de adultos de *S. ochraceum* en las áreas de actividad humana para cuatro localidades situadas en el foco Soconusco, entre 800 y 1,200 msnm, en donde el centro de la localidad presentó diferencias significativas con respecto a las áreas de plantaciones de café y plantaciones de maíz-frijol, para tres de las cuatro localidades estudiadas. Posteriormente, Ortega *et al.* (1991) estudiaron la infección e infectividad de adultos de *S. ochraceum*, por espacio de actividad humana en la localidad de Las Golondrinas, Mpio. Acacoyagua, Chis. Los resultados demostraron que la mayor densidad, paridad e infección (presencia de estadios larvarios L₁ y L₂) de moscas, correspondió al centro de la población. Sin embargo, éstas no presentaron diferencias significativas entre los sitios de actividad. El parámetro infectividad (L₃) se presentó igualmente en mayor cantidad en el centro de la localidad, en donde hubo una diferencia significativa de este lugar con respecto a los otros sitios de actividad humana (cultivos de café y maíz-frijol).

En Africa, hay dos clases de *Onchocerca volvulus* y dos formas fisiológicas de *S. damnosum*, haciendo evidente distintos complejos de parásito-transmisor. Un complejo se extiende sobre las zonas selváticas y de sabana de Guinea, y el otro, se encuentra confinado a la zona de sabana del Sudán. La frecuencia de las lesiones oculares y la ceguera, es más grande en las zonas del norte del Sudán, pero en las selvas y zonas de sabana de Guinea, la ceguera es ocasionalmente detectada, a pesar de haber infecciones elevadas de oncocercosis en estas áreas. *O. volvulus* del tipo selvático, no se desarrolla bien en donde se localiza el tipo de *S. damnosum* de la sabana sudanesa. Contrariamente, *O. volvulus* del tipo de sabana sudanesa no se desarrolla en el tipo de *S. damnosum* de la selva (Suzuki, 1983).

La morfotaxonomía es insuficiente para separar a especies que conforman un complejo en simúlidos; por lo que se ha empleado a la citotaxonomía como una alternativa (Procunier y Post, 1987).

La identificación citotaxonomica para el género *Simulium*, únicamente puede ser aplicada a cromosomas politénicos de glándulas salivales en larvas, ya que usualmente no puede ser determinado en las moscas adultas. Sin embargo, la determinación citotaxonomica presenta algunas excepciones para el estudio de moscas adultas, entre ellas se encuentra el reporte de Bedo (1976), quien observó algunos cromosomas politénicos en los tubos de Malpighio de adultos de *Simulium* capturados en Australia. Otra desventaja de la citotaxonomía de adultos, radica en la dificultad para identificar a los cromosomas en especímenes con sangre.

La electroforesis de isoenzimas es una técnica clásica aún empleada en biología molecular, excelente para caracterizar diversidades genéticas de poblaciones naturales de insectos y otros organismos vectores de enfermedades en el hombre y de importancia en la agricultura. Tal es el caso de algunas especies de simúlidos (Charalambous *et al.*, 1993), culícidos (de Sousa *et al.*, 1996), flebotomos (Lanzaro *et al.*, 1993), triatominos (García *et al.*, 1995) y coleópteros (Follet y Roderick, 1996). Las isoenzimas son todas las formas similares de enzimas, incluyendo todos los polímeros de subunidades producidos por diferentes gen loci o por diferentes alelos en el mismo locus (Markert y Moller, 1959). Las isoenzimas han demostrado ser sensitivas y eficientes para diferenciar homocigotos, heterocigotos y la presencia de alelos nulos. La electroforesis de isoenzimas tiene la ventaja de ser más económica que otras técnicas empleadas en la actualidad. Pero tiene la desventaja de requerir especímenes vivos o congelados.

May *et al.* (1977), estudiaron la variación genética de tres especies muy relacionadas pertenecientes al grupo *S. jenningsi* Malloch. Los resultados se basaron en la utilización de 11 enzimas, las cuales revelaron ciertas diferencias entre *S. penobscotensis* Snoddy & Bauer, cuya especie tiende a ser más antropofílica que *S. nyssa* Stone & Snoddy y *S. jenningsi*, esto es en base a cuatro enzimas (fosfoglucomutasa, fosfoglucoisomerasa, malato

deshidrogenasa y lactato deshidrogenasa). El estudio revela que el potencial de la técnica con enzimas, provee un carácter taxonómico confiable y permite la identificación de las principales especies antropofílicas en el área.

Meredith y Townson (1981) estudiaron la variación enzimática en la población del complejo *S. damnosum* Theobald, procedentes de áreas localizadas en el oeste de Africa. Un sistema de 44 enzimas fueron examinadas, en donde únicamente 15 enzimas presentaron bandas bien definidas en el revelado. Las enzimas fosfoglucomutasa y trealasa se usaron como diagnóstico de la especie.

Petersen (1981, 1982), examinó 22 loci enzimáticos en *S. metallicum* y reportó una desviación significativa en el equilibrio de Hardy-Weinberg, para fosfoglucomutasa de la frecuencia de alelos, por lo que determinó la existencia de dos o más poblaciones reproductivamente aisladas y que fue correlacionada con las diferencias morfológicas en pupas. El estudio ilustra los principales datos enzimáticos y morfológicos, con la desventaja de tener que ser empleados por separados.

IV. MATERIALES Y METODOS

4.1.- AREA DE ESTUDIO

El Soconusco es una sección de la cadena montañosa (Sierra Madre de Chiapas) que presenta un relieve accidentado, con declive de montes escalonados hacia la costa del pacífico, con fuertes pendientes y desniveles, originándose numerosas cuencas y cañadas que presentan innumerables corrientes de agua, propicias para el desarrollo de estadíos inmaduros de *Simulium ochraceum*. El área del Soconusco abarca desde los límites con Guatemala hasta los municipios de Mapastepec y Pijijiapan. La zona de transmisión de la oncocercosis en el Soconusco, se localiza en una franja entre los 500 a 1,200 msnm.

La población que habita la región del Soconusco, ha intervenido en la modificación de la vegetación, transformándola de selvas a plantaciones de café, dejando algunos árboles para sombra, lo que ha modificado las condiciones climáticas del área. La vegetación puede clasificarse como Selva Mediana Perennifolia. El clima a estas alturas se considera como Semicálido, el más fresco de los cálidos húmedos, con temperatura media anual menor de 22°C y la del mes más frío mayor de 18°C. La mayoría de los pobladores que habitan éstas áreas de transmisión, se han establecido en pequeñas localidades, el nivel económico es bajo, se dedican principalmente al cultivo del café y secundariamente a otras actividades agrícolas (cultivos del maíz, frijol, etc.)

Durante el presente estudio se seleccionaron seis localidades que se localizan en el foco Soconusco (Tabla 1 y Fig. 1B), las cuales se encuentran dentro de un rango de 30 Km.

4.2.- FORMA DE CAPTURA

Para cada una de las localidades se realizó una sola visita de muestreo, en donde se efectuaron tres tipos de capturas (en base a las diferentes espacios de actividades humanas): cebo humano peridomiciliario, cebo humano extradomiciliario y cebo animal.

La captura de las moscas en cebo humano (peridomiciliar y extradomiciliar) fue realizada por dos equipos, cada equipo estuvo integrado por dos personas, de las cuales una actuó como cebo y otra como capturador de moscas. La persona que ocupó el lugar del cebo, permaneció sentado, con el dorso y piernas descubiertas; cuando los simúlidos se posaban en el cebo, se capturaban antes de picar con un aspirador manual, el cual estuvo hecho con un tubo de vidrio y manguera de plástico.

La captura peridomiciliar, se realizó en el exterior de una casa ubicada en el centro de la localidad, mientras que la captura extradomiciliar se llevó a cabo en la plantación de café, a 200 m de la última casa de la localidad. Ambas capturas se iniciaron en los primeros 20 min de cada hora, con 10 min de descanso. Las capturas se iniciaron a las 09:00 h y finalizaron a las 16:00 h.

La captura en cebo animal, se realizó en los treinta minutos restantes de cada hora, en donde el personal encargado de las capturas de cebo humano peridomiciliar y extradomiciliar, realizaron actividades de captura de simúlidos en una trampa animal, con un caballo en su interior (que actuó como cebo). Para permitir la entrada de los simúlidos en la trampa, esta permaneció levantada aproximadamente a 50 cm del nivel del suelo, los cuales eran atraídos por el cebo y atrapados posteriormente con los aspiradores manuales. La trampa fue hecha con una cortina de nylon (Tricot®) y el techo de manta (3 x 2 x 2 m). La trampa animal fue instalada entre los límites de la localidad y la plantación de café.

4.3.- PRESERVACION DE LAS MUESTRAS

Los simúlidos capturados fueron depositados en vasos de plástico transparentes (#8) cubiertos con Tricot® y sujetos con ligas, posteriormente los simúlidos se depositaron en viales Eppendorf® de 1.5 ml (debidamente etiquetados), los cuales se congelaron en nitrógeno líquido para su preservación. Las muestras se transportaron al laboratorio del Centro de Investigación de Paludismo (CIP), en la Ciudad de Tapachula, Chiapas,

México y se transfirieron a un congelador (Revco®) con temperatura de menos de 70°C. Las muestras fueron transportadas en hielo seco para su procesamiento, al laboratorio de Genética del Departamento de Patología de la Universidad de Medicina en Galveston, Texas, E.U.A.

4.4.- PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS (según Brewer y Sing, 1970; Shaw y Prasad, 1970; Steiner y Joslyn, 1979).

4.4.1.-Preparación de las muestras:

Las muestras se maceraron en una placa de acrílico estandar (76 x 101 x 18 mm) con 64 pozos. Los pozos estaban distribuidos en dos grupos, con una separación de 22 mm, cada grupo presentaba cuatro pozos en columna y ocho pozos en hilera, la separación de los pozos entre columna e hilera fue de 3 y 9 mm respectivamente; el diámetro del pozo fue de 3 mm por 6 mm de profundidad (Fig. 2A).

Antes de depositar las muestras, la placa de acrílico estandar de macerado fue enfriada con hielo raspado y se mantuvo bajo estas condiciones hasta finalizar el macerado de las muestras. Se utilizaron 30 moscas de *S. ochraceum* por placa, las cuales fueron puestas individualmente en cada uno de los pozos que se encuentran sombreados en la figura 2A. Posteriormente se depositaron 20 µl de agua destilada por pozo y se utilizó un macerador manual en peine plano para moler las moscas (Fig. 2B). El peine presentaba dientes múltiples que estaban soldados a una plancha metálica de 177 x 31 x 3 mm y distribuidos en columnas e hileras de 4 x 4, la separación de los dientes entre columna e hilera fue de 4.5 y 26 mm, cada diente presentaba una medida de 2 mm de diámetro por 16 mm de longitud.

La molienda se realizó mediante movimientos del macerador manual, en diferentes direcciones, para obtener un homogenizado de las muestras en el agua. La placa fue cubierta con un plástico autoadherente y etiquetada con la fecha del macerado y guardada en un Revco® a una temperatura menor de 70°C hasta el momento que las muestras fueron utilizadas en el gel.

4.4.2.-Desplazamiento de las muestras en el gel:

Para el análisis isoenzimático de las diferentes muestras de *S. ochraceum*, se emplearon geles de almidón al 12.5%*. Las proteínas se separaron en relación al tamaño, forma y carga, en respuesta a un campo eléctrico (Cooper, 1977).

Antes de que las muestras (contenidas en las placas de macerado) fueran colocadas en el gel, el gel se expuso a una corriente eléctrica por un tiempo de 10 seg. a una temperatura de 4°C (Fig. 3). Se utilizó un buffer de electrodo y un voltaje específico (ver Tabla 2). Posteriormente el gel fue retirado de la corriente eléctrica y con un bisturí se realizó un corte longitudinal al borde cátodico, cuya distancia del corte al borde dependió del tipo de enzima a ensayar (Tabla 3). Por ejemplo, los geles hechos con buffers CA-8 y TBE fueron cortados a 4 cm del borde, mientras que en los geles CA-7 y C, el corte se realizó a los 7.5 cm (Fig. 4). Se utilizaron rectángulos de papel filtro (3 x 6 mm), los cuales se introdujeron con una pinza entomológica en cada uno de los pozos coteniendo el macerado de las muestras, para absorber parte de ella. El exceso de muestra fue secado con un papel absorbente. Los 30 rectángulos de papel filtro que contenían las muestras, fueron puestos al mismo tiempo en el gel cortado. Se utilizaron tres rectángulos de papel filtro impregnados con azul de bromofenol como control, para separar grupos de diez muestras. El gel fue puesto nuevamente a corriente eléctrica durante 15 minutos y sobre el gel se puso una caja con hielo raspado, en la parte donde se encontraban las muestras, para evitar la desnaturalización de las proteínas por el calentamiento producido por la corriente eléctrica. Los rectángulos de papel filtro que contenían las muestras fueron retirados y el gel fue expuesto nuevamente a corriente eléctrica. El tiempo que permanecieron los geles bajo corriente eléctrica dependió del tipo de enzima a estudiar (Tabla 2 y 3). Por ejemplo, los geles hechos con buffers CA-7 y C, permanecieron durante un periodo de 2 a 3 hr, mientras que para los geles CA-8 y TBE permanecieron durante un

*Para la preparación de los geles de almidón al 12.5%, se pesaron 43.75 g de almidón, el cual se depositó en un matraz Kitasato y posteriormente se agregaron 350 ml de buffer de gel (CA-8, CA-7, TBE y C, ver tabla 2 para la preparación).

periodo de 12 a 15 hr. Al término del desplazamiento de las muestras en el gel (electroforesis), el gel fue cortado con

un bisturí a 5 cm en todos los lados del molde y puesto en el centro de una plancha rectangular de acrílico (30.4 x 17.7 cm)(Fig. 5), el cual presenta en dos de sus lados una pronunciación de 2 cm de espesor. Después, se puso otra plancha lisa de acrílico sobre el gel (30.4 x 17.7 cm). De esta manera, el gel se cortó en hojas 2 cm de espesor, al pasar entre el gel una cuerda de guitarra (sostenida por el mango de una segueta). Cada hoja del gel fue separada, colocada y etiquetada en cajas de plástico con los reactivos para la tinción histoquímica de las enzimas (Tabla 4). Las cajas con los geles fueron puestos en una incubadora a una temperatura controlada (37°C). Los geles se observaron cada 5 minutos y cuando empezaron a distinguirse la presencia de las bandas, los geles fueron retirados de la incubadora y lavados con agua corriente, dejándose una pequeña cantidad de agua y se procedió a guardar las cajas con los geles en refrigeración a una temperatura de 4°C, hasta el momento de realizar el registro y lectura de las bandas en los diferentes geles. Se utilizaron moscas de *Lutzomia longipalpis* como muestra control (Lanzaro *et al.*, 1993).

4.4.3.-Lectura de las bandas:

Para realizar la medición del desplazamiento de las bandas en los geles, se utilizó una regla milimétrica (escala 1:100) para medir la distancia que recorrieron las bandas desde el punto donde se depositaron las muestras al punto donde se localizaron las bandas, las lecturas fueron registradas en un formato previamente diseñado (Tabla 5). Los resultados obtenidos, se recategorizaron a valores nominales para obtener los valores de las frecuencias alélicas observadas en *S. ochraceum*.

Los geles con las bandas fueron fotografiados, con la finalidad de utilizarlos como material de consulta. Se usó una cámara Nikon® F3 con una lente de 55 mm, además de un filtro de 55 mm (1:2:8) y rollos de película para diapositivas Kodak® Ektachrome 64 (ERP 135).

V. ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados de las frecuencias alélicas recategorizadas para *S. ochraceum*, fueron capturados a una base de datos del programa Excel 7.0, para después ser transferidas al programa Work 6.0, y tener acceso al programa del paquete estadístico Biosys-1 (Swoofford & Selander, 1981), para calcular la ley del equilibrio de Hardy-Weinberg (Hdy-Wbg) mediante la prueba de chi-cuadrada, para conocer el comportamiento de los genes de las poblaciones.

Ley del equilibrio de Hardy-Weinberg:

Se considera que una población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg, cuando se asume que: a).- La población es infinita o el tamaño es constantemente grande. b).- Las cópulas son completamente al azar en ausencias de selección, migración y mutación. c).- Las frecuencias alélicas son completamente heredadas de generación a generación y pueden ser empleadas para estimar relaciones genéticas entre pares de poblaciones.

Entre las medidas disponibles para estimar las relaciones genéticas y la construcción de dendrogramas, se encuentran la similitud (Rogers, 1972) y el coeficiente de la distancia genética (Nei, 1972) . El índice de similitud de Rogers puede ser empleado para realizar un dendrograma por el método de pares de grupos con medias no ponderadas. En el presente trabajo, se empleó el coeficiente de la distancia genética para construir un dendrograma de los grupos comparados de la población de *Simulium ochraceum*.

La comparación de la similitud y el coeficiente de la distancia genética, es útil desde el punto de vista de relaciones genéticas, sobre todo cuando hay varias poblaciones genéticamente diferentes o hay una comparación de especies y éstas son relacionadas en un dendrograma.

La similitud (I) genética fue calculada de la siguiente forma:

$$I = I_{ab} / I_a I_b$$

donde:

I_{ab} , I_a , I_b son las medias aritméticas de todos los loci de $\sum a_i b_i$, $\sum a_i^2$, $\sum b_i^2$, respectivamente.

La distancia genética entre pares de poblaciones es $D = -\ln(I)$.

donde:

$\ln(I)$: logaritmo natural de la similitud

Una forma para poder estimar la migración (m) es con el uso de la F estadística de Wright (1951), quien introdujo la F -estadística (F_{st}) como una medida de diferenciación de poblaciones para dos alelos en un sistema de locus distribuidos al azar, dentro de subpoblaciones relativas de la composición genética de la poblacional en general. Cuando el valor de F_{st} es de 0, indica que no hay diferencias genéticas, y cuando tiende a 1, presenta completa diferenciación.

La fórmula de F_{st} es: $F_{st} = (1 - (H_s/H_t))$, donde H_s es el promedio de heterocigosis dentro de subpoblaciones y H_t es el valor total de heterocigosis esperada. Wright (1931) estimó el flujo genético entre poblaciones mediante la fórmula siguiente: $F_{st} = 1/(1+4Nem)$, donde N_e es el tamaño de población efectiva y m es la proporción promedio de migrantes en un modelo aislado de estructura de la población. Despejando la ecuación anterior tenemos que $Nem = 1/(4(F_{st}-1))$, el cual es una estimación del flujo genético, en donde se indica el número promedio de migrantes entre poblaciones por generación (Slatkin, 1987). Para determinar el flujo genético, se considera el valor de 5 como moderado y el valor de 10 como alto flujo genético.

VI. RESULTADOS

Se capturaron un total de 990 moscas de *Simulium ochraceum*, en seis localidades muestreadas del foco Soconusco (tabla 6). En base a estos resultados, se pudo observar que la mayor abundancia de simúlidos fueron capturados en cebo humano pertenecientes al área peridomiciliar (502) y el área extradomiciliar (429), y en menor abundancia fueron capturados en cebo animal (59).

Comparación de las frecuencias alélicas por localidades

Los resultados electroforéticos demostraron que de los 30 loci examinados, nueve (30%) fueron monomórficos (TRE, ALD-1, ALD-2, ADK-1, ADK-2, ADA-1, ADA-2, ME-2 y ACON-2) y de los 21 loci restantes, seis (20%) fueron dialélicos (HK-2, DIA-1, IDH-3, IDH-4, GOT-2 y AO-2). Además, la manosa-6-fosfato-isomerasa (MPI) fue el locus más polimórfico con 11 alelos (Tabla 7).

El promedio de locus por muestra vario de 20.2 a 74.7. El promedio de alelos por locus entre las muestras, se presentó en un rango de 1.4 a 1.9. El promedio del porcentaje de los loci polimórficos fue de 12.2%, con un rango de 10 a 13.3%.

El rango para el promedio de heterocigosis observada por individuo fue de 0.030 (± 0.014) a 0.037 (± 0.018) y el promedio de heterocigosis esperada para el equilibrio de Hardy-Weinberg fue de 0.046 (± 0.022) a 0.069 (± 0.027) (Tabla 8).

En base a los resultados obtenidos de heterocigosis esperada, la prueba de chi-cuadrada reveló que no hubo diferencias significativas en el equilibrio de Hardy-Weinberg ($p > 0.05$). Un locus se consideró polimórfico, cuando el alelo más común presentaba una frecuencia menor que 0.96. El número de muestras analizadas por locus se presentan en la tabla 7.

Para determinar los índices de similitud y el coeficiente de las distancias genéticas se emplearon los datos de las frecuencias alélicas observadas por pares de poblaciones, primeramente por locus y después en forma general. Los valores de los índices de similitud de las localidades comparadas, presentaron un rango de 0.980 a 0.998, lo cual indica que son muy similares entre sí; y el coeficiente de las distancias genéticas para los mismos grupos comparados fue de 0.001 a 0.017, indicando que es pequeña la diferencia que existe entre ellas (Tabla 9). En la figura 6 se muestra un dendrograma en base a los coeficientes de las distancias genéticas, en donde se observa la asociación que existe entre cada una de las localidades comparadas.

Comparación de las frecuencias alélicas por tipo de captura

El tipo de captura en cebo humano peridomiciliar y extradomiciliar, se realizaron en seis localidades, las cuales fueron: Morelos, Rosario Zacatonal, Brasil, Golondrinas, Rincón del Bosque y San Antonio Miramar, y las capturas en cebo animal se realizaron en cuatro localidades: Morelos, Rosario Zacatonal, Brasil y Golondrinas (Tabla 10. A), debido a que en las localidades del Rincón del Bosque y San Antonio Miramar no se capturaron moscas de *S. ochraceum*.

Los resultados de las frecuencias alélicas para los simúlidos capturados en 16 sitios de colecta con diferentes tipos de capturas, correspondientes a seis localidades, se compararon en base a 18 loci (HK-1, ME-1, MDH-1, MDH-2, IDH-4, ALD-1, ALD-2, ADK-1, ADK-2, GOT-1, GOT-2, ACO-3, LDH, TPI, AO-2, AO-1, a-GPD y ACON-1)(Tabla 10. B).

En el presente estudio, se realizó una matriz (Tabla 11) con el promedio de los resultados de los coeficientes de las distancias genéticas, en base a los tipos de capturas de la población de *S. ochraceum*. Las capturas en cebo humano peridomiciliar, indicaron un valor promedio de 0.003, presentando un rango de 0.000 a 0.007. La comparación de la captura de cebo humano peridomiciliar con respecto a la de cebo humano extradomiciliar, presentó un valor promedio de 0.003, con un rango de 0.000 a 0.009. Al comparar la captura de cebo humano peridomiciliar con las realizadas en cebo animal, éstas

presentaron un valor promedio de 0.005, localizándose en un rango de 0.001 a 0.012.

Las capturas que se realizaron en cebo humano extradomiciliar o plantación de café, presentaron un valor promedio de 0.002 y se presentó dentro del rango de 0.000 a 0.003. La comparación de la anterior captura con la de cebo animal, presentó un promedio de 0.005 y se localizó en un rango de 0.001 a 0.012.

Finalmente la captura en cebo animal presentó un valor promedio de 0.007 y se localizó en un rango de 0.002 a 0.010.

En la figura 7 se muestra un dendrograma en base a los coeficientes de las distancias genéticas para los grupos comparados por tipos de capturas, en donde puede observarse que existe un valor de 0.003 para las moscas capturadas en cebo humano peridomiciliar y cebo humano extradomiciliar, sin embargo, ambos tipos de capturas presentaron una separación de 0.005 al compararlas con las moscas capturadas en cebo animal. Los valores de las distancias genéticas obtenidas durante el estudio, son tan pequeños, por lo que no se puede considerarse a las moscas de *S. ochraceum* colectadas por medio de diferentes tipos de capturas, como poblaciones diferentes.

VII. DISCUSION

En el presente trabajo se investigó la posibilidad de observar divergencias genéticas en los grupos de poblaciones asociadas a los tipos de captura del adulto *S. ochraceum*, para las diferentes localidades seleccionadas del foco Soconusco, ya que se esperaba que pudiera existir alguna diferencia genética expresada en la frecuencia alélica en el equilibrio de Hardy-Weinberg para aquellas moscas que fueron capturadas en diferentes tipos de actividad humana, como son el área peridomiciliar o exterior de la casa (localidad), y el área extradomiciliar o plantación de café. Ya que el estudio realizado por Ortega *et al.* (1991), reportaron que el centro de la localidad presentaba el mayor número de hembras infectivas y posiblemente se trataba de un grupo genéticamente diferente del que se localiza en el área de plantación de café. Los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación, indicaron que no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) al equilibrio de Hardy-Weinberg, ya que los simúlidos capturados en cebo humano peridomiciliar y extradomiciliar, son genéticamente homogéneos. Esta homogeneidad, es el resultado del libre flujo genético ocasionado por el entrecruzamiento de los individuos, producto de la migración. Indicando que *S. ochraceum* tiene la misma posibilidad genética de infectarse y transmitir la filaria a humanos no importando el sitio de actividad humana, en base a los marcadores empleados (Tabla 3).

Posiblemente, la respuesta que justifica la presencia de moscas infectivas en el centro de la localidad, se relaciona principalmente por la mayor concentración de estímulos odoríferos liberados por las personas que ahí habitan, y la intensidad del contacto vector-hombre, explica la posibilidad de infectarse y lograr su infectividad. Ya que en las comunidades existen personas (hombres, mujeres y niños) infectadas con *Onchocerca volvulus* que permanen la mayor parte del año habitando éstas áreas. Contrariamente a lo que ocurre en el área de plantación de café (área extradomiciliar), los jornaleros o personas que se dedican a la cosecha del café son inmigrantes procedentes principalmente de centro América y son contratadas estacionalmente; aquí las personas se encuentran dispersas y son más difícil de ser localizadas por las moscas (Ortega *et al.*, 1991).

Los resultados observados en relación a los diferentes tipos de captura de *S. ochraceum* (Tabla 6), corroboran las observaciones hechas por Ortega *et al.* (1984) en su estudio de preferencia alimenticia, en donde ésta especie fue mayormente atraída al humano que al caballo; a pesar de ser una captura única. En el presente trabajo se pensó que podría existir alguna diferencia genética en aquellas moscas que fueron capturadas en cebo humano y cebo animal, sin embargo no hubo ninguna evidencia de variación genética asociada al tipo de hospedero. La preferencia alimenticia a sido empleada para separar especies que se suponían una sola, un ejemplo de ello corresponde a *S. colvini*, que se parece a *S. downsi*. Una pequeña parte de la población de la llamada *S. downsi*, prefirieron picar al hombre, mientras que la mayoría de ésta especie se acercaron al caballo. Un detallado exámen taxonómico de los especímenes, reveló que aquellos que prefirieron picar al hombre eran *S. colvini* y los que se acercaron al caballo fueron *S. downsi* (Suzuki, 1983).

El número de simúlidos capturados para cada una de las localidades, fue variable. Los resultados demostraron que las localidades del ejido Morelos y Rosario Zacatonal, ubicadas a una altitud de 1,335 y 935 msnm respectivamente (Tabla 1), fueron las localidades con mayor número de moscas capturadas, no así para aquellas localidades ubicadas a una mayor o menor altitud, la abundancia de simúlidos fueron más reducidas. Estos resultados igualmente coinciden con las observaciones hechas por Ortega *et al.* (1989), en señalar que la mayor densidad de *S. ochraceum* se localiza en una franja ubicada entre 800 a 1,200 msnm. En base a esta última observación, se desconocía sí la altitud podría influir en la selección de individuos y ser expresada genéticamente, sin embargo, los resultados obtenidos en el presente trabajo demostraron que no existe alguna barrera que impida la migración y mantener el libre flujo genético en los diferentes niveles de altitud y evitar la presencia de subpoblaciones en el foco Soconusco.

El valor promedio de F_{st} observado para el presente trabajo fue de 0.0657, el cual es muy cercano a cero, indicando la presencia de una sola población. Así que el número de migrantes de *S. ochraceum* por generación (Nem) fue de 3.55 individuos, el cual puede considerarse como moderado.

Este valor ha resultado ser eficiente para mantener el flujo genético entre las poblaciones que se localizan en el foco Soconusco, el cual ha evitado el aislamiento genético de grupos poblacionales. Dalmat y Gibson (1952), reportaron que las moscas adultas pueden desplazarse hasta 15.5 km y en dos o tres días hasta 4.6 km, éstas distancias son suficientes como para traslaparse genéticamente con otros individuos y mantener estable la estructura genética de la especie dentro del foco, a pesar de las características geográficas de zona montañosa del área, ya que los sitios de muestreo se localizaron en un rango de 30 Km.

VIII. CONCLUSIONES

En base a los resultados observados en el presente trabajo, se puede concluir lo siguiente:

Mediante la técnica de isoenzimas, no se detectaron diferencias genéticas entre la población de *Simulium ochraceum* capturadas en cebo humano peridomiciliar (centro de la localidad) y cebo humano extradomiciliar (plantaciones de café), localizadas en el foco Soconusco. Igualmente, no se encontró diferencias genéticas entre los simúlidos capturados por cebo humano y cebo animal.

En forma general, se puede concluir que existe libre flujo genético entre la población de *S. ochraceum*, no existiendo barreras geográficas (altitud), biológicas, de flora y fauna, que impidan la migración y el entrecruzamiento de los individuos.

IX. LITERATURA CITADA

- Agatsuma, T.** 1987. Genetic differentiation among natural population of the vector of onchocerciasis, *Simulium ochraceum*, in Guatemala. *Insect Science and its Applications*. 8:465-469.
- Bedo, D. G.** 1976. Polytene chromosomes in pupal and adult blackflies (Diptera:Simuliidae). *Chromosoma (Berlin)*. 57:387-396.
- Brewer, G. J. and C. F. Sing.** 1970. An introduction to isozyme techniques. Academy Press. 1-15.
- Charalambous, M., P.D. Ready, A. J. Shelley, M. Arzube and C. A. Lowry.** 1993. Cytological and isoenzyme analysis of the Bucay and Quevedocytotypes of the onchocerciasis vector *Simulium exiguum* (Diptera:Simuliidae) en Ecuador. 88(1):39-48.
- Cooper, T. G.** 1977. Electrophoresis. In: *The tool of Biochemistry* (T. G. Cooper, ed.). John Wiley & Sons, New York. 194-211.
- Dalmat, H. T. and C. L. Gibson.** 1952. A study of flight ranges and longevity of black flies (Diptera:Simuliidae) infected with *Onchocerca volvulus*. *Ann. Entomol. Soc. Am.*45:605-612.
- Dalmat, H. T.** 1955. The blackflies (Diptera:Simuliidae) of Guatemala and their role as vectors of onchocerciasis. *Smithsonian Miscellaneous Collections*. 125:1-425
- Davis, J. B. and R. W. Crosskey.** 1991. *Simulium* vectores of onchocerciasis. In: World Health Organization (ed). *Vector control series Simulium*. Training and information guide. WHO/VBC. 115 pp.
- de Sousa, G. B., A. Jiménez, A. Blanco and C. N. Gardenal.** 1996. Gene flow in *Aedes albifasciatus* (Diptera:Culicidae) from Central Argentina. *J. Med. Entomol.* 33(6):891-900.
-

- Follet, P. and G. K. Roderick.** 1996. Genetic estimates of dispersal ability in the leucaena psyllid predator *Curinus coeruleus* (Coleoptera:Coccinellidae): implications for biological control. Bull. Entomol. Research. 86:355-361.
- García, B. A., J. M. Soares and A. Blanco.** 1995. Enzyme polymorphism among *Triatoma infestans* (Hemiptera:Reduviidae) Colonies. J. Med. Entomol. 32(2):126-133.
- Hirai, H.** 1985. Cytotaxonomy of *Simulium ochraceum* Walker (Diptera:Simuliidae), from Guatemala and Mexico. Jpn. J. Sanit. Zool. 36:163.
- Hirai, H., W. S. Procunier, J. O. Ochoa and K. Uemoto.** 1994. A cytogenetic analysis of the *Simulium ochraceum* species complex (Diptera: Simuliidae) in Central America.Canadian Journal of Genome. 37(1):36-53.
- Lanzaro, G., K. Ostrovska, M. V. Herrero, P. G. Lawyer and A. Warburg.** 1993. *Lutzomyia longipalpus* is a species complex: Genetic Divergence and interspecific hybrid sterility among three populations. Am. Soc. Trop. Med. Hyg. 48(6):839-847.
- Markert, C. L. and F. Moller,** 1959. Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic, and species specific patterns. Proceedings of the National Academy of Science, U.S.A., 45:753-763.
- May, B., L. S. Bauer, R. L. Vadas and J. Grannett.** 1977. Biochemical genetic variation in the Family Simuliidae: electroforetic identification of the human biter in the isomorphic *Simulium jenningsi* group. Ann. Entomol. Soc. Am. 70(5):637-640.
-

- Meredith, S. E. and H. Townson.** 1981. Enzymes for species identification in the *Simulium damnosum* complex from West Africa. Tropenmed. Parasit. 32:123-129.
- Millest, A. L.** 1992. Identification of members of the *Simulium ochraceum* species complex in the three onchocerciasis foci in Mexico. Medical and Veterinary Entomology. 6:23-28.
- Nei, M.** 1972. Genetic distance between populations. Am. Nat. 106:283-292.
- Ochoa, J. O.** 1982. Studies on the anthropophilic black species in Guatemala, with special reference to the transmission of onchocerciasis in the southeastern endemic area. Jap. J. Sanit. Zool. 33(2):129-138.
- Ortega, M. and M. Oliver.** 1984. Entomología de la oncocercosis en el foco Soconusco, Chiapas. I. Estudio sobre hábitos de la picadura de las tres especies de simúlidos considerados transmisores de la oncocercosis en el foco sur de Chiapas. Folia Entomológica Mexicana. 62:125-140.
- Ortega, M., C. Alvarado y A. Ramírez.** 1989. Entomología de la oncocercosis en el Soconusco, Chiapas. V. Especies de simúlidos como transmisores de la oncocercosis en comunidades de diferente altitud. Revista Mexicana de Parasitología. 2(1):3-11.
- Ortega, M., A. Ramírez, M. Oliver, E. Villafuerte y A. Guirre.** 1986. Entomología de la oncocercosis en el Soconusco. 111. Espacios de actividad humana y densidades de picadura de las tres especies de simúlidos considerados transmisores de oncocercosis en el foco sur de Chiapas. Folia Entomológica Mexicana. 70:107-122.
- Ortega, M., A. Ramírez y R. Miranda.** 1991. Entomología de la oncocercosis en el Soconusco, Chiapas, México. VII. Variaciones cuantitativas de transmisión de *Onchocerca volvulus* (Nematoda:Filaroidea) según espacio de actividad humana. Bol. Chil. Parasitol. 46:39-47

- Petersen, J. L.** 1981. *Simulium metallicum*: un complejo de especies? Pp. 64-66 in ProcGuatemala-Japan Joint Conference on Ochocerciasis Research and Control. Japan International Cooperation Agency.
- _____. 1982. Population genetics of some new world Simuliidae. In W. W. M. Steiner, W. J. Tabachnick, K. S. Rai, and S. Narang, Eds., Recent developments in the genetics of insect disease vectors. Stipes Publishing Co., Illinois.
- Procunier, W. S. & R. J. Post.** (1987). Development of a method for the cytological identification of man-biting sibling species within the *Simulium damnosum* complex. *Tropical Medicine and Parasitology*. 37: 49-53.
- Rogers, J. S.** 1972. Measures of genetic similarity and genetic distance. Univ. Texas Publ. 7213:145-153.
- Secretaria de Salud.** 1992. Plan de México para la prevención y control de la oncocercosis en los estados de Chiapas y Oaxaca 1993-1997. Inter-American Conference on Onchocerciasis.
- Shaw, C. R. and R. Prasad.** 1970. Starch gel electrophoresis of Enzymes- A compilation of recipes. *Biochemical Genetics*. 4:297-320.
- Slatkin, M.** 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*. 236:787-792.
- Steiner, W. W. M. and D. J. Joslyn.** 1979. Electrophoretic techniques for the genetic study of mosquitoes. *Mosquito News*. 39(1):35-54.
- Suzuki, T.** 1983. Una guía para la enfermedad de Robles (oncocercosis) en Guatemala con especial referencia al control del vector. Manual para el control de la enfermedad de Robles en Guatemala. 230 pp.

- Swofford, D. and R. B. Selander.** 1981. Biosys-1: a fortran program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. *Journal of Heredity*. 72: 281-283.
- Uemoto, K.** 1984. Morphological, cytotaxonomic and isozyme analysis of the species complex of blackflies. *Jpn. J. Sanit. Zool.* 35:162.
- Wright, S.** 1931. Evolution in Mendelian populations. *Genetics*. 16:97-159.
- Wright, S.** 1951. The genetical structure of population. *Ann. Eugen.* 15:323-354.
- World Health Organization.** 1991. Executive summary. First InterAmerican Conference Onchocerciasis. HPT/IACO/GUT-MEX/91,38 p.

X. APENDICE

Tabla 1. Localidades muestreadas en el foco Soconusco, indicando sus altitudes sobre el nivel del mar (msnm), localizaciones geográficas y las fechas en que se realizaron las capturas de *Simulium ochraceum*.

<u>Localidad</u>	<u>Altitud (msnm)</u>	<u>Localización geográfica (Latitud/Longitud)</u>	<u>Fecha de captura</u>
San Antonio Miramar, Escuintla., Chis.	1,860	15°22'76"N/92°27'49"W	I-25-95
José María Morelos y Pavón, Huixtla., Chis.	1,335	15°14'00"N/92°28'00"W	I-11-95
Rincón del Bosque, Motozintla., Chis.	995	15°20'62"N/92°26'66"W	I- 24-95
Brasil, Huixtla., Chis.	980	15°14'00"N/92°30'00"W	I-10-95
Rosario Zacatonal, Acacoyagua., Chis.	935	15°27'26"N/92°37'82"W	I-18-95
Las Golondrinas, Acacoyagua., Chis.	845	15°26'00"N/92°39'51"W	I-17-95

Tabla 2. Concentración de los reactivos empleados para la preparación de los buffers de gel y buffers de electrodo, así como el voltaje utilizado para cada uno de ellos.

Tipo de buffer	Buffer de gel	Buffer de electrodo	Volts
CA-8	0.074M Tris, 0.009M ácido cítrico, pH = 8.45	1.37M Tris, 0.314M ácido cítrico pH =8.1*	70
CA-7	0.009M Tris, 0.03M ácido cítrico, pH = 7	0.135M Tris, 0.04M ácido cítrico, pH = 7.0	95
TBE	1X Tris/ácido bórico/buffer EDTA	1X Tris /ácido bórico/buffer EDTA	70
C	0.002M ácido cítrico, pH = 6.0	0.04M ácido cítrico, pH = 6.1	95

Nota: Para la modificación del pH para los dos primeros buffers de gel y buffers de electrodo (CA-8 y CA-7), se usó ácido clorhídrico, mientras que para el buffer C, se empleó N-(3-amino-propil) morfolina y para el buffer TBE se realizó una dilución de 10X a 1X (se utilizó agua destilada para la dilución), sin modificación del pH.

* Para correr los geles, el buffer de electrodo CA-8, se usó una dilución 1:3 para el cátodo y 1:4 para el ánodo, mientras que en los otros buffers no se realizó ninguna dilución.

Table 3. Nomenclatura, Abreviatura y tipos de buffers empleados para los 30 loci ensayados en *S. ochraceum*.

Enzima	Nomenclatura E.C. *	Abreviatura	Buffer
Aconitasa-1	4.2.1.3	ACON-1	CA-7
Aconitasa-2	4.2.1.3	ACON-2	CA-7
Aconitasa-3	4.2.1.3	ACON-3	CA-7
Aldehido deshidrogenasa-1	1.2.1.5	ALDH-1	C
Aldehido deshidrogenasa -2	1.2.1.5	ALDH-2	C
Adenosina deaminasa-1	3.5.4.4	ADA-1	C
Adenosina deaminasa-2	3.5.4.4	ADA-2	C
Adenilato kinasa-1	2.7.4.3	ADK-1	C
Adenilato kinasa-2	2.7.4.3	ADK-2	C
Aldehido oxidasa-1	1.2.3.1	Ao-1	CA-8
Aldehido oxidasa-2	1.2.3.1	Ao-2	CA-8
Diaforasa	1.6.2.2	DIA	TBE
a-glicerofosfato deshidrogenasa	1.1.1.8	a-GPD	CA-8
Glutamato oxaloacetato transaminasa-1	2.6.1.1	GOT-1	CA-8 CA-7
Glutamato oxaloacetato transaminasa-2	2.6.1.1	GOT-2	CA-7
Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa	1.2.1.12	G3PDH	CA-7
Hexokinasa-1	2.7.1.1	HK-1	TBE
Hexokinasa-2	2.7.1.1	HK-2	TBE
Isocitrato deshidrogenasa-1	1.1.1.42	IDH-1	C
Isocitrato deshidrogenasa-2	1.1.1.42	IDH-2	C
Isocitrato deshidrogenasa-3	1.1.1.42	IDH-3	C
Isocitrato dehidrogenasa-4	1.1.1.42	IDH-4	C
Lactato deshidrogenasa	1.1.1.27	LDH	CA-7
Acido málico deshidrogenasa-1	1.1.1.37	MDH-1	C
Acido málico deshidrogenasa-3	1.1.1.37	MDH-3	C
Enzima málica-1	1.1.1.40	ME-1	C
Enzima málica-2	1.1.1.40	ME-2	C
Manosa-6-fosfato isomerasa	5.3.1.8	MPI	TBE
Trehalasa	3.2.1.28	TRE	TBE
Triosa-fosfato isomerasa	5.3.1.1	TPI	CA-7

*E.C. = Comisión de nomenclatura enzimática

Tabla 4. Reactivos empleados para la tinción histoquímica de las enzimas.

Enzima	Buffer de tinción T-HCl 0.1M *pH=	Substrato	Ión	Cofactor	Enzima
TRE	7.5	200 mg Trealasa 100 mg ATP	2.5 ml MgCl	1 ml NADP	80 u Hexoquinasa 20 u G6PDH
MPI	7.5	25 mg Manosa 6 fosfato	2.5 ml MgCl	1 ml NADP	20 u PGI 10 u G6PDH
GOT = AAT	8.0	50 mg Acido cistein sulfínico 50 mg α -Acido ketoglutarico		2 ml NAD	60 u Glutamato deshidrogenasa
HK	7.5	50 mg Glucosa 40 mg ATP	2.5 ml MgCl	1 ml NADP	20 u G6PDH
IDH	7.5	50 mg Acido isocitrico	2.5 ml MgCl	1 ml NADP	
LDH	8.0	300 mg Li Lactato		2 ml NAD	
MDH	8.0	1 ml Malato (pH = 7)		2 ml NAD	
ME	7.5	1 ml Malato	2.5 ml MgCl	1 ml NADP	
G3PDH	7.5	80 mg Na Fructuosa 1,6 difosfato	100 mg Arsenato	2 ml NADP	30 u Aldosa
ACON	8.0	60 mg cis ácido aconifico	0.5 ml MgCl	1 ml NADP	20 u IDH
ADK	8.0	200 mg Glucosa 40 mg ADP	5 ml MgCl	1 ml NADP	30 u G6PDH 60 u Hexokinasa
Ao	7.5	0.5 ml Benzaldehido			
ADA	8.0	250 mg Adenosin	15 mg Arsenato		25 u Nucleosido fosforilasa 25 u Xantina oxidasa
ALDH	8.0	2 ml Benzaldehido		2 ml NAD	
TPI	8.0	17 ml DHAP	15 mg Arsenato	1 ml NAD	
α GPD	8.0	10 mg L-Glicerol 1,3 fosfato		1 ml NAD	
DIA	8.6	NADPH	DCIP		

Nota: Se utilizó 1 ml de MTT y 0.5 ml de PMS para todas las enzimas, excepto para DIA.

* Para la preparación de los buffers de tinción, se empleó el reactivo Tris y ácido clorhídrico para modificar el pH.

Tabla 6. Número de simúlidos capturados por localidad y tipo de captura, correspondientes al foco Soconusco.

Localidad	Cebo humano peridomiciliar	Cebo humano extradomiciliar	Cebo animal	Total
Sn A. Miramar	9	23	0	32
Morelos	234	105	9	348
R. Bosque	16	31	0	47
Brasil	48	25	4	77
R. Zacatonal	106	171	30	307
Las Golondrinas	89	74	16	179
Total	502	429	59	990

Tabla 7. Frecuencia alélica para los 30 loci ensayados por localidad en la población de *S. ochraceum* del foco Soconusco.

loci	1	2	3	4	5	6	Localidad
RE							1. San Antonio Miramar
(N)	69	76	41	64	35	29	2. J. Ma. Morelos
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	3. Rincón del Bosque
							4. Brasil
							5. Rosario Zacatonal
							6. Las Golondrinas
K-2							
(N)	30	44	20	37	17	10	
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.950	
B	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.050	
IK-1							
(N)	71	95	35	83	33	25	
A	0.965	0.984	0.971	0.994	0.985	0.920	
B	0.021	0.016	0.000	0.006	0.015	0.000	
C	0.014	0.000	0.029	0.000	0.000	0.080	
MPI							
(N)	13	18	2	7	5	5	
A	0.346	0.639	1.000	0.500	1.000	1.000	
B	0.192	0.139	0.000	0.000	0.000	0.000	
C	0.077	0.083	0.000	0.000	0.000	0.000	
D	0.115	0.000	0.000	0.214	0.000	0.000	
E	0.077	0.028	0.000	0.000	0.000	0.000	
F	0.000	0.111	0.000	0.000	0.000	0.000	
G	0.115	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
H	0.000	0.000	0.000	0.071	0.000	0.000	
I	0.077	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
J	0.000	0.000	0.000	0.071	0.000	0.000	
K	0.000	0.000	0.000	0.143	0.000	0.000	
DIA-1							
(N)	8	15	11	14	3	2	
A	0.875	0.733	0.864	0.714	0.333	1.000	
B	0.125	0.267	0.136	0.286	0.667	0.000	
ME-1							
(N)	79	96	45	80	35	28	
A	0.987	0.958	0.978	0.950	0.971	0.964	
B	0.013	0.010	0.022	0.031	0.029	0.036	
C	0.000	0.031	0.000	0.019	0.000	0.000	

Nota: (N)= Número de individuos procesados por localidad.

(Continuación Tabla 7. Frecuencia alélica para los 30 loci ensayados por localidad en la población de *S. ochraceum* del foco Soconusco.)

Loci	1	2	3	4	5	6	Localidad
ME-2							1. San Antonio Miramar
(N)	25	49	11	24	10	7	2. J. Ma. Morelos
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	3. Rincón del Bosque
MDH-3							4. Brasil
(N)	97	104	50	93	39	33	5. Rosario Zacatonal
A	0.995	1.000	0.990	0.984	0.974	0.985	6. Las Golondrinas
B	0.005	0.000	0.010	0.016	0.013	0.015	
C	0.000	0.000	0.000	0.000	0.013	0.000	
MDH-1							
(N)	100	115	48	88	35	31	
A	0.975	0.970	0.979	0.977	0.986	0.871	
B	0.025	0.026	0.010	0.023	0.014	0.081	
C	0.000	0.004	0.010	0.000	0.000	0.016	
D	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.032	
IDH-3							
(N)	66	57	28	56	26	15	
A	0.985	0.974	1.000	1.000	0.962	1.000	
B	0.015	0.026	0.000	0.000	0.038	0.000	
IDH-4							
(N)	53	68	28	61	26	25	
A	1.000	1.000	0.964	1.000	1.000	1.000	
B	0.000	0.000	0.036	0.000	0.000	0.000	
IDH-1							
(N)	69	76	27	62	28	19	
A	0.993	1.000	0.981	0.992	0.964	0.974	
B	0.007	0.000	0.000	0.008	0.036	0.026	
C	0.000	0.000	0.019	0.000	0.000	0.000	
IDH-2							
(N)	42	58	19	49	16	17	
A	0.976	0.983	0.974	1.000	1.000	1.000	
B	0.012	0.017	0.026	0.000	0.000	0.000	
C	0.012	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	

Nota: (N)= Número de individuos procesados por localidad.

(Continuación Tabla 7. Frecuencia alélica para los 30 loci ensayados por localidad en la población de *S. ochraceum* del foco Soconusco.)

Loci	1	2	3	4	5	6	Localidad
ALD-2							1. San Antonio Miramar
(N)	85	113	34	80	26	21	2. J. Ma. Morelos
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	3. Rincón del Bosque
							4. Brasil
ALD-1							5. Rosario Zacatonal
(N)	90	118	39	85	31	26	6. Las Golondrinas
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
ADK-2							
(N)	61	70	32	57	20	18	
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
ADK-1							
(N)	78	90	38	70	25	22	
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
ADA-2							
(N)	5	5	5	5	5	5	
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
ADA-1							
(N)	5	5	5	5	5	5	
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
GOT-1							
(N)	104	118	50	92	41	33	
A	0.995	0.983	0.970	0.978	1.000	1.000	
B	0.005	0.013	0.030	0.016	0.000	0.000	
C	0.000	0.004	0.000	0.005	0.000	0.000	
GOT-2							
(N)	66	68	29	57	21	13	
A	0.992	0.978	1.000	1.000	1.000	1.000	
B	0.008	0.022	0.000	0.000	0.000	0.000	

Nota: (N)= Número de individuos procesados por localidad.

(Continuación Tabla 7. Frecuencia alélica para los 30 loci ensayados por localidad en la población de *S. ochraceum* del foco Soconusco.)

Loci	1	2	3	4	5	6	Localidad
ACON-1							1. San Antonio Miramar
(N)	95	100	41	83	29	29	2. J. Ma. Morelos
A	0.268	0.250	0.268	0.355	0.276	0.293	3. Rincón del Bosque
B	0.658	0.670	0.598	0.554	0.586	0.500	4. Brasil
C	0.068	0.060	0.134	0.090	0.103	0.207	5. Rosario Zacatonal
D	0.005	0.010	0.000	0.000	0.034	0.000	6. Las Golondrinas
E	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	
ACON-2							
(N)	11	9	8	8	9	10	
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
ACON-3							
(N)	100	122	44	88	35	29	
A	1.000	0.996	1.000	1.000	0.929	1.000	
B	0.000	0.000	0.000	0.000	0.043	0.000	
C	0.000	0.004	0.000	0.000	0.029	0.000	
G3PDH							
(N)	48	69	27	58	26	19	
A	0.979	0.964	0.981	1.000	1.000	1.000	
B	0.010	0.036	0.019	0.000	0.000	0.000	
C	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
LDH							
(N)	88	94	39	76	30	26	
A	0.977	0.926	0.859	0.974	0.900	0.981	
B	0.023	0.048	0.103	0.020	0.100	0.019	
C	0.000	0.016	0.038	0.007	0.000	0.000	
D	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	
TPI							
(N)	92	107	44	85	36	28	
A	0.995	0.991	0.989	1.000	0.986	0.982	
B	0.000	0.009	0.011	0.000	0.014	0.018	
C	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	

Nota: (N)= Número de individuos procesados por localidad.

(Continuación Tabla 7. Frecuencia alélica para los 30 loci ensayados por localidad en la población de *S. ochraceum* del foco Soconusco.)

Loci	1	2	3	4	5	6	Localidad
AO-2							1. San Antonio Miramar
(N)	65	84	34	65	30	21	2. J. Ma. Morelos
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	3. Rincón del Bosque
B	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	4. Brasil
							5. Rosario Zacatonal
							6. Las Golondrinas
AO-1							
(N)	65	89	34	65	32	23	
A	1.000	0.989	0.971	1.000	1.000	1.000	
B	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	
C	0.000	0.000	0.029	0.000	0.000	0.000	
a-GPD							
(N)	95	108	48	87	41	33	
A	0.995	1.000	0.990	1.000	0.988	0.985	
B	0.005	0.000	0.000	0.000	0.012	0.015	
C	0.000	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	

Nota: (N)= Número de individuos procesados por localidad.

Table 8. Variabilidad genética en 30 loci ensayados de *S. ochraceum*, correspondientes a seis localidades del foco Soconusco.

Localidad	Promedio (X) de locus por muestra	Promedio (X) de alelos por locus	Porcentaje (%) de los loci polimórficos	Promedio de Heterocigosis	
				Observada	Esperada (HdyWbg)*
1. San Antonio Miramar	20.2 (±1.7)	1.4 (±0.1)	13.3	0.034 (±0.015)	0.046 (±0.022)
2. Morclos	62.5 (±5.8)	1.9 (±0.2)	10.0	0.034 (±0.017)	0.064 (±0.032)
3. Rincón del Bosque	25.0 (±2.1)	1.5 (±0.1)	13.3	0.033 (±0.019)	0.060 (±0.026)
4. Brasil	30.5 (±2.6)	1.7 (±0.1)	10.0	0.037 (±0.018)	0.056 (±0.021)
5. Rosario Zacatonal	74.7 (±6.6)	1.9 (±0.2)	13.3	0.030 (±0.014)	0.069 (±0.027)
6. Golondrinas	59.5 (±5.2)	1.6 (±0.2)	13.3	0.032 (±0.018)	0.067 (±0.032)

Nota: (Error estandard)

* Heterocigosis esperada de Hardy-Weinberg

Tabla 9. Índices de similitud (diagonal superior) y coeficientes de las distancias genéticas (diagonal inferior) entre las seis localidades del foco Soconusco.

Localidad	1	2	3	4	5	6
1.- San Antonio Miramar Escuintla, Chis.	*****	0.989	0.983	0.998	0.993	0.990
2.- José María Morelos y Pavón Huixtla, Chis.	0.009	*****	0.980	0.990	0.997	0.996
3.- Rincón del Bosque Motozintla, Chis.	0.015	0.017	*****	0.990	0.991	0.988
4.- Brasil, Huixtla, Chis.	0.001	0.008	0.008	*****	0.996	0.993
5.- Rosario Zacatonal Acacoyagua, Chis.	0.006	0.002	0.007	0.003	*****	0.997
6.- Las Golondrinas Acacoyagua, Chis.	0.008	0.002	0.008	0.006	0.001	*****

Tabla 10. A. Clave de las localidades por tipo de captura (ver tabla 10.B).

Localidad	Tipo de captura	Clave
San Antonio Miramar*	Cebo humano peridomiciliar	1
San Antonio Miramar	Cebo humano extradomiciliar	2
Morelos	Cebo humano peridomiciliar	3
Morelos	Cebo humano extradomiciliar	4
Morelos	Cebo animal	5
Rincón del Bosque*	Cebo humano peridomiciliar	6
Rincón del Bosque	Cebo humano extradomiciliar	7
Brasil	Cebo humano peridomiciliar	8
Brasil	Cebo humano extradomiciliar	9
Brasil	Cebo animal	10
Rosario Zacatonal	Cebo humano peridomiciliar	11
Rosario Zacatonal	Cebo humano extradomiciliar	12
Rosario Zacatonal	Cebo animal	13
Las Golondrinas	Cebo humano peridomiciliar	14
Las Golondrinas	Cebo humano extradomiciliar	15
Las Golondrinas	Cebo animal	16

*No se colectaron *Simulium ochraceum* en cebo animal.

Tabla 10. B. Frecuencia alélica para los 18 loci ensayados en los 16 tipos de capturas realizadas por localidad, en la población de *S. ochraceum* del foco Soconusco.

loci	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
HK-1																
(N)	3	22	26	37	8	8	25	16	15	4	41	30	24	34	39	10
A	1.000	0.909	1.000	0.932	1.000	1.000	0.980	1.000	0.933	1.000	0.988	0.967	1.000	1.000	0.987	1.000
B	0.000	0.000	0.000	0.041	0.000	0.000	0.020	0.000	0.000	0.000	0.012	0.033	0.000	0.000	0.013	0.000
C	0.000	0.091	0.000	0.027	0.000	0.000	0.000	0.000	0.067	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
ME-1																
(N)	4	22	31	39	9	10	25	21	20	4	42	30	24	34	35	11
A	1.000	0.955	0.984	1.000	0.944	0.900	1.000	0.952	1.000	1.000	0.905	1.000	1.000	0.941	0.971	0.909
B	0.000	0.045	0.016	0.000	0.056	0.100	0.000	0.048	0.000	0.000	0.024	0.000	0.000	0.044	0.000	0.091
C	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.071	0.000	0.000	0.015	0.029	0.000
MDH-2																
(N)	9	22	40	48	9	15	24	26	20	4	47	31	26	39	43	11
A	1.000	0.977	0.988	1.000	1.000	1.000	0.958	1.000	0.975	1.000	1.000	1.000	1.000	0.962	1.000	1.000
B	0.000	0.023	0.013	0.000	0.000	0.000	0.021	0.000	0.025	0.000	0.000	0.000	0.000	0.038	0.000	0.000
C	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.021	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
MDH-1																
(N)	9	20	45	46	9	15	20	24	20	4	49	35	31	37	40	11
A	0.722	0.950	0.978	0.978	0.994	1.000	0.975	0.979	0.975	1.000	0.949	1.000	0.968	0.986	0.962	1.000
B	0.111	0.050	0.022	0.022	0.056	0.000	0.025	0.021	0.000	0.000	0.041	0.000	0.032	0.014	0.038	0.000
C	0.056	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
D	0.111	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
IDH-4																
(N)	5	18	18	29	6	8	18	11	16	1	32	29	7	24	30	7
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.909	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
B	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.091	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
ALD-2																
(N)	4	15	40	36	9	11	15	17	14	3	52	30	31	34	35	11
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
ALD-1																
(N)	9	15	45	36	9	16	15	22	14	3	57	30	31	39	35	11
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
ADK-2																
(N)	2	14	29	24	8	5	15	16	12	4	38	11	21	32	14	11
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
ADK-1																
(N)	3	17	33	37	8	8	17	19	15	4	43	22	25	33	26	11
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
GOT-1																
(N)	9	22	45	50	9	16	25	26	20	4	52	37	29	38	43	11
A	1.000	1.000	0.989	1.000	1.000	1.000	1.000	0.962	0.975	1.000	0.990	0.973	0.983	0.961	0.988	1.000
B	0.000	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.038	0.025	0.000	0.010	0.014	0.017	0.039	0.000	0.000
C	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.014	0.000	0.000	0.012	0.000

Nota: (N)= Número de individuos procesados por tipo de captura.

(Continuación Tabla 10. B. Frecuencia alélica para los 18 loci ensayados en los 16 tipos de capturas realizadas por localidad, en la población de *S. ochraceum* del foco Soconusco).

loci	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
GOT-2																
(N)	1	10	27	32	7	9	12	18	7	4	35	13	20	28	18	11
A	1.000	1.000	0.981	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.971	0.962	1.000	1.000	1.000	1.000
B	0.000	0.000	0.019	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.029	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000
ACO-3																
(N)	5	22	38	53	9	11	24	21	19	4	51	40	31	34	43	11
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.909	0.938	1.000	1.000	1.000	1.000	0.988	1.000	1.000	1.000	1.000
B	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.045	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
C	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.045	0.021	0.000	0.000	0.000	0.000	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000
LDH																
(N)	7	17	42	39	7	15	15	24	11	4	46	22	26	32	33	11
A	0.929	1.000	0.976	1.000	0.857	0.867	0.933	0.792	0.955	1.000	0.924	0.841	1.000	0.953	0.985	1.000
B	0.071	0.000	0.024	0.000	0.143	0.133	0.067	0.146	0.045	0.000	0.065	0.068	0.000	0.031	0.015	0.000
C	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.063	0.000	0.000	0.011	0.045	0.000	0.016	0.000	0.000
D	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.045	0.000	0.000	0.000	0.000
TPI																
(N)	9	17	40	43	9	16	20	25	15	4	51	30	26	39	35	11
A	1.000	0.971	0.988	1.000	1.000	1.000	0.975	0.980	1.000	1.000	0.990	0.983	1.000	1.000	1.000	1.000
B	0.000	0.029	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025	0.020	0.000	0.000	0.010	0.017	0.000	0.000	0.000	0.000
C	0.000	0.000	0.013	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
AO-2																
(N)	4	15	30	26	9	9	21	16	14	4	33	26	25	29	25	11
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
B	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
AO-1																
(N)	4	17	30	26	9	10	22	16	14	4	33	30	26	29	25	11
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.750	1.000	1.000	0.962	1.000	1.000	1.000
B	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.038	0.000	0.000	0.000
C	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.250	0.000	0.000	0	0.000	0.000	0.000
a-GPD																
(N)	9	22	40	46	9	16	25	24	20	4	48	34	26	38	39	10
A	1.000	0.977	0.988	1.000	1.000	1.000	0.980	0.979	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
B	0.000	0.023	0.013	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
C	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.021	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
ACO-1																
(N)	5	22	37	49	9	5	24	21	17	3	40	38	22	32	41	10
A	0.400	0.295	0.230	0.265	0.444	0.200	0.292	0.286	0.235	0.333	0.237	0.289	0.205	0.250	0.390	0.550
B	0.600	0.432	0.662	0.673	0.556	0.800	0.542	0.548	0.647	0.667	0.700	0.566	0.795	0.625	0.524	0.450
C	0.000	0.273	0.095	0.061	0.000	0.000	0.125	0.167	0.118	0.000	0.038	0.118	0.000	0.125	0.085	0.000
D	0.000	0.000	0.014	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.026	0.000	0.000	0.000	0.000
E	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Nota: (N)= Número de individuos procesados por tipo de captura.

Tabla 11. Matriz del promedio del Coeficiente de las distancias genéticas (Nei,1972), en base a los tipos de captura de la población de *Simulium ochraceum*.

Tipo de captura	No.de grupos.	Cebo humano peridomiciliar	Cebo humano extradomiciliar	Cebo animal
Cebo humano: peridomiciliar	6	0.003 (0.000- 0.007)*		
extradomiciliar	6	0.003 (0.000- 0.009)	0.002 (0.000- 0.003)	
Cebo animal	4	0.005 (0.001- 0.012)	0.005 (0.001- 0.012)	0.007 (0.002-0.010)

* (Rango).

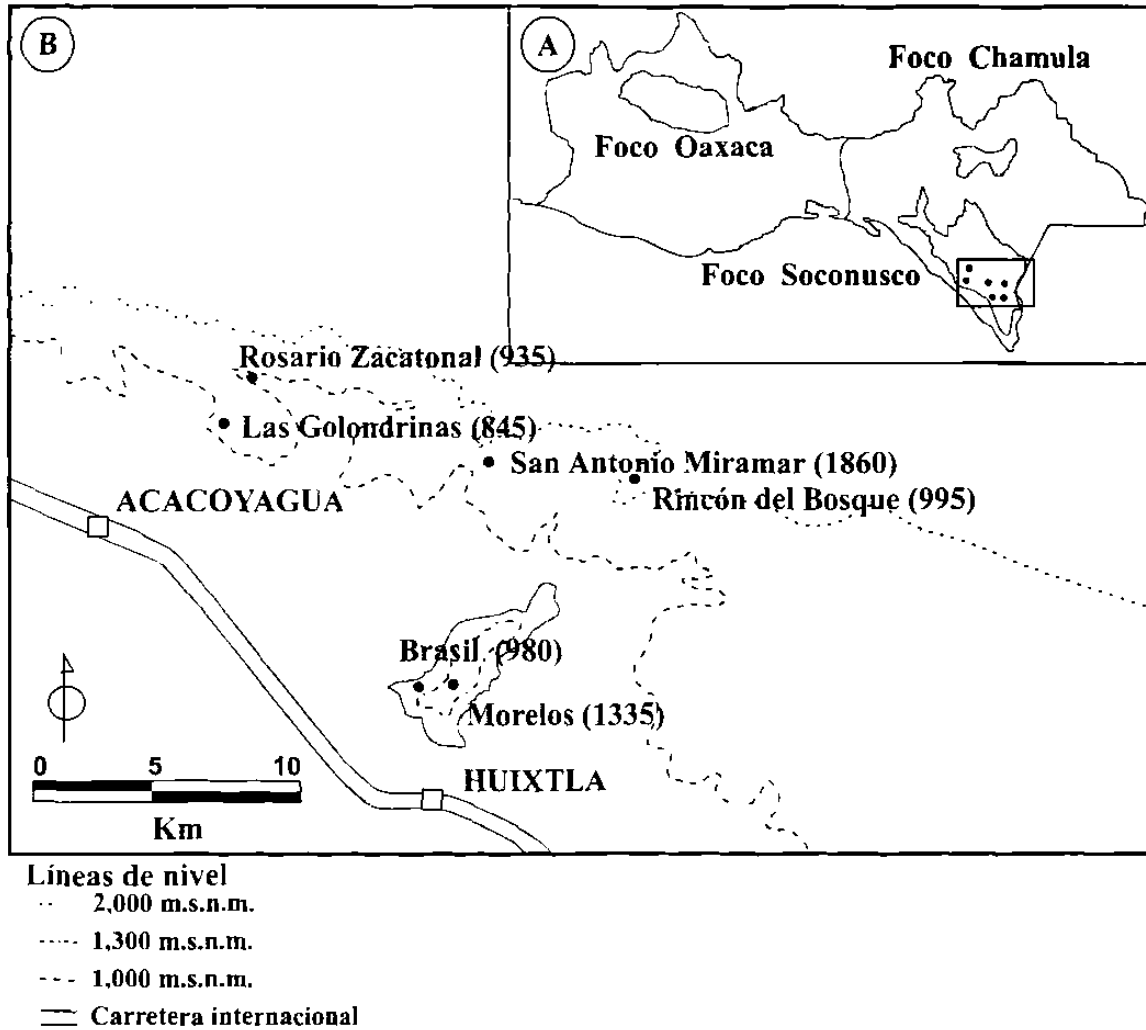


Figura 1. A. Representación esquemática de los tres focos oncocercosos que se localizan en el sur de México.

B. Ubicación de las seis localidades (●) muestreadas en el foco Soconusco, además de indicar su altitud (msnm).

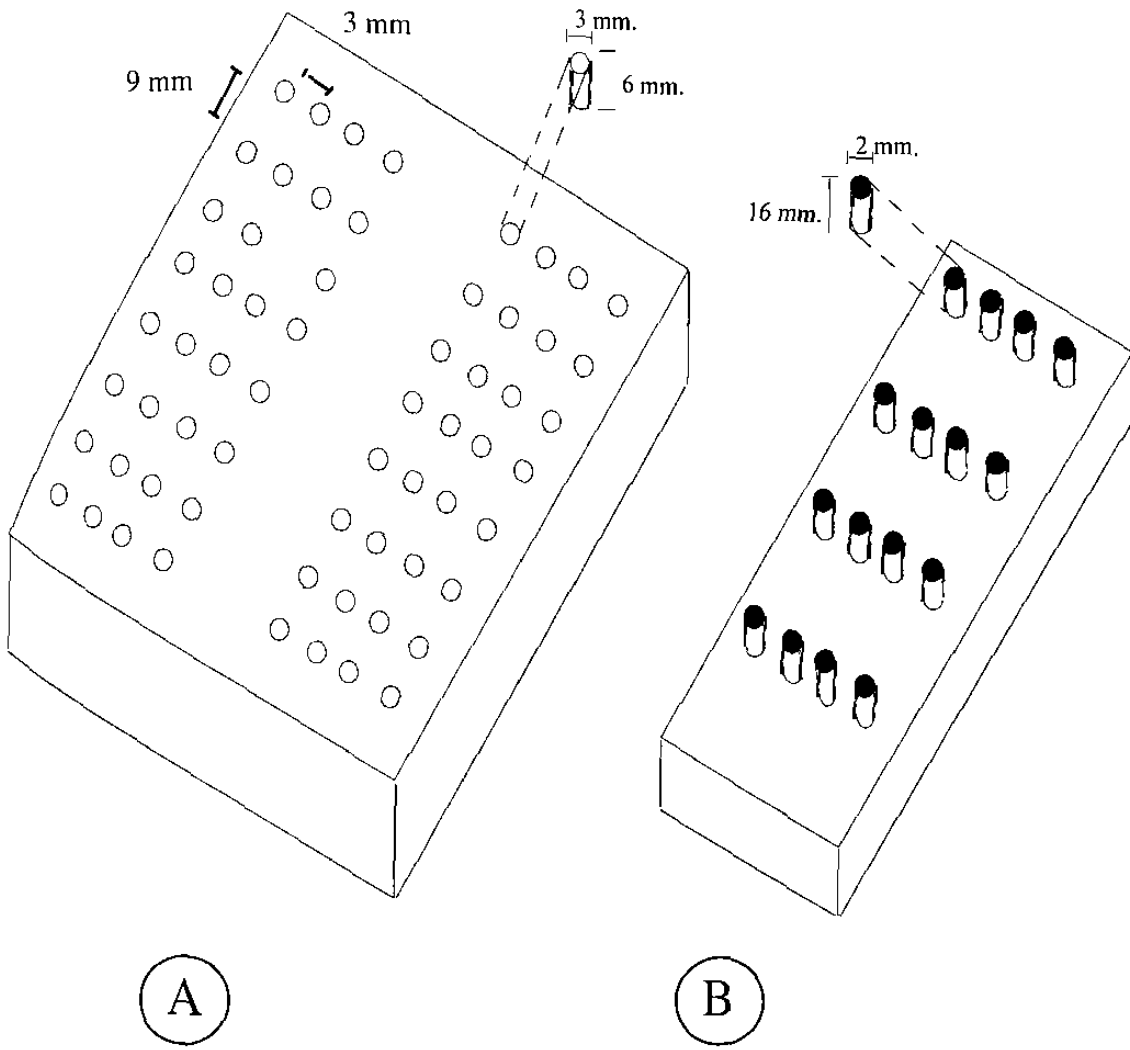


Figura 2. A. Placa de acrílico utilizada para el macerado de las muestras. B. Macerador en peine.

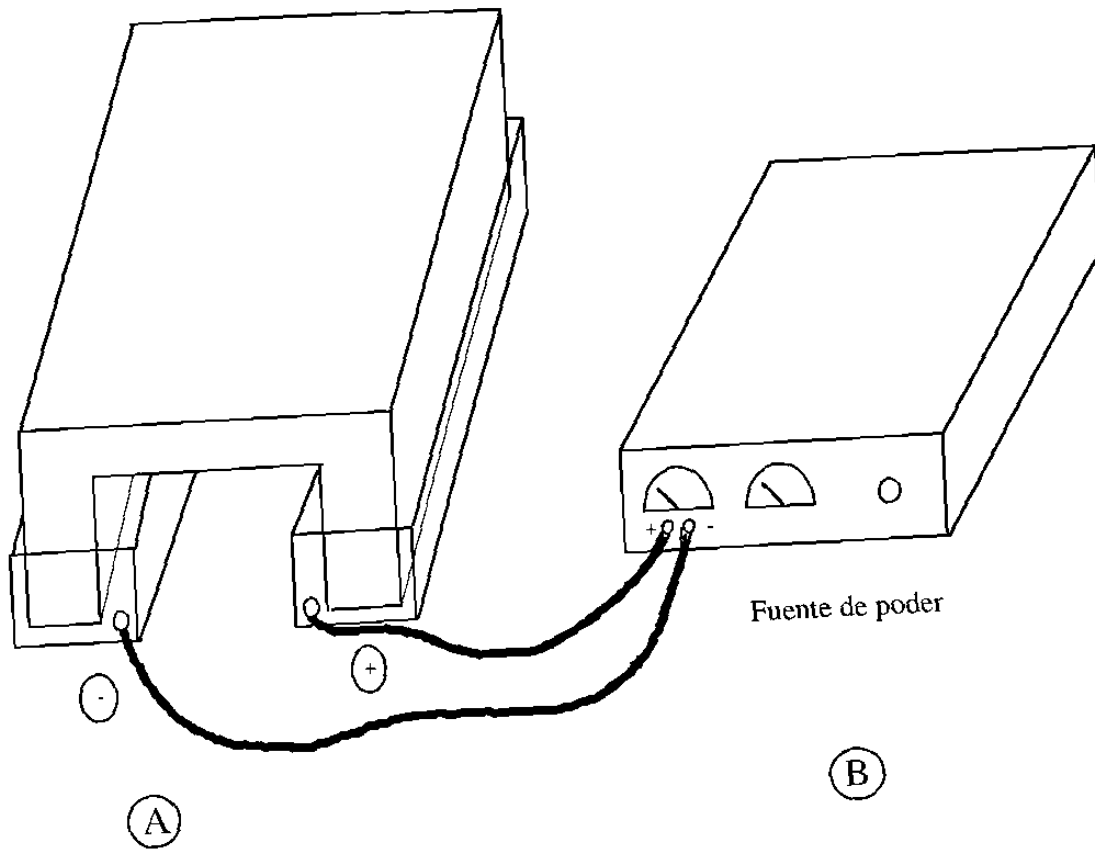


Figura 3. Forma en que el gel fue expuesto a una corriente eléctrica. A. Molde del gel en forma de U invertida. B. Fuente de poder.

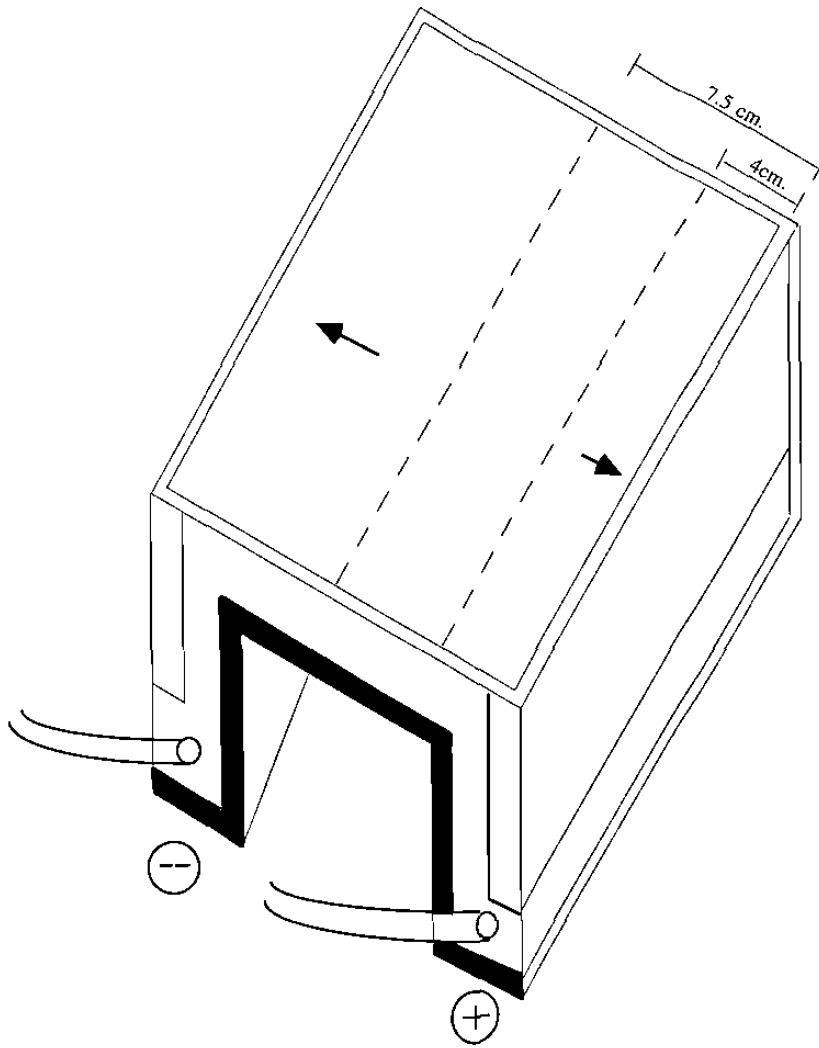
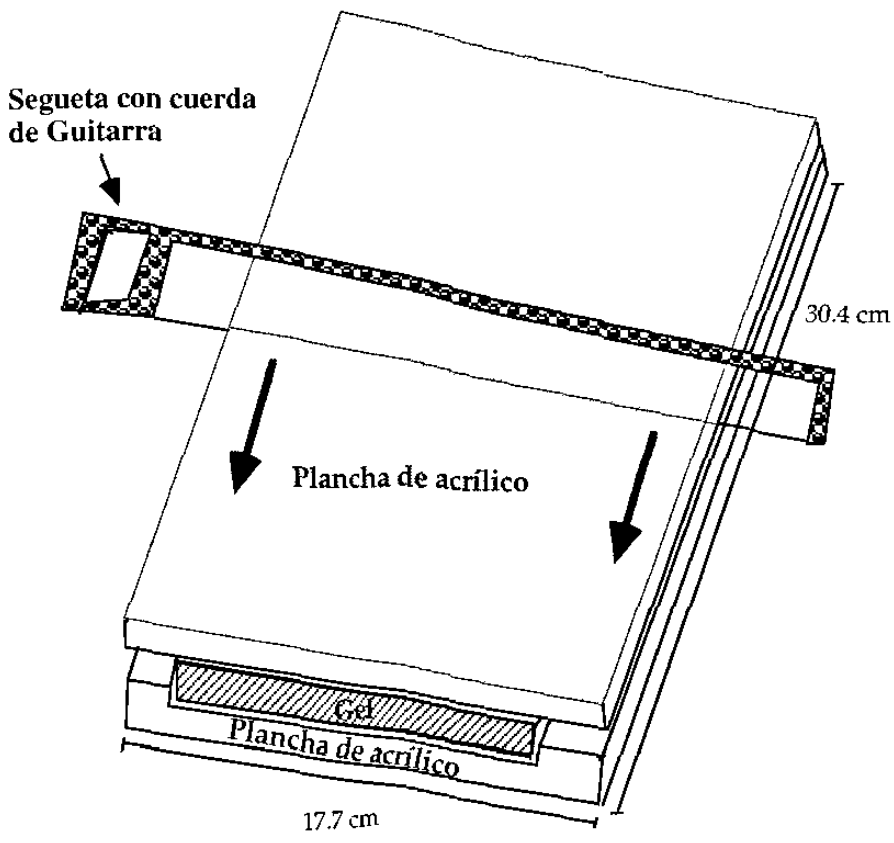
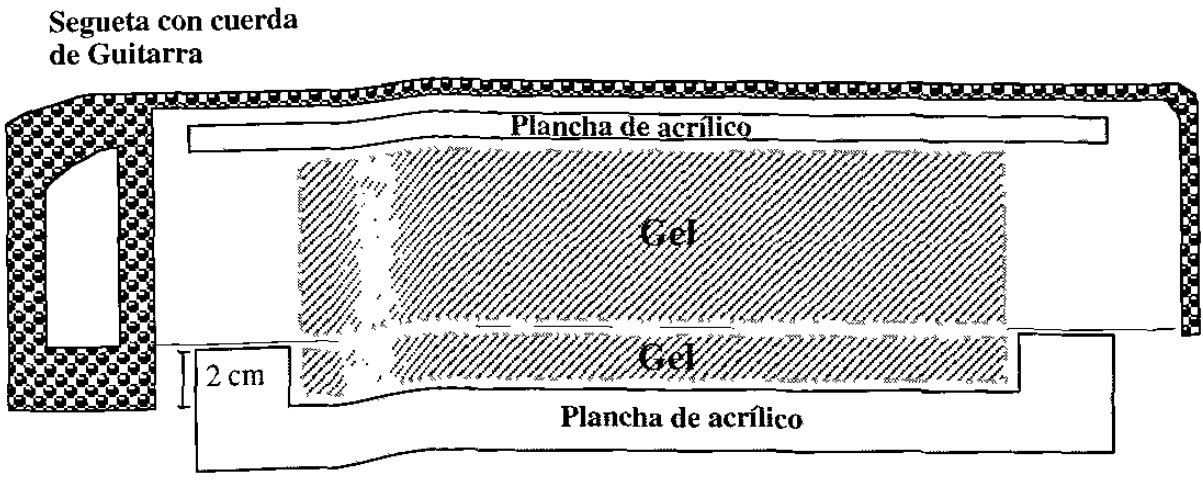


Figura 4. Molde del gel en forma de U invertida, ilustrando los cortes hechos en gel que dependieron del tipo de buffer empleado. Para los buffers CA-8 y TBE se utilizó un corte a los 4 cm del borde cátodico y para los buffers CA-7 y C el corte se realizó a los 7.5 cm del borde.



A



B

Figura 5. Corte del gel en hojas de 2 cm de espesor. A. Vista dorsal. B. Vista lateral.

Figura 6. Dendrograma de los Coeficientes de las distancias genéticas de *S. ochraceum*, en seis localidades del foco Soconusco.

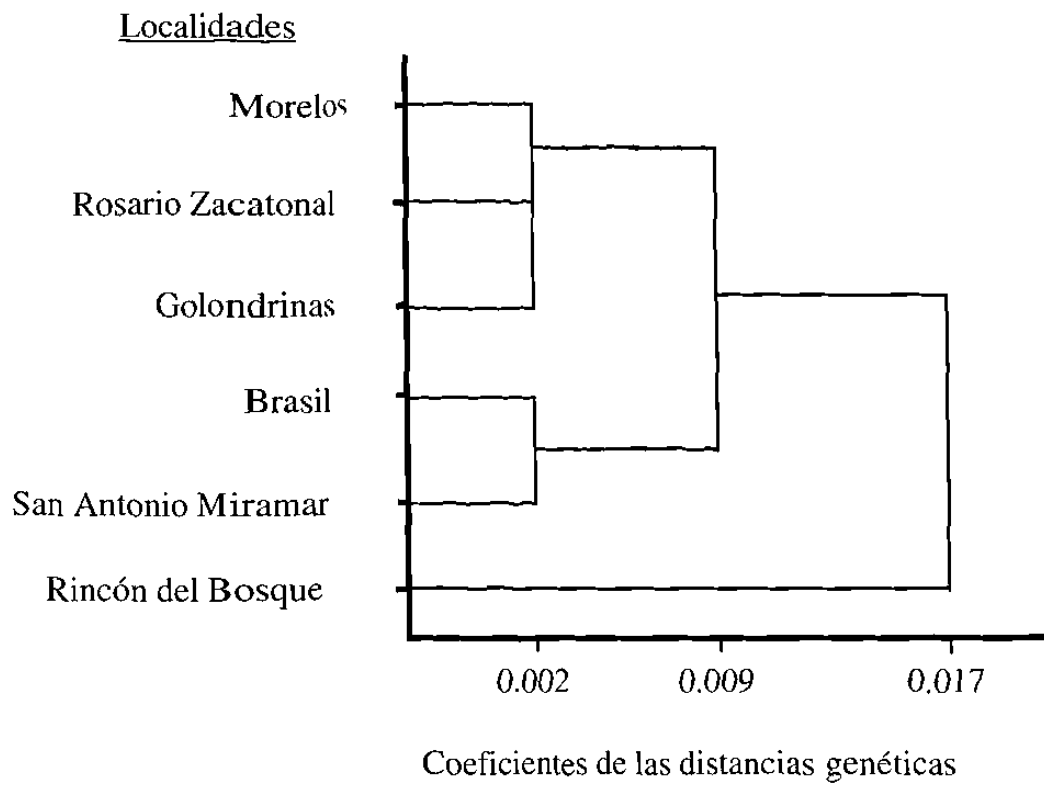


Figura 7. Dendrograma del Coeficiente de las distancias genéticas de *S. ochraceum*, por tipos de capturas de las localidades del foco Soconusco.

