

CARACTERIZAÇÃO CITOTAXONÔMICA E MORFOLÓGICA DA LARVA DE *Simulium perplexum* MAIA-HERZOG, LUNA DIAS e COUCH, 1989 (DIPTERA: SIMULIIDAE)

Nayra Gomes da SILVA¹; Neusa HAMADA²

¹Bolsista INPA/CNPq; ²Orientador INPA/CPEN

1. Introdução

A região Neotropical possui um grande número de espécies de Simuliidae (Diptera: Nematocera), de um total de 2072 espécies nomeadas, 11% ocorrem nessa região (Adler e Crosskey, 2009). Entretanto, a classificação taxonômica nessa região é controversa, sendo a validade de alguns subgêneros, como por exemplo, *Simulium* (*Thyrsopelma*) Enderlein, questionada por alguns autores (e.g. Adler e Crosskey, 2009, Coscarón e Coscarón-Arias, 2007). Estudos morfológicos e taxonômicos sobre simulídeos no Brasil surgiram a partir dos trabalhos de Lutz (1909) e tinham como objetivos auxiliar e facilitar o conhecimento sobre estes dípteros de importância médica-veterinária, pois algumas espécies podem ser vetores de agentes etiológicos que provocam doenças no homem e outros animais. Na família Simuliidae é comum a ocorrência de espécies crípticas, as quais se assemelham em sua morfologia, mas são reprodutivamente isoladas e, a citotaxonomia tem auxiliado na resolução de diversos casos dessa natureza, constituindo uma ferramenta valiosa na identificação e classificação dos simulídeos a nível específico, e para estudos de sistemática (Rothfels, 1979; Coscarón-Arias, 1998; Adler *et al.*, 2004). Espécies dessa família são favorecidas para esses estudos pelo tamanho e qualidade dos cromossomos politênicos em glândulas salivares de larvas, onde diferenças no padrão de bandas cromossômicas e posição de marcadores permitem o reconhecimento de espécies crípticas (Rothfels, 1979; Muñoz de Hoyos, 1990). A posição subgenérica de *Simulium perplexum* Shelley, Maia-Herzog, Luna Dias e Couch ainda é debatida, sendo esta incluída no subgênero *S. (Trichodagmia)* Enderlein por Adler e Crosskey (2009) e no subgênero *S. (Thyrsopelma)* por Coscarón e Coscarón-Arias (2007). Shelley *et al.* (1989) descreveram os adultos e a pupa desta espécie, a partir de uma série de espécimes coletados na Guiana e identificados como *Simulium guianense* Wise, o principal vetor do agente etiológico que causa a oncocercose, no foco amazônico do Brasil e da Venezuela (Grillet *et al.*, 1995; Charalambous *et al.*, 1996; Shelley, 1997). Dessa forma, a caracterização morfológica da larva e posterior comparação dos cromossomos dessa espécie com outras espécies próximas, podem auxiliar a clarificar a relação entre elas.

2. Material e métodos

Larvas de *S. perplexum* foram coletadas no igarapé Tambor nos meses de setembro e outubro de 2007, no município de Rurópolis, estado do Pará. As larvas foram coletadas manualmente do substrato com auxílio de pinças de ponta fina, fixados em solução Carnoy (3:1) e álcool absoluto, etiquetados e estocados a 4°C. Pupas contendo adultos farados também foram coletadas e inseridas em tubos plásticos com papel de filtro úmido, para a obtenção de adultos recém-emergidos, que foram utilizados para realizar a identificação específica. No laboratório, *S. perplexum* foi identificada por meio de caracteres morfológicos dos adultos, incluindo a genitália do macho e da fêmea, utilizando-se a descrição original da espécie (Shelley *et al.*, 1989). Os cromossomos politênicos das glândulas salivares de larvas de último estágio, foram examinados utilizando técnicas citogenéticas estabelecidas por Charalambous *et al.* (1996). O sexo da larva é determinado *in situ* pelo formato dos botões imaginiais (alongado para fêmeas e oval para machos) antes da retirada da glândula salivar. As carcaças das larvas utilizadas no estudo citotaxonômico foram armazenadas em álcool 80% e, posteriormente, montadas entre lâmina e lamínula, utilizando Euparal® como meio de montagem, para a realização da caracterização morfológica (Hamada *et al.*, 2003).

3. Resultados e discussão

Cromossomos- De 43 larvas coradas e analisadas, 25 foram analisadas completamente sendo 16 fêmeas e nove machos. O restante apresentou núcleos pouco nítidos e muito compactados, sendo possível apenas a visualização do padrão de bandas de algumas seções. Não foi observado polimorfismo nas larvas de *S. perplexum* analisadas, assim como cromossomo sexual diferenciado,

assim, essa espécie apresenta um sistema sexual (X0Y0). A comparação com os mapas de *S. guianense*, a única espécie que tem seu complemento cromossômico disponível na literatura (Charalambous *et al.*, 1996) e, *S. scutistriatum* Lutz, *S. hirtipupa* Lutz e *S. itaunense* (mapas ainda não publicados) indica que a maioria dos principais marcadores está localizada em seções diferentes, inclusive o organizador nucleolar (NO) que, embora esteja localizado no braço longo IL, se encontra em posição diferente das espécies citadas acima, com exceção de *S. scutistriatum* que apresenta o NO no braço longo IIIIL (Figura 1)

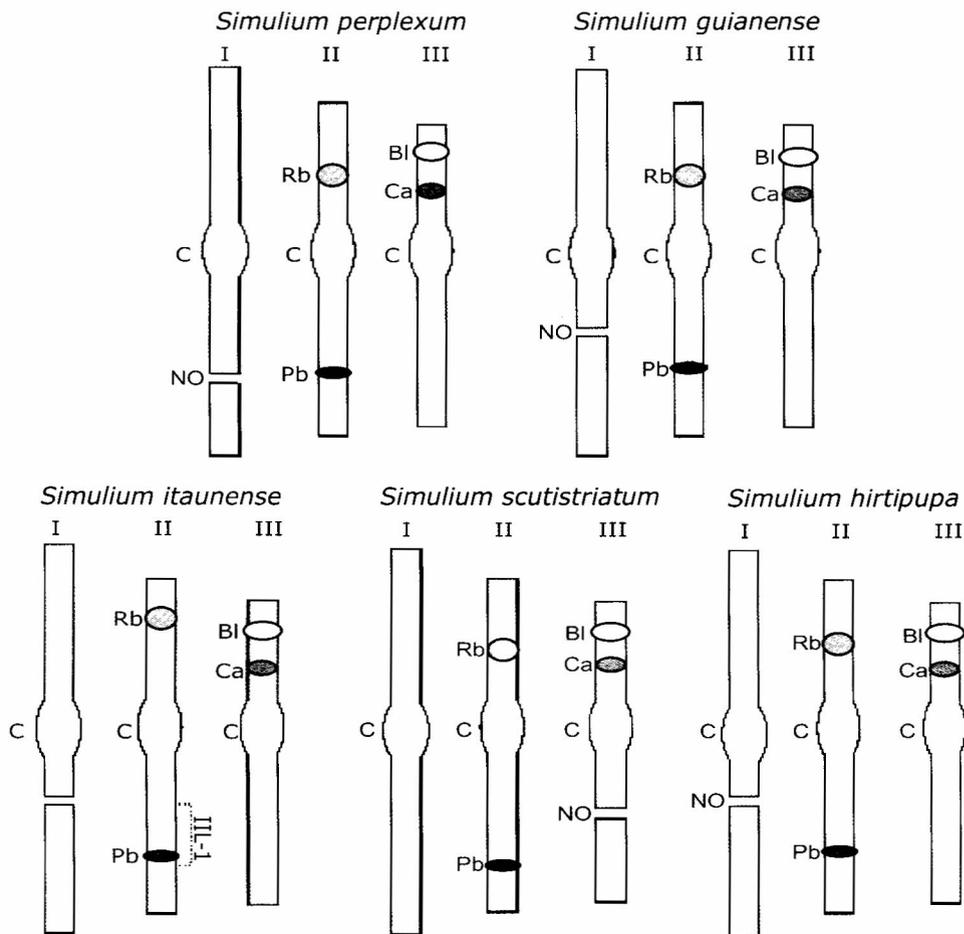


Figura 1. Idiograma contendo os principais marcadores cromossômicos de larvas de *S. perplexum*, *S. guianense*, *S. itaunense*, *S. scutistriatum* e *S. hirtipupa* (Diptera: Nematocera). Nota: I - cromossomo I, C= centrômero, braço IL NO= organizador nucleolar; braço IIS Rb= anel de balbiani, braço IIL Pb= parabalbiani, IIL - 1= inversão; cromossomo III, braço IIIS Ca= cápsula, Bl= blister (S=braço curto, acima do centrômero; L=braço longo, abaixo do centrômero).

Morfologia- Larva de último estágio (Figura 2): coloração geral do corpo é cinza-esverdeada. Comprimento médio do corpo 6,3mm (DP = 0,51, n = 10). Cápsula cefálica: largura média 0,4mm (DP = 0,02, n = 10), comprimento médio lateral 0,46mm (DP = 0,01, n = 10). Cutícula do corpo com cerdas simples e curtas. Comprimento das antenas similar à altura das hastes dos leques cefálicos, proporção entre os segmentos antenais ~1:2:1. Leques cefálicos com 46-48 raios. Escleritos cervicais pequenos e livres na membrana. Hipostômio com 4-6 setas laterais; dentes do hipostômio: 1 dente mediano, 4+4 sublaterais (os 1+1 são similares ao dente mediano e os 3+3 distais são alargados com serrações), 1+1 dente lateral, 1+1 dente paralateral. Fenda gular profunda, com comprimento médio de 0,22mm (DP 0,01, n = 10). Mandíbula com 2 dentes externos, 1 dente apical, 6 pré-apicais, 5 dentes internos, processo latero-mandibular ausente. Disco anal com 149-151 fileiras de ganchos e com 22-24 ganchos por fileira.

Discussão taxonômica. Larvas de *S. perplexum*, assim como larvas de *S. nunesdemelloi* Hamada, Pepinelli e Hernández, se diferenciam das outras larvas do subgênero *S. (Thyrsopelma)* sensu Coscarón e Coscarón-Arias (2007), pela ausência de cerdas em forma de raquete distribuídas ao longo do corpo. Larvas dessas duas espécies apresentam cerdas pequenas e simples na cutícula do corpo, mas elas podem ser diferenciadas pelo formato da fenda gular que em *S. perplexum* apresenta formato em "V", enquanto que em *S. nunesdemelloi* ela é redonda.

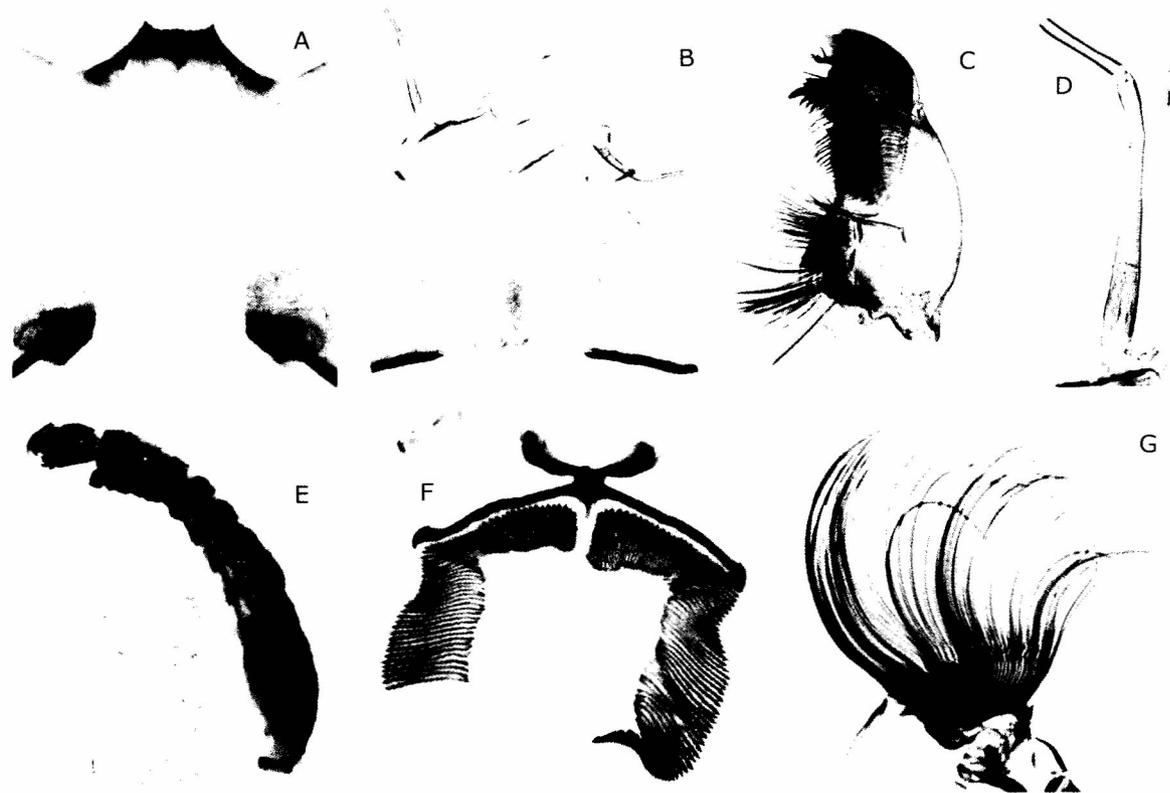


Figura 2. A. Hipostômio, ponte gular, fenda gular; B. Apódema cefálico; C. Mandíbula; D. Antena; E. Vista lateral da larva e das cerdas na cutícula; F. Esclerito anal com disco anal e ganchos; G. Leque cefálico.

4. Conclusão

Estudos sobre cromossomos politênicos têm contribuído com estudos taxonômicos na definição das relações entre espécies próximas na família Simuliidae. É uma ferramenta valiosa para auxiliar a descrever e classificar os organismos a nível específico. O mapa cromossômico obtido poderá ser utilizado em futuras análises incluindo cromossomos politênicos das espécies pertencentes ao subgênero *S. (Thyrsopelma)* ainda pouco estudado citologicamente. O presente estudo registra pela primeira vez *S. perplexum* no Brasil e realiza a primeira descrição de sua larva de último estágio, fornecendo caracteres adicionais para estudos que contemplem a avaliação das relações filogenéticas entre espécies desse subgênero.

5. Referências

Adler, P.H.; Currie D.C.; Wood, D.M. 2004. *The Black Flies (Simuliidae) of North America*. Cornell University Press, Ithaca, NY. 941 pp.

- Adler, P.H.; Crosskey, S.W. 2009. *World Blackflies (Diptera: Simuliidae): A comprehensive revision of the taxonomic and geographical inventory*. The Natural History Museum London. 109pp.
- Charalambous, M., Shelley, A., Herzog, M.M.; Luna Dias, A.P.A. 1996. Four new cytotypes of the onchocerciasis vector blackfly *Simulium guianense* in Brazil. *Medical and Veterinary Entomology*, 10: 111-120.
- Coscarón-Arias, I.C. 1998. The chromosomes of *Cnesia dissimilis* (Edwards) and Three Species of *Gigantodax* Enderlein (Diptera: Simuliidae) from Lanin National Park (Argentina). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 93(4): 445-458.
- Coscarón, S.; Coscarón-Arias, C.L. 2007. *Neotropical Simuliidae (Diptera: Insecta)*. Aquatic Biodiversity in Latin America. Pensoft, Sofia-Moscow. 685 pp.
- Grillet, M.E.; Barrera, R.; Conn, J. 1995. *Simulium metallicum* cytospecies e larval habitat characterization in the Altamira focus of onchocerciasis, northern Venezuela. *Medical and Veterinary Entomology*, 9: 195-201.
- Hamada, N.; Ale-Rocha, R.; Luz, S.L.B. 2003. Description of *Simulium damascenoi* (Diptera: Simuliidae) male and the black-fly species from the state of Amapá, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98(3): 353-360.
- Lutz, A. 1909. Contribuição para o conhecimento das especies brasileiras do genero "Simulium". *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 2: 124-46.
- Muñoz de Hoyos, P. 1990. La importancia de los cromosomas politenicos en la determinacion taxonomica de los simulidos. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 16 (66): 511-520.
- Rothfels, K.H. 1979. Cytotaxonomy of black flies (Simuliidae). *Annual Review of Entomology*, 24: 507-39.
- Shelley, A.J., Lowry, C.A., Maia-Herzog, M., Luna Dias, A.P.A.; Moraes, M.A.P. 1997. Biosystematic studies on the Simuliidae (Diptera) of the Amazonia onchocerciasis focus. *Bulletin of Natural History Museum*, 66:1-121.