

LOS CROMOSOMAS POLITENICOS DE *SIMULIUM FURCILLATUM* (DIPTERA: SIMULIIDAE) CHISACA, CUNDINAMARCA, COLOMBIA *

por

Jairo Campos Gaona**

y

Paulina Muñoz de Hoyos***

Resumen

Campos Gaona, J. y P. Muñoz de Hoyos: Los cromosomas politénicos de *Simulium furcillatum* (Diptera: Simuliidae) Chisacá, Cundinamarca, Colombia. Rev. Acad. Colomb. Cienc. 17 (67):715-723, 1990. ISSN 0370-3908.

Se presentan los mapas de los cromosomas politénicos de la especie alto Andina *Simulium furcillatum*. Se resaltan polimorfismos cromosómicos y se hacen comparaciones con los mapas de otras especies para establecer homologías intra e inter-subgenéricas.

Introducción

En la familia Simuliidae se encuentran alrededor de 1500 especies a nivel mundial, 300 de las cuales en el Neotrópico y 45 de éstas en Colombia, 33 del género *Simulium* y 12 del género *Gigantodax* (Muñoz de Hoyos et al., 1982; Crosskey, 1987; Wygodzinsky y Coscarón, 1989). En Colombia son limitados los estudios realizados en simúlidos y dada la posición geográfica privilegiada del país, es posible que el número de especies sea mayor que el anotado.

Simulium (Ectemnaspis) furcillatum Wygodzinsky y Coscarón, 1982, es una especie que apare-

ce en Colombia a alturas entre los 2750 y 3410 m. s.n.m. en la cordillera oriental de los departamentos de Boyacá y Cundinamarca (Wygodzinsky y Coscarón, 1982). Coscarón (1984), en una revisión del subgénero *Ectemnaspis*, agrupa 37 especies; sin embargo, Crosskey (1987) reúne apenas 14 especies, cinco de ellas existentes en Colombia: *Simulium bicoloratum* Malloch, 1912, *S. bicornutum* Wygodzinsky y Coscarón, 1982, *S. furcillatum*, *S. ignescens*, Roubaud, 1906 y *S. tolimaense*, Coscarón, 1985.

En el subgénero *Ectemnaspis* se han llevado a cabo algunos estudios citológicos en *S. ignescens* (Duque, 1980; Duque et al., 1988) y en *S. furcillatum* (Campos, 1989). Los autores actualmente trabajan con la especie *S. bicornutum*. En la investigación con *S. ignescens* se halló una especie (*Simulium C*) que difiere cromosómicamente de *S. ignescens* por la secuencia de bandeamiento del cromosoma II y por una inversión fija (*IIIL-1*) en el brazo largo del cromosoma III, asignada a *Simulium C* por Duque et al. (1988) y reasignada a *S. ignescens* por Campos (1989).

* Estudio incluido dentro del Proyecto de Investigación "Simúlidos del Río Chisacá" financiado por COLCIENCIAS y la Universidad Nacional de Colombia.

** Departamento de Biología Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.E.

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

Los objetivos del presente estudio son: caracterizar los cromosomas politénicos de *S. furcillatum* y establecer relaciones citológicas con especies pertenecientes a los subgéneros *Ectemnaspis*, *Hemicnetha*, *Notolepria* y *Simulium*.

Materiales y métodos

La zona de estudio está ubicada entre los 74° 12' 11" y 74° 11' 02" de L.O. y entre los 4° 23' 16" y 4° 21' 09" de L.N. del páramo de Chisacá, región geográfica del Sumapaz. Han sido seleccionadas tres estaciones para el muestreo entre los 3150 y 3410 m.s.n.m. (figura 1) en el flanco occidental de la cordillera oriental, muy cerca del Ecuador climático, con un régimen de dos períodos lluviosos bien marcados, el primero de abril a mayo y el segundo de octubre a noviembre, con una precipitación promedio anual de 732 mm y temperatura media anual entre 6° y 8°C (Guhl, 1982).

Las larvas de *S. furcillatum*, colectadas en las Quebradas del Oso y Hoya Honda entre los meses de agosto/88 y enero/90, se fijaron en carnoy y se procesaron según la técnica de orceina-lacto-acética para cromosomas politénicos (French et al., 1962). Los mapas cromosómicos se elaboraron utilizando el sistema de nomenclatura propuesto por Rothfels (1987).

Los mapas cromosómicos de *S. furcillatum* se compararon con los de las especies *S. ignescens* y *Simulium C* del subgénero *Ectemnaspis* (Duque et al., 1988), *S. muiscorum* del subgénero *Hemicnetha* (Moreno, 1982), *S. exiguum* del subgénero *Notolepria* (Procunier et al., 1985) y con el mapa estándar del subgénero *Simulium* (Rothfels et al., 1978). Al considerar los mapas de *Simulium C* y *S. exiguum* se renumeraron algunas secciones y los brazos corto y largo del cromosoma I de *S. muiscorum* se identificaron correctamente.

Resultados

El complemento cromosómico de *S. furcillatum* al igual que el de la mayoría de las especies de la familia Simuliidae, consta de tres pares de cromosomas ($n = 3$). El complemento se divide en 100 secciones, 42 para el cromosoma I, 30 para el cromosoma II y 28 para el cromosoma III.

El cromosoma I (figura 2) se diferencia por poseer la región centromérica (sección 21/22) ligeramente expandida y la región organizadora nucleolar (NOR) en la base del brazo corto (sección 16/17), con expresión homocigótica (+/+) o heterocigótica (-/+) (figura 3). Otros marcadores que caracterizan este cromosoma son: los "dos bloques" en la sección 5, la "banda abombada" entre las secciones 9 y 10, la "grieta" en la sección 11, la "tasa y el platillo" entre las secciones 13 y 14, el "tres" en la sección 18, el "marcador" entre las secciones 28 y 29 y el "tres" subterminal entre las secciones 41 y 42. El par I está estrechamente sinapsado.

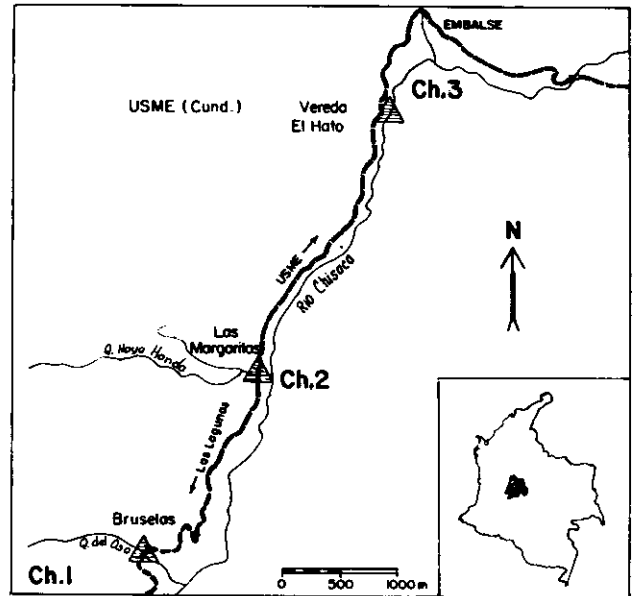


FIGURA 1

Ubicación de los sitios de muestreo. Chisacá I (Ch-1) 3.410 m., Chisacá 2 (Ch-2) 3.240 m. y Chisacá 3 (Ch-3) 3.150 m.

El cromosoma II (figura 4) se reconoce por la presencia del anillo de Balbiani (RB) en el brazo corto (sección 51), el "4" (secciones 43/44), el "2/1" (secciones 44/45), el "cordón de zapato" (SH) central a la doble burbuja (dB) (secciones 46/47), el trapezoidal (TR) (sección 53), el centrómero (sección 54), el "3 sharp" (secciones 54/55), el "abombamiento DNA" (sección 58), las bandas dentadas (jagged) (sección 59), el diente de sierra (ST) (sección 61), la banda gris (gB) (sección 66) y el Parabalbiani (PB) (sección 70).

El cromosoma III (figura 5) se distingue por el telómero festoneado del brazo corto, el grupo pesado o "heavy" (sección 77), la ampolla o "blister" entre las secciones 77/78, la cápsula en la sección 78, el centrómero (sección 81) bastante conspicuo, el marcador basal o "basal marker" (secciones 90/91), el cuello o "neck" (sección 94) y el grupo tres pesado o "three heavy group" (secciones 98 y parte de 100).

Los polimorfismos de *S. furcillatum* a nivel cromosómico son reducidos; estos están representados por algunas heterobandas (figura 6) y por polimorfismos de inversión (figura 7) o inversiones flozantes (tabla 1).

Las heterobandas se caracterizan por ser bandas conspicuas e intensas en uno de los homólogos del cromosoma politénico. La carencia de homogeneidad espacial y temporal de la muestra no permitió una estimación de la frecuencia de polimorfismos en la población; sin embargo, los ocho polimorfismos observados, cinco heterobandas y tres inversiones, se exhibieron en doce individuos: la heterobanda 3HB IL-26 y la inversión IIL-1 las presentó un mismo individuo, al igual que las hete-

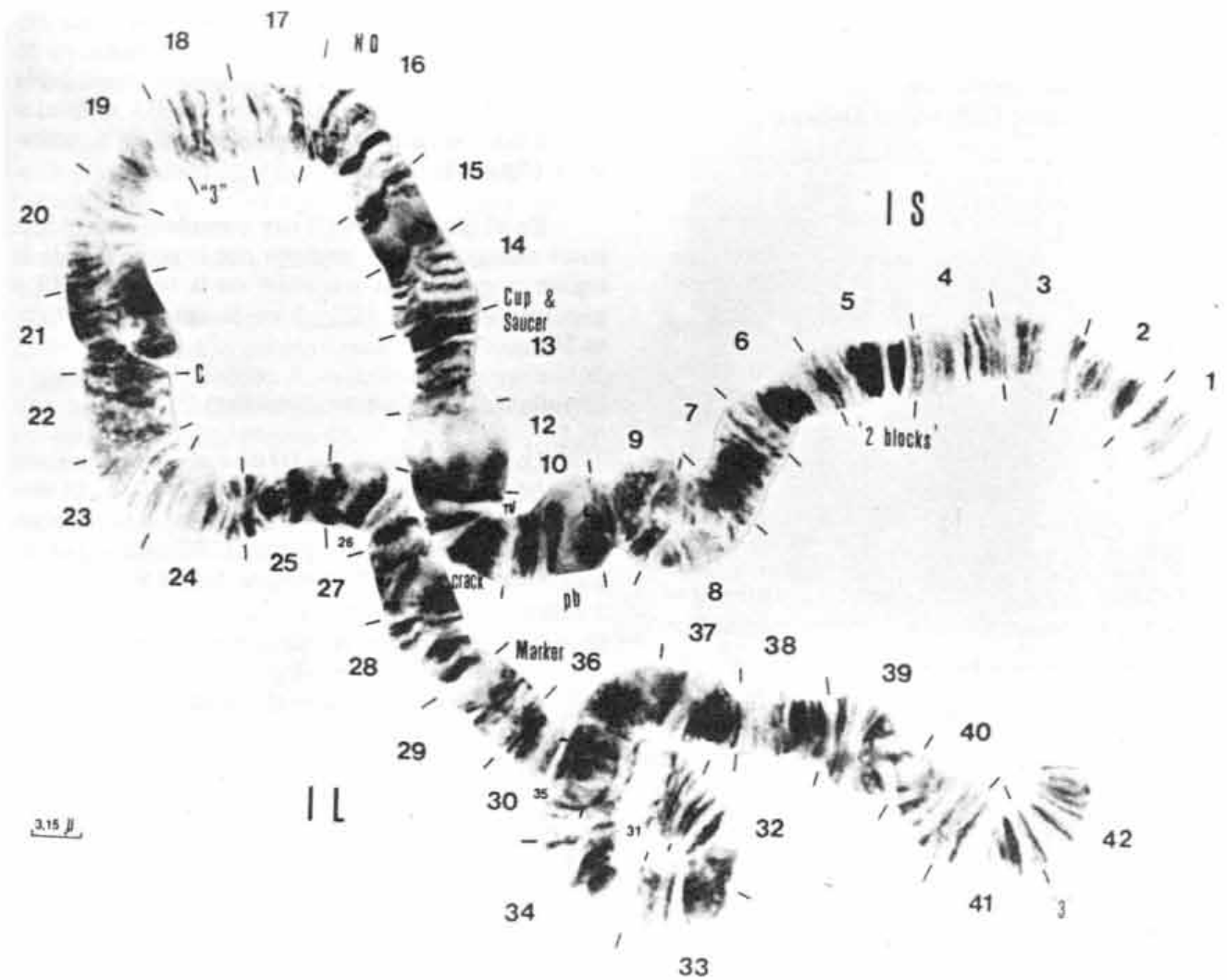


FIGURA 2

Cromosoma I de *Simulium furcillatum*. En el brazo corto (IS) se observan los marcadores dos bloques (2 blocks), la banda abombada (pb), la grieta (crack), la tasa y platillo (cup & saucer), la región organizadora nucleolar (NO) y el "3". En el brazo largo (IL) se aprecian el centrómero (C), el marcador principal (marker) y el "3" subterminal.

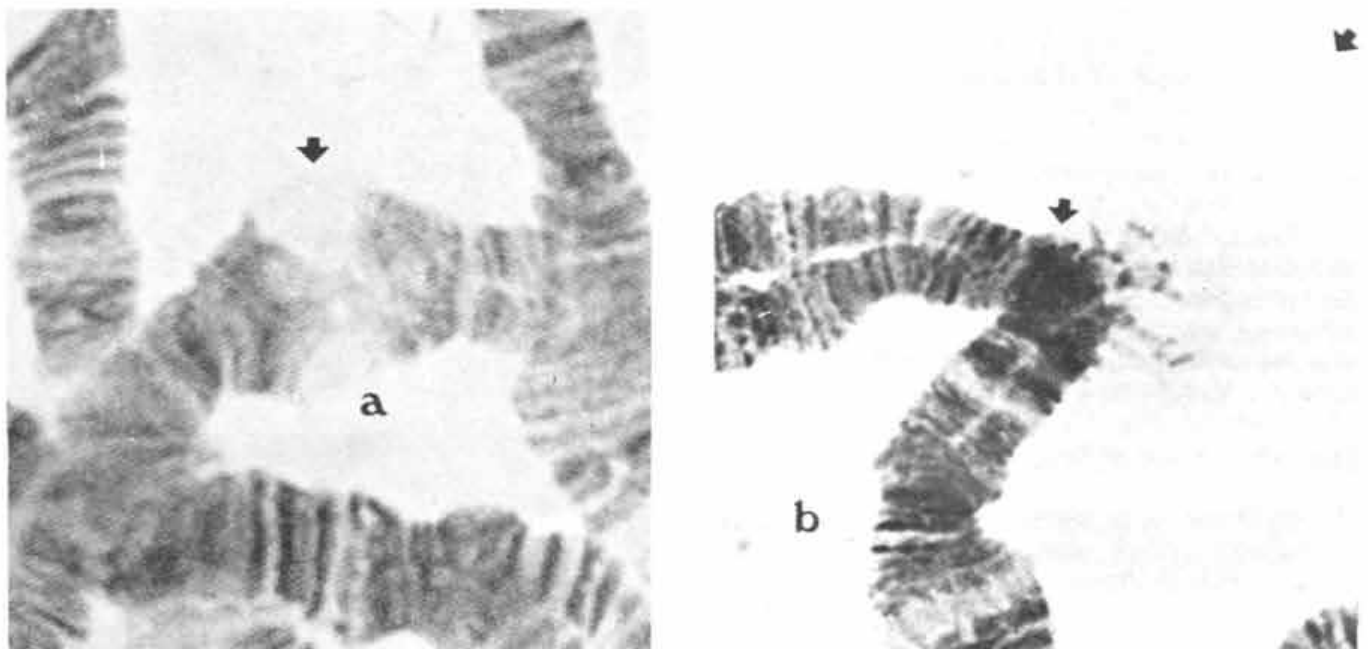


FIGURA 3

Expresión de la región organizadora nucleolar (NOR). a. Expresión homocigótica (+/+) 3.200 X. b. Expresión heterocigótica (+/-) y presencia del nucleolo 1.600 X.

TABLA 1

Polimorfismos en *Simulium furcillatum*,
Heterobandas (HB) e inversiones (i)

Polimorfismo	No. veces observado*	Sitio**	Fecha
3 HB IIL-26***	1	Ch-2	VIII-1-88
HB IIS-43	3	Ch-2	XI-12-88
	1	Ch-2	I-23-89
	1	Ch-2	XII-11-89
HB IIL-56	1	Ch-1	XI-12-88
	1	Ch-2	XI-12-88
	1	Ch-2	XII-11-89
HB IIL-66	1	Ch-2	VIII-1-88
HB IIL-85	1	Ch-1	XI-12-88
i IIL-1 (56/57)	1	Ch-2	VIII-1-88
i IIL-2 (57c/58c)	1	Ch-1	X-11-88
i IIL-3 (69/72)	1	Ch-2	XII-11-89
Total 8	14	-	-

* No se estimó frecuencia, la muestra no fue homogénea.

** Ver figura 1.

*** 3 HB indica 3 bandas heterocigotas continuas

robandas HB IIL-56 y HB IIL-85. El sitio Ch-2 aparece con el mayor número de polimorfismos y las muestras de agosto y noviembre las de mayores polimorfismos (tabla 1).

Las inversiones, numeradas en orden de aparición, se localizan en el brazo IIL: las dos primeras IIL-1 y IIL-2 cubren pequeños segmentos entre las secciones 56 a 58; son inversiones en "cascada", sus límites están indicados con flechas en las figuras 7a. y 7b. La tercera, IIL-3, mayor en extensión, involucra las secciones 69-72 (figuras 7c y 7d). Cada una de estas inversiones ha sido observada sólo una vez.

Comparaciones de secuencia

Los marcadores principales de los cromosomas politénicos de las seis especies comparadas están indicados en los idiogramas (figuras 8-10); los segmentos señalados con letras corresponden a las homología cromosómica de *S. furcillatum* con cada una de las especies comparadas.

Simulium furcillatum vs. *Simulium ignescens*

La secuencia de bandeamiento del cromosoma I de ambas especies es completamente homóloga. *S. furcillatum* se diferencia de *S. ignescens* por poseer la región organizadora nucleolar en el brazo corto del cromosoma I (figura 8).

El cromosoma II, con gran homología entre ambas especies, se distingue por presentar el anillo de Balbiani (RB) basal en *S. furcillatum* y distal en

S. ignescens. De los segmentos homólogos en IIS (A1-D1), B1 y C1 se presentan desplazados en *S. ignescens*; el brazo IIL, con menor homología (E1-H1) exhibe los segmentos E1-G1 desplazados, F1 y G1 con orientación reversa en *S. ignescens* (figura 9).

En el cromosoma III hay completa homología entre ambas especies, excepto por la presencia de la región organizadora nucleolar en la base de IIS y por una inversión IIL-1 en *S. ignescens*. (figura 10).

Simulium furcillatum vs. *Simulium* "C"

Los cromosomas I y III de ambas especies son completamente homólogos (figuras 8 y 10). El brazo corto del cromosoma II se diferencia por rearrreglos de los segmentos homólogos B2-E2 y por algunos segmentos no homólogos (figura 9).

Simulium furcillatum vs. *Simulium muiscorum*

Sólo la región centromérica del cromosoma I, secciones 18-22 de *S. muiscorum* y 18-23 de *S. furcillatum*, es homóloga. Las dos especies se diferencian, además, por la localización de la región organizadora nucleolar: en *S. furcillatum* está en IS y en *S. muiscorum* en IIS (figuras 8 y 10).

En el brazo corto del cromosoma II se homologan tres regiones de tamaño medio (A3-C3), una gran región (D3) que cubre la región centromérica y la región basal en ambos brazos; en el brazo IIL,

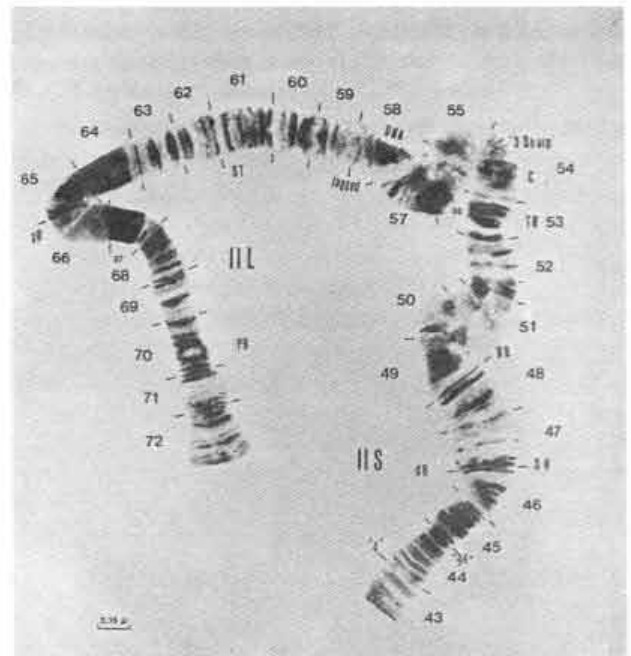


FIGURA 4

Cromosoma II de *Simulium furcillatum*. En el brazo corto (IIS) se encuentran los marcadores "4", "2/1", el cordón de zapato (SH) central a la doble burbuja (dB), el anillo de Balbiani (RB) y el trapezoidal (TR). En el brazo largo (IIL) se indican el centrómero (C) y los marcadores "3 definido" (3 sharp), el DNA, las bandas dentadas (jagged), el diente de sierra (ST), la banda gris (gB) y el parabalbiani (PB).

una serie de segmentos de mediano tamaño (E3—J3 es homóloga para ambas especies, aunque en *S. muiscorum* aparece desplazada (figura 9).

En el cromosoma III se presentan cuatro homologías (A3—D3), desplazadas en *S. muiscorum* (figura 10).

Simulium furcillatum vs. *Simulium exiguum*

En el cromosoma I los segmentos homólogos (A4—I4) tienen la misma orientación y están desplazados muy poco; en *S. exiguum* el segmento C4, que incluye la región organizadora nucleolar, se encuentra desplazado (figura 8).

En el cromosoma II, con las homologías A4—I4, se destaca la posición distal del anillo de Balbiani en *S. exiguum* frente a la basal en *S. furcillatum* (segmento C4), desplazada pero con la misma orientación, al igual que el segmento B4 y la homología de la región centromérica (D4). En el brazo IIL se resaltan las homologías E4 e I4 con orientación reversa y desplazadas; I4 incluye el Parabalbani (PB) (figura 9).

En el cromosoma III las homologías (A4—F4) son de mediana extensión; el segmento B4, con orientación reversa incluye el "heavy" y el "blister", el cual tiene una posición distal en *S. exiguum* (figura 10).

Simulium furcillatum vs. *Simulium s. str.*

El cromosoma I muestra una gran semejanza de bandas en los segmentos A—E. La presencia del NO, en la base del brazo IS de *S. furcillatum*, diferencia este cromosoma del de *Simulium s. str.*, cuyo NO se localiza en el brazo largo del cromosoma III (figura 8).

En el cromosoma II, con varios segmentos homólogos (A—H), sobresale la posición basal del anillo de Balbiani en *S. furcillatum* y distal en *Simulium s. str.* (segmento C) pero con la misma orientación; en el brazo IIL los segmentos F y G están desplazados y con orientación invertida; el segmento G incluye el Parabalbani y es distal en *Simulium s. str.* (figura 9).

Las homologías del cromosoma III (A—H), a excepción del segmento D que comprende la región centromérica, se presentan desplazadas y/o con orientación invertida (figura 10).

Discusión

S. furcillatum se distinguió por presentar un patrón de bandeamiento homogéneo y constante. En los 65 individuos examinados se encontraron algunos polimorfismos, cinco heterobandas y tres inversiones flotantes. Si bien la muestra no es homogénea, el polimorfismo de banda HB IIS—43 fue observado cinco veces (0.076), frecuencia relativa-

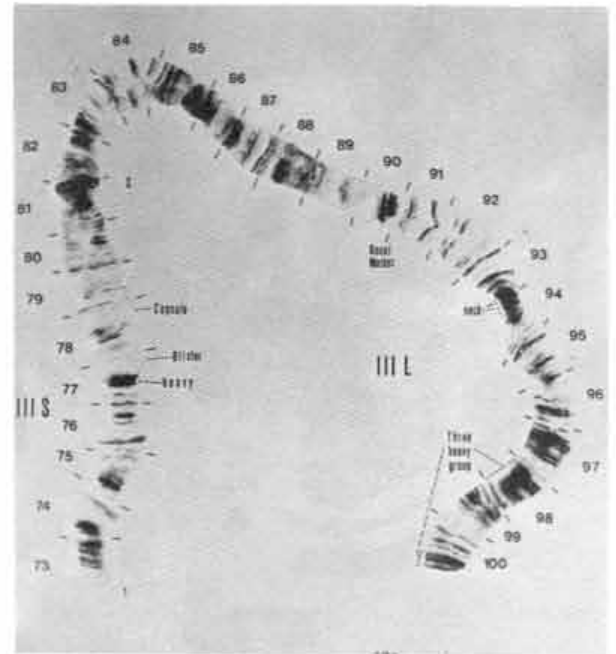


FIGURA 5

Cromosoma III de *Simulium furcillatum*. En el brazo corto (IIIS) se evidencian el telómero festoneado (f), los marcadores pesado (heavy), ampolla (blister) y la cápsula. En el brazo largo (IIIL) se diferencian el centrómero (C), el marcador basal (basal marker), el cuello (neck) y el grupo 3 pesado (three heavy group).

mente alta para este polimorfismo con respecto a los otros; la aparición de ésta en meses diferentes podría señalar mayor importancia en la población que la sola variación cromosómica como se verá más adelante.

La comparación de los complementos cromosómicos de las cinco especies indicó una asociación de brazos estándar con base en los marcadores que identifican los brazos y la comparación con los mapas estándar de *Simulium s. str.* Entre las especies del subgénero *Ectemnaspsis* (*furcillatum*, *ignescens* y "C") se presenta una homosecuencialidad de bandas casi completa para los cromosomas I y III, resalta la presencia del NO en la base del brazo IS para *S. furcillatum* y *Simulium* "C" y en la base de IIIS para *S. ignescens*; al igual que la ocurrencia de una inversión fija IIII—1 reasignada a *S. ignescens* (Campos, 1989).

La homosecuencialidad del cromosoma II no es completa entre las especies comparadas; se destaca la posición basal del anillo de Balbiani en *S. furcillatum* y *Simulium* "C" y distal en *S. ignescens*.

Las tres especies muestran polimorfismos intraespecíficos, especialmente en el cromosoma III para *S. ignescens* y *Simulium* "C" (Duque et al., 1988) y en el cromosoma II para *S. furcillatum*, pero ninguno de los polimorfismos es compartido entre las tres especies. Sin embargo, la heterobanda terminal del brazo IIS, que en *S. ignescens* se ha relacionado con el sexo, es posible que corresponda a la heterobanda HB IIS—43 de *S. furcillatum*. No



FIGURA 6

Heterobandas (3.200 X). a. HB II L-26. b. HB IIS-43. c. HB III L-56. d. HB III L-66. e. HB III L-85.

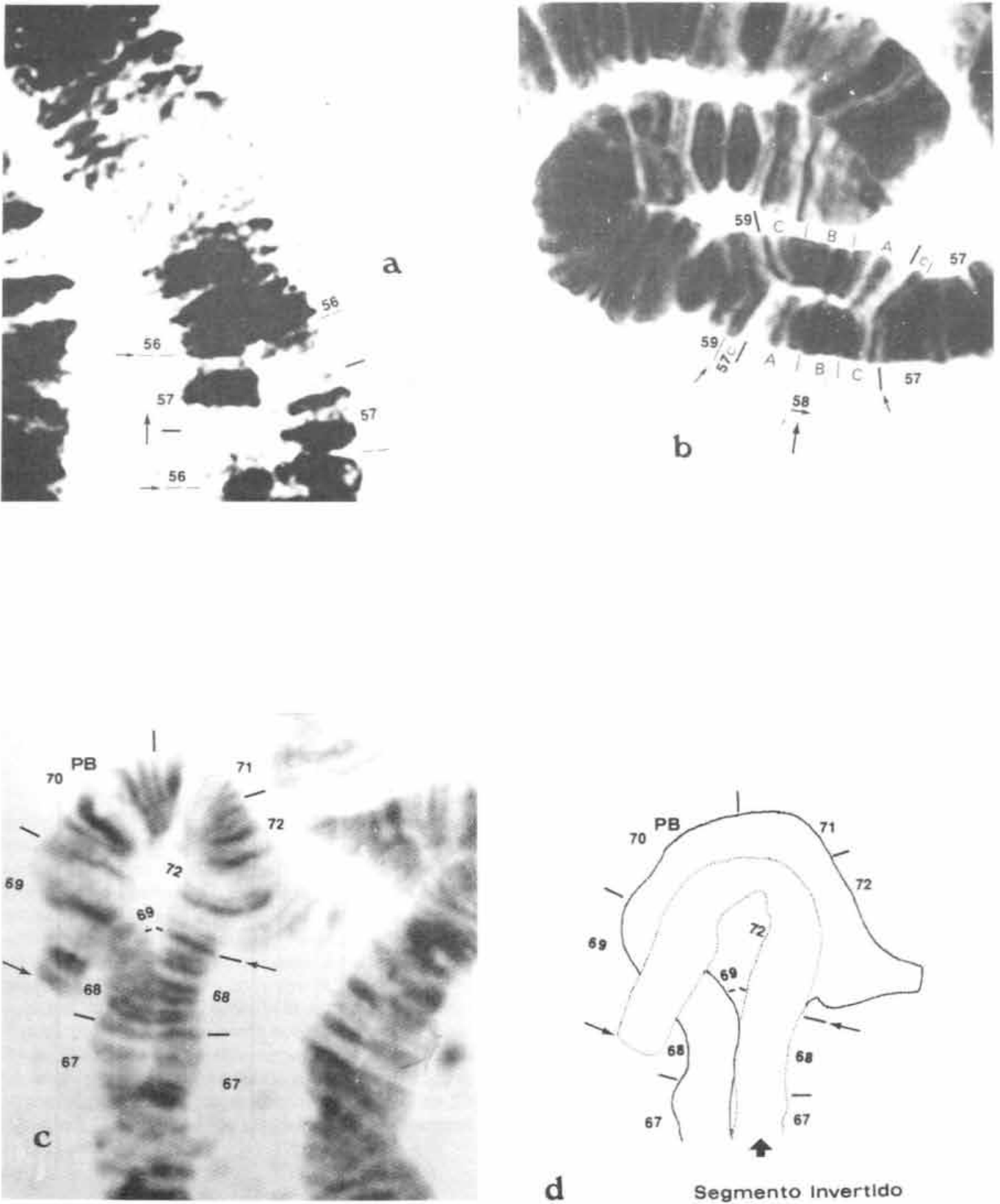


FIGURA 7

Inversiones. a. IIL-1 (3.200 X). b. IIL-2 (3.200 X). c. IIL-3 (3.200 X). d. Representación esquemática de la inversión IIL-3.

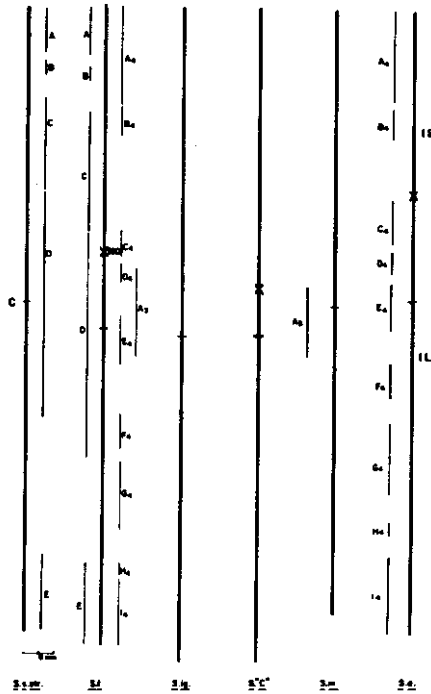


FIGURA 8

Idiograma del cromosoma I para *Simulium s. str.*, *S. furcillatum* (S. f.), *S. ignescens* (S. ig.), *S. "C"*, *S. muiscorum* (S. m.) y *S. exiguum* (S. e.). Las líneas letreadas indican las homologías de *S. furcillatum* con *S. s. str.* (A-E), *S. muiscorum* (A3), *S. exiguum* (A4-14). Los brazos IS y IL de *S. furcillatum*, *S. ignescens* y *S. "C"* son completamente homólogos, excepto por la ausencia de NO en la base del brazo IS de *S. ignescens*. Las flechas indican la orientación contraria; C, centrómero; NO, Organizador nucleolar. Cada división de la escala representa una sección cromosómica.

se tienen láminas de *S. ignescens* pero los mapas indican una posición semejante de la heterobanda en las dos especies. Los resultados indican mayor homosecuencialidad de bandas entre *S. furcillatum* y *Simulium "C"* que entre *S. furcillatum* y *S. ignescens*, incluso es mayor que la anotada previamente entre *S. ignescens* y *Simulium "C"* (Duque et al., 1988). Con base en lo anterior se puede decir que la secuencia de bandeamiento para *S. furcillatum* puede ser la más conservativa dentro de las tres especies y por tanto, ser tomada como la central para el grupo de especies del subgénero *Ectemnaspis*, contrario a lo sustentado por Duque et al. (1988) quienes propusieron que los mapas de *S. ignescens* fueran considerados como los centrales.

Las homologías cromosómicas encontradas entre los mapas de *S. furcillatum* y los mapas estándar del subgénero *Simulium* (Rothfels et al., 1978) corresponden con las homologías anotadas entre *S. ignescens* y *Simulium s. str.* (Duque et al., 1988) lo cual refuerza las homologías halladas y las que existen entre *S. ignescens* y *S. furcillatum*. Por tanto, cabe pensar en una secuencia central para el subgénero *Ectemnaspis* que tiene gran homología con la secuencia estándar del subgénero *Simulium*. Además, entre *S. furcillatum* y *Simulium s. str.* aparecieron más homologías en los brazos IIL y IIIL que las señaladas entre *S. ignescens* y *Simulium s. str.*

En IIL la región homóloga G cubre la inversión (IIL-4) de dos especies hermanas del complejo *S. venustum/verecundum* y corresponde con la secuencia estándar en *S. furcillatum*.

En las comparaciones de *S. furcillatum* con *S. muiscorum* y *S. exiguum* se observa una homología decreciente del cromosoma I al cromosoma III. La forma Bucay de *S. exiguum* (IIL-5-6) (Procunier et al., 1985) presenta la misma orientación que *S. furcillatum* para la región homóloga E4 de IIL, mientras que la forma Cayapa (estándar) la posee invertida; la inversión fija IIL-6, en la forma Bucay, es una de las inversiones que diferencia las formas Bucay de la Cayapa.

En resumen, *S. furcillatum* se caracteriza cromosómicamente por tener un bandeamiento homogéneo en sus tres cromosomas, leves asinapsamientos y algunas variaciones intraespecíficas. El cromosoma I se distingue por el NO en la base del brazo IS y su región centromérica ligeramente expandida. El cromosoma II por el anillo de Balbiani basal, el centrómero poco conspicuo, la banda gris y un Parabalbiani sobresaliente. El cromosoma III por las bandas intensas o "heavy", la ampolla, el centrómero bastante notorio dentro de una zona abombada y el grupo "tres pesado" dividido. Se cree necesario examinar un número mayor de individuos para hacer una caracterización del segmento o segmentos sexuales; sin embargo, la heterobanda terminal del brazo IIS ya ha sido relacionada con el sexo en *S. ignescens*, aunque en forma parcial.

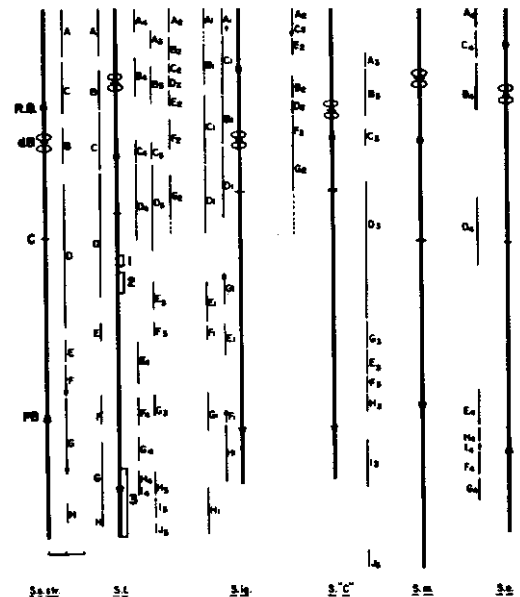


FIGURA 9

Idiograma del cromosoma II para *Simulium s. str.*, *S. furcillatum* (S.f.), *S. ignescens* (S. ig.), *S. "C"*, *S. muiscorum* (S. m.) y *S. exiguum* (S. e.). Las líneas letreadas indican las homologías de *S. furcillatum* con *Simulium s. str.* (A-H), *S. ignescens* (A1-H1), *Simulium "C"* (A2-G2), *S. muiscorum* (A3-J3) y *S. exiguum* (A4-14). Las flechas indican la orientación contraria; RB, anillo de Balbiani; dB, doble burbuja; C, centrómero; PB, parabalbiani. Los corchetes a la derecha muestran las inversiones flotantes IIL fu-1 a 3. Cada división de la escala representa una sección cromosómica.

Bibliografía

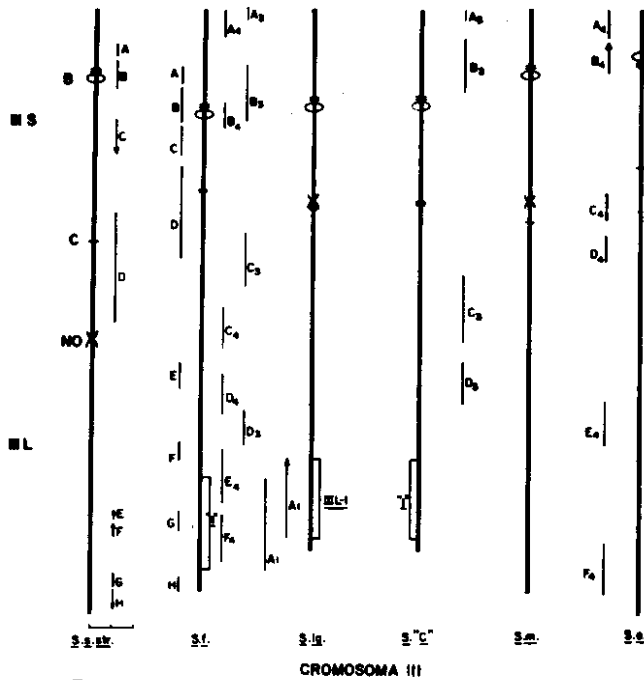


Fig. No. 10. Idiograma del cromosoma III. Convenciones como en las figuras No. 8 y 9.

FIGURA 10

Idiograma del cromosoma III. Convenciones como en las figuras Nos. 8 y 9. Las flechas indican la orientación contraria; B, ampolla o "blister". Los brazos IIIS y IIIL de *S. furcillatum*, *S. ignescens* y *Simulium* "C" son completamente homólogos, excepto por un segmento invertido (A1) en el brazo IIIL de *S. ignescens* y que corresponde a la inversión IIII-1 en *S. ignescens*. Cada división de la escala representa una sección cromosómica.

Los resultados de las comparaciones intrasubgenéricas sugieren que los mapas de *S. furcillatum* sean utilizados como centrales o estándar, por lo menos en un grupo de especies de este subgénero. Los estudios preliminares con *S. bicornutum* demuestran una gran homología cromosómica entre esta especie y *S. furcillatum*. Se puede hablar de afinidad cromosómica para varias especies del subgénero *Ectemnaspsis*, lo que ayuda a certificar su posición taxonómica. Esto y la semejanza cromosómica con especies de otros subgéneros: *Simulium* (complejos *S. venustum/verecundum*), *Notolepria* (*S. exiguum*) y *Hemicnetha* (*S. muisorum*) sugiere la posibilidad de un agrupamiento neotropical de *Simulium* s.l. con base en la cladística de cromosomas politénicos.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de Colombia y muy especialmente, a COLCIENCIAS por proporcionar el soporte financiero para la realización de este trabajo.

- Campos, J. 1989. Estudio citológico de *Simulium furcillatum* (Diptera: Simuliidae) Páramo de Chisacá. Trabajo de Grado. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología. 120 pp.
- Coscarón, S. 1984. Revision of the subgenus *Simulium* (*Ectemnaspsis*) Enderlein (Simuliidae: Diptera: Insecta). Rev. Soc. Entomol. 43: 283-325.
- Croskey, R.W. 1987. Part VIII. Black fly species of the world. 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. 528 pp.
- Duque, S. 1980. Estudio citogenético de *Simulium ignescens* Roubaud, 1906. Trabajo de Grado. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología. 102 pp.
- Duque, S., Muñoz de Hoyos, P. & K.H. Rothfels. 1988. The polytene chromosomes of *Simulium* (*Ectemnaspsis*) *ignescens* Roubaud and related species *Simulium* "C", both from Colombia. Can. J. Zool., 66: 300-309.
- French, W.L., Baker, R.H. & J.B. Kitzmiller. 1962. Preparation of mosquito chromosomes. Mosquito News 22: 376-383.
- Guhl, E. 1982. Los Páramos Circundantes de la Sabana de Bogotá. Jardín Botánico "José Celestino Mutis". Bogotá, 127 pp.
- Moreno, C.H. 1982. Estudio citogenético de *Simulium* (*Hemicnetha*) *muisorum* Bueno, Moncada y Muñoz de Hoyos, 1979. Trabajo de Grado. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología. 80 pp.
- Muñoz de Hoyos, P., M.L. Bueno & L.I. Moncada. 1982. Simuliidae (Insecta: Diptera) de Colombia. II. Especies de simúlidos registradas en Colombia. Scientia 1: 141-146.
- Procunier, W.S., Shelley, A.J. & M. Arzube. 1985. Sibling species of *Simulium exiguum* (Diptera: Simuliidae), the primary vector of onchocerciasis in Ecuador. Rev. Ecuat. Hig. Med. Trop. 35: 49-59.
- Rothfels, K.H. 1987. Cytological approaches to black fly taxonomy: 39-52. 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. 528 pp.
- Rothfels, K., Feraday, R. & A. Kaneps. 1978. A cytological description of sibling species of *Simulium venustum* and *S. verecundum* with standard maps for subgenus *Simulium* Davies (Diptera). Can. J. Zool., 56: 1110-1128.
- Wygodzinsky, P. & S. Coscarón. 1982. Description of three unusual species of the black fly subgenus *Simulium* (*Ectemnaspsis*) from the Andes of Colombia (Diptera: Simuliidae). Am. Mus. Nov. (2736): 1-13.
- _____. 1989. Revision of the black fly genus *Gigantodax* (Diptera: Simuliidae). Bull. Am. Mus. Nat. Hist. (189). 269 pp.