

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES  
ESCUELA DE BIOLOGÍA

**Caracterización de los Cromosomas Politénicos de una nueva especie de  
*Drosophila* perteneciente al grupo *mesophragmatica*.**

Disertación previa a la obtención del título de Licenciado en Ciencias Biológicas

STEPHANIE ANDREA SALAS IGLESIAS

Quito, 2011

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Biológicas de la candidata Stephanie Andrea Salas Iglesias ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Mst. Ana Beatriz Mafla Mantilla

Directora de la disertación

Quito, 22 de agosto del 2011

**Para mis maestros y ángeles de amor**

**Mis padres Patricio y Myriam**

**y**

**Mi hermana Mayra**

## AGRADECIMIENTOS

Quisiera dedicar todo mi esfuerzo y constancia a las personas que han estado a mi lado en cada momento de mi vida y que con su amor y ejemplo han contribuido en mi formación tanto personal como profesional.

A mis queridos padres, por ser el mayor ejemplo de amor y abnegación, gracias por su apoyo y por ser cada uno mis mejores guías de temple, carácter y sobretodo de humildad y constancia.

A mi hermana Mayra, el mayor regalo que Dios me pudo dar, gracias por tu amistad, fidelidad y sobretodo por tu apoyo en cada momento. Gracias por ser un pilar y ejemplo.

A mi abuelita Beatriz, el mayor ejemplo de humildad y amor, gracias por ser un ente importante y por haber marcado mi vida de una manera positiva.

A la Mst. Ana Beatriz Mafla, mi directora de tesis, gracias por haber compartido conmigo su experiencia y conocimientos durante el desarrollo de esta investigación, gracias por la paciencia y amistad.

A la Dra. Violeta Rafael, por brindarme su confianza y su ayuda para el desarrollo de mi proyecto de tesis.

Al Máster Jaime Jaramillo, gracias por sus consejos y apoyo, siempre lo recordaré como el amigo y profesor que marcó una etapa muy importante de mi vida.

A Santi, por haber compartido cada momento importante de mi vida. Gracias por tu paciencia, apoyo, amor y comprensión.

A mis queridas amigas de carrera Lucecilla, Rosita, Andrés, Tania, Janice, gracias por su alegría y por hacer de todo este tiempo un momento especial en mi vida.

A mis amigas de Laboratorio Kari, Mabe, gracias por su apoyo y amistad. Y a todos los que forman parte del Laboratorio 114.

A mis amigos Cristian, Cristina, Elena, Vini, Marcos, Gaby, por su amistad de tantos años, por ser parte importante de mi vida.

A todas las personas que han estado en todo el transcurso de mi tesis, a mis tíos y tías.

Finalmente, un profundo agradecimiento a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, a la Dra. Laura Arcos, Decana de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y a la Mst. Mercedes Rodríguez, Directora de la Escuela de Biología, por haberme permitido realizar mi proyecto de tesis de licenciatura.

A todos ellos muchas gracias.

**TABLA DE CONTENIDOS**

<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>V</b>
<b>TABLA DE CONTENIDOS</b>	<b>VII</b>
<b>FIGURAS</b>	<b>IX</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>X</b>
<b>1. RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>2. ABSTRACT</b>	<b>2</b>
<b>3. INTRODUCCIÓN</b>	<b>3</b>
<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>14</b>
<b>4.1. MATERIAL BIOLÓGICO</b>	<b>14</b>
<b>4.2. UNIDADES EXPERIMENTALES</b>	<b>14</b>
<b>4.3. PREPARACIONES CROMOSÓMICAS</b>	<b>14</b>
<b>4.3.1. LAVADO DE LARVAS</b>	<b>15</b>
<b>4.3.2. DISECCIÓN DE LARVAS</b>	<b>15</b>
<b>4.3.3. TINCIÓN</b>	<b>16</b>
<b>4.3.4. LAVADO DE GLÁNDULAS</b>	<b>16</b>
<b>4.3.5. APLASTADO “SQUASH”</b>	<b>16</b>
<b>4.4. FOTOGRAFÍA</b>	<b>17</b>
<b>4.5. MAPA CITOLÓGICO</b>	<b>18</b>
<b>4.5.1. CONSTRUCCIÓN DEL MAPA CITOLÓGICO</b>	<b>18</b>
<b>4.5.2. NOMINACIÓN DE LA SECUENCIA CROMOSÓMICA</b>	<b>19</b>
<b>4.5.3. DESCRIPCIÓN DE LOS CROMOSOMAS</b>	<b>20</b>

<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>22</b>
<b>5.1. MUESTRA POBLACIONAL DE LA NUEVA ESPECIE</b>	<b>22</b>
<b>5.2. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS CROMOSOMAS POLITÉNICOS</b>	<b>22</b>
<b>5.3. DESCRIPCIÓN DE LOS CROMOSOMAS</b>	<b>24</b>
5.3.1. CROMOSOMA X	24
5.3.2. CROMOSOMA II	29
5.3.3. CROMOSOMA III	36
5.3.4. CROMOSOMA IVR (brazo derecho del cromosoma IV)	43
5.3.5. CROMOSOMA IVL (brazo izquierdo del cromosoma IV)	50
5.3.6. CROMOSOMA V	57
<b>5.4. COMPARACIÓN ENTRE LAS SECUENCIAS DE BANDAS DE LA NUEVA ESPECIE Y <i>Drosophila pavani</i></b>	<b>58</b>
<b>6. RECOMENDACIONES</b>	<b>60</b>
<b>7. LITERATURA CITADA</b>	<b>61</b>
<b>8. FIGURAS</b>	<b>69</b>
<b>9. ANEXOS</b>	<b>81</b>

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Nueva especie: a. ♂ Vista dorsal. b. ♂ Vista lateral. c. ♀ Vista lateral. d. ♀ Vista dorsal (Fotos tomadas con estereomicroscopio Zeiss. Discovery. V8). **70**
- Figura 2.** Mapa del Ecuador donde resalta la Provincia de Imbabura. La localidad de Chorlaví (0°21'30"S 78°10'42"W) está representada por el punto verde (Realizado por Luis Cárdenas, 2011; Ilustrado por Stephanie Salas, 2011). **71**
- Figura 3.** Dos núcleos de los cromosomas politénicos. A. Se observa uno de los seis brazos cromosómicos (V), y el Cromocentro (C). B. Se observan los cinco brazos cromosómicos restantes. **72**
- Figura 4.** Cromosoma X: (*D. p.*) *Drosophila pavani* (secuencia estándar del grupo *mesophragmatica*), (*N. sp.*) Nueva especie, (C) Cromocentro. **73**
- Figura 5.** Cromosoma II: (*D. p.*) *Drosophila pavani* (Secuencia estándar del grupo *mesophragmatica*), (*N. sp.*) Nueva especie, (C) Cromocentro. **74**
- Figura 6.** Cromosoma III: (*D. p.*) *Drosophila pavani* (Secuencia estándar del grupo *mesophragmatica*), (*N. sp.*) Nueva especie, (C) Cromocentro. **75**
- Figura 7.** Cromosoma IVR: (*D. p.*) *Drosophila pavani* (Secuencia estándar del grupo *mesophragmatica*), (*N. sp.*) Nueva especie con la inversión 4e, (C) Cromocentro. **76**
- Figura 8.** Cromosoma IVL: (*D. p.*) *Drosophila pavani* (Secuencia estándar del grupo *mesophragmatica*), (*N. sp.*) Nueva especie, (C) Cromocentro. **77**
- Figura 9.** Cromosoma V: (*D. p.*) *Drosophila pavani* (Secuencia estándar del grupo *mesophragmatica*), (*N. sp.*) Nueva especie, (C) Cromocentro. **78**
- Figura 10.** Inversiones encontradas en el brazo derecho del cromosoma IV entre los híbridos (*D. gaucha* y *Drosophila mesophragmatica*) (Tomado de Brncic, 1957a: página 4); 4e: posible inversión terminal compartida por las especies miembros del grupo *mesophragmatica* (Wasserman, 1982). **79**
- Figura 11.** Inversión 4e: (*N. sp.*) Nueva especie; presenta la inversión entre la (sección 77-78) de la (región E) del cromosoma IVR; (*D. p.*) *Drosophila pavani* (Secuencia estándar para el grupo *mesophragmatica*), muestra la misma secuencia de bandas que la nueva especie (*N. sp.*) entre la (sección 77-78); (*D. r.*) *Drosophila repleta* presenta una secuencia de bandas invertidas al compararle tanto con la nueva especie como con *D. pavani* entre la (sección A, subsección 3 y 4) (Nomenclatura empleada por Wharton, 1942). **80**



## LISTA DE ANEXOS

- Anexo 1.** Cromosomas de las glándulas salivales de *D. pavani* (secuencia estándar del grupo *mesophragmatica* (Tomado de Brncic, 1957a: página 4). **82**
- Anexo 2.** Secuencia estándar del grupo *repleta* (Tomado de Wharton, 1942). El recuadro muestra el cromosoma 4 de *D. repleta* correspondiente al cromosoma IVR de *D. pavani* y de la nueva especie. Región punteada entre las subsecciones 3 y 4, corresponde a la secuencia invertida encontrada tanto en la nueva especie como en *D. pavani*. **83**

## 1. RESUMEN

El mapa citológico de la nueva especie recolectada en la Provincia de Imbabura en la localidad de Chorlaví perteneciente al grupo *mesophragmatica*, es un aporte al conocimiento de las nuevas especies ecuatorianas de *Drosophila*.

En este trabajo se mantiene la nomenclatura propuesta por Brncic (1957a) en sus estudios previos de especies del grupo *mesophragmatica* de Chile, Argentina, Brasil, Bolivia, Uruguay, Perú, y se regionalizan las secciones de los cromosomas; lo cual permite una descripción más detallada de cada segmento cromosómico.

En el análisis cromosómico se observa que la secuencia de bandas de la nueva especie, es semejante a la secuencia de bandas de la especie considerada como estándar (*Drosophila pavani*) para el grupo *mesophragmatica*.

En esta investigación se registra la inversión 4e mencionada por Wasserman (Krimbas y Powell, 1982); la cual se sugiere corresponde a la sección 77-78 de la región E del cromosoma IVR como compartida por las especies miembros del grupo *mesophragmatica*.

**Palabras clave:** nueva especie, grupo *mesophragmatica*, cromosomas politénicos, inversión 4e.

## 2. ABSTRACT

The cytological map of the *mesophragmatica* group new species, were collected in Imbabura's Province in the locality of Chorlaví. It is a contribution to the knowledge of *Drosophila*'s new Ecuadorian species.

In this work we kept the nomenclature proposed by Brncic (1957a) in his previous studies of species of the *mesophragmatica* group of Chile, Argentina, Brasil, Bolivia, Uruguay, Perú. We propose to regionalize the chromosomes sections; which allows a more detailed description of every chromosomal segment.

In the chromosomal analysis is observed that the sequence of bands of new species is similar to the sequence of bands in species considered as standard (*Drosophila pavani*) for the *mesophragmatica* group.

In this investigation an inversion 4e is registered; which is mentioned by Wasserman (Krimbas y Powell, 1982). This inversion is suggested corresponds to section 77-78 of region E of the chromosome IVR as shared by the species members of the *mesophragmatica* group.

**Key words:** new species, *mesophragmatica* group, polytene chromosomes, inversion 4e.

### 3. INTRODUCCIÓN

La familia Drosophilidae (Díptera) incluye alrededor de 3300 especies descritas y se divide en dos subfamilias: Steganinae y Drosophilinae. La subfamilia Drosophilinae contiene 38 géneros, uno de ellos es el género *Drosophila* formado por 15 subgéneros (Powell, 1997) (Markow y O'Grady, 2008). Según Lizandra *et al.*, (2010), el subgénero *Drosophila* es el más grande; este comprende alrededor de 730 especies descritas, lo cual correspondería a más de la mitad del número total de Drosofilas descritas hasta el momento. Por su parte, Markow y O'Grady (2008) basándose en estudios previos de Throckmorton (1975) proponen subdividir al subgénero *Drosophila* en tres linajes mayores: la radiación *immigrans-tripunctata*, la radiación *virilis-repleta* y la radiación Hawaiana (Lizandra *et al.*, 2010). La radiación *virilis-repleta* incluye a dos secciones; la sección *virilis* con los grupos de especies: *melanica*, *virilis*, *peruviana*, *robusta*, *mesophragmatica* y la sección *repleta* conformada por los grupos: *castanea*, *canalineae*, *dreyfusi*, *aureata* y *repleta* (Wasserman, 1982a, 1982b).

El grupo *mesophragmatica* descrito por Brncic and Koref-Santibañez (1957a), pertenece a la radiación *virilis-repleta* (sección *virilis*) (Robe *et al.*, 2005; Throckmorton, 1975). Este grupo se habría originado hace aproximadamente 3.7 Ma en la época del Plioceno, se conoce que la mayor radiación dentro del grupo se llevó a cabo en la época del Pleistoceno lo cual se caracterizó por las grandes oscilaciones climáticas, incluyendo eventos de glaciación (Mota *et al.*, 2008).

En Ecuador, los estudios de diversidad en el género *Drosophila* empezaron en el año 1987 y gracias a investigaciones llevadas a cabo por Arcos, G (1989), Rafael y Arcos

(1988, 1989), Rafael *et al.*, (2000a, b), Rafael y Vela (2003), Vela y Rafael (2001, 2003, 2004 a, b, 2005a, b), Acurio *et al.*, (2002), Rafael (2007), y Acurio (2007), se ha podido reportar la presencia de nuevas especies en las diferentes provincias del Ecuador. Tal es el caso de las especies pertenecientes al grupo *mesophragmatica*; las cuales han sido registradas en los Andes Ecuatorianos, en las quebradas y precipicios húmedos de los valles interandinos. Por ejemplo: *D. gasici* ha sido encontrada en la Provincia de Pichincha; *D. mesophragmatica* en Chimborazo, Cotopaxi, Loja, Pichincha y Tungurahua; *D. gaucha* y *D. pavani* en la Provincia de Pichincha. Por lo que se afirma que Ecuador posee cerca del 50% de las especies pertenecientes al grupo *mesophragmatica* (Rafael y Vela, 2000).

Recientemente en el año 2004; Vela y Rafael, han descubierto tres nuevas especies pertenecientes al grupo *mesophragmatica* (*Drosophila amaguana*; *Drosophila shyri* y *Drosophila ruminahuii*) en el Bosque Protector Pasochoa localizado en la Provincia de Pichincha- Ecuador, 35 Km al sur de la ciudad de Quito (0°28'S, 78° 29'O); lo cual ha permitido realizar estudios ecológicos y de diversidad genética. Así mismo, en la Provincia de Imbabura se han realizado colectas, encontrando otra nueva especie perteneciente al grupo *mesophragmatica* en la localidad de Chorlaví (0°21'30"S 78°10'42"W, 2200m de altitud); la cual es objeto del presente estudio. Se cree que esta nueva especie pertenece al grupo *mesophragmatica* por compartir características morfológicas, entre las que se conoce: formas cafés, arista con 7 ramas, carina prominente ligeramente surcada, tórax muy polinoso, forma del falo triangular con los bordes quitinizados, apodema poco quitinizado (Céspedes y Rafael, 2011) (Fig. 1).

Se han realizado varios estudios morfológicos, de aislamiento reproductivo y comparación entre cromosomas con especies del grupo *mesophragmatica*. Tras estos estudios, Brncic & Koref-Santibañez (1957a, b) presentaron una clave, basada en

características morfológicas externas, que permite la identificación de tres subgrupos. El primer subgrupo con una especie con cerdas escutelares anteriores convergentes (*D. viracochi*). El segundo subgrupo con tres especies oscuras con cerdas escutelares anteriores divergentes (*D. mesophragmatica*, *D. orkui* y *D. altiplanica*). El tercer subgrupo compuesto de dos especies de color café claro con cerdas escutelares anteriores divergentes (*D. pavani* y *D. gaucha*). Un año más tarde, Nacrur (1958) basándose en la dirección de cerdas escutelares basales propone el dividir a las seis especies pertenecientes al grupo *mesophragmatica* en dos subgrupos: el subgrupo “a” (con cerdas escutelares basales divergentes) y el subgrupo “b” (con cerdas escutelares basales convergentes). En el 2004; Vela & Rafael aceptan la propuesta antes mencionada por Nacrur (1958) y adicionalmente reconocen y renombran los dos subgrupos como: subgrupo *viracochi* que abarcaba a *D. viracochi* y *D. ruminahuii* (nueva especie ecuatoriana) y el subgrupo *mesophragmatica* con las once especies restantes: *D. altiplanica*, *D. brncici*, *D. gasici* (especie recientemente incluida en el grupo), *D. gaucha*, *D. mesophragmatica*, *D. orkui*, *D. pavani*, *D. amaguana* sp. nov. (nueva especie ecuatoriana), *D. canescens* (Duda, 1927), *D. camaronensis* (recientemente añadida al grupo por Vilela & Bachli, 2002), *D. shyri* (nueva especie ecuatoriana) (Vela y Rafael, 2004). Sin embargo, los estudios citológicos realizados por Brncic *et al.*, (1971); así como los estudios de isoenzimas realizados por Nair *et al.*, (1971) y los estudios moleculares usando marcadores nucleares y mitocondriales llevados a cabo por Mota y colaboradores (2008), coinciden en dividir al grupo *mesophragmatica* en tres linajes. Un linaje compuesto por *D. viracochi*, el segundo linaje por *D. pavani*, *D. gaucha* y el tercero por *D. gasici*, *D. brncici* y *D. mesophragmatica*. Cabe mencionar que este estudio concuerda en gran parte con las observaciones de Brncic y Koref-Santibañez (1957a) y con la propuesta de Nacrur (1958) en cuanto a la agrupación de las especies basándose en sus

características externas. Lo expuesto anteriormente demuestra que las relaciones filogenéticas en el grupo *mesophragmatica* aún no están claras (Vela y Rafael, 2004).

Las relaciones filogenéticas entre las especies del grupo *mesophragmatica* (*D. gaucha*, *D. pavani*, *D. viracochi*, *D. gasici*, *D. brncici*, *D. mesophragmatica*, *D. altiplanica* y *D. orkui*) estudiadas por Brncic y Koref-Santibañez (1957a, b); Brncic (1958); Brncic *et al.*, (1971) fueron propuestas basándose en características morfológicas, aislamiento reproductivo y comparación entre cromosomas. Ellos observan que las especies del grupo *mesophragmatica* son morfológicamente muy parecidas y se conoce que *D. gaucha* y *D. pavani* son especies hermanas (Koref-Santibañez, 1964). *D. pavani* representa una de las especies endémicas más dominante del género y ha sido encontrada en Chile y al este de los Andes en Argentina, donde se sobrelapa con la distribución de *D. gaucha* en San Luis (Brncic 1957a, 1958). Por el contrario, la especie más distribuida es *D. gaucha* la cual ha sido encontrada al sur de Brasil, Bolivia, Uruguay, Perú y Argentina (Brncic, 1958); *D. mesophragmatica* se encuentra en Bolivia, Perú y Colombia (Brncic, 1958; Hunter y Hunter, 1964) (Rafael y Acurio, 2009); *D. altiplanica* ha sido reportada en Bolivia (Brncic y Koref-Santibañez, 1957b); *D. viracochi* se la ha encontrado en Perú, Bolivia y en Colombia esta se sobrelapa con la distribución de *D. mesophragmatica* (Brncic *et al.*, 1971); *D. gasici* se ubica en Colombia, Chile y Argentina (Brncic *et al.*, 1971); *D. orkui* en Perú (Brncic y Koref-Santibañez, 1957b); y *D. brncici* ha sido reportada en Colombia (Hunter y Hunter, 1964).

De las muchas características que hacen a *Drosophila* un organismo modelo cabe recalcar la existencia de los cromosomas politénicos en las glándulas salivales; los cuales se forman como consecuencia del proceso de endoreduplicación (es decir, las células ya no se dividen más y comienzan a aumentar de tamaño) (Kress, 1996), formando

cromosomas hasta 100 veces más gruesos y más largos que los cromosomas típicos (Strickberger, 1978).

Adicionalmente, los cromosomas politénicos muestran un patrón de bandas transversales que resultan de la variación en la compactación de la cromatina. El patrón de bandeo de los cromosomas politénicos es específico de cada especie. Los cromosomas politénicos de *Drosophila* contienen alrededor de 5000 bandas. La homología de bandas se establece únicamente entre especies hermanas. En especies distantemente relacionadas, los rearrreglos cromosómicos hacen que el patrón de bandeo cambie (Gunderina *et al.*, 2004). Otra característica importante de los cromosomas politénicos es la eucromatina, la cual constituye el 70 por ciento del genoma de *Drosophila* y se encuentra altamente replicado en el núcleo de las glándulas salivales formando bandas de los cromosomas politénicos. La heterocromatina puede ser de dos clases:  $\alpha$  y  $\beta$  heterocromatina (Zhang y Spradling, 1994; Hartl y Lozovskaya, 1995; González, 2002). La  $\alpha$  heterocromatina está formada por DNA satélite (secuencias cortas altamente repetitivas) que no se transcribe; esta heterocromatina no politeniza en el proceso de endoreduplicación, y se encuentra presente en la región proximal al centrómero del cromosoma X y en la totalidad del cromosoma Y, en las regiones pericentroméricas de los autosomas, en los telómeros y en el cromocentro (Berghella y Dimitri, 1996; Zhang y Spradling, 1994; González, 2002). La  $\beta$  heterocromatina, se encuentra principalmente en las regiones de transición entre la eucromatina y heterocromatina (Koryakov *et al.*, 1999) formando parte de la región próxima al cromocentro, siendo difusa al momento de la tinción. Henning (1999) propone un nuevo concepto de heterocromatina que incluiría cualquier región de la cromatina en la que se produzca una represión de la transcripción. La heterocromatina sería por tanto un estado funcionalmente inactivo de la cromatina resultante de su compactación.



Igualmente, a lo largo del desarrollo determinadas bandas de los cromosomas politénicos pueden cambiar su morfología adquiriendo un aspecto más o menos difuminado o abultado denominado puff; éstos se forman por desenrollamiento de la cromatina correspondiente a los cromómeros. Por lo que en la mayoría de los casos cada puff se origina a partir de una sola banda y su interbanda adyacente (Pelling, 1972). El tamaño de los puffs es muy variable, pudiéndose observar desde muy pequeños hasta muy grandes. El significado genético de los puffs es representar la expresión de los genes; es decir la transcripción puesto que se ha demostrado que existe una relación entre la presencia o ausencia del puff y la actividad o inactividad génica (Lacadena, 1996).

Los telómeros por su parte permiten la identificación de los elementos cromosómicos y su importancia biológica se muestra en varias funciones como:

- a) prevenir pérdidas de material genético cerca de los extremos finales del cromosoma;
- b) proteger los extremos de los cromosomas; c) prevenir el ataque por nucleasas;
- d) estabilizar a los cromosomas; e) protegerlos de una degradación y recombinación (Biermann, 1997).

Adicionalmente; Murray (1990) acota que los telómeros existen para resolver dos problemas: ellos deben permitir la completa replicación de los extremos finales de los cromosomas y prevenir que los extremos de los mismos se fusionen entre ellos o que interactúen con regiones internas de los cromosomas.

En lo relacionado a cromosomas politénicos, éstos son similares en los miembros del grupo *mesophragmatica* son similares (*D. mesophragmatica*, *D. orkui*, *D. viracochi*, *D. altiplanica*, *D. gaucha* y *D. pavani*, *D. brncici* y *D. gasici*); presentan 5 brazos largos de eucromatina los cuales convergen en un cromocentro heterocromático en el que está embebido el cromosoma puntiforme (Brncic y Koref-Santibañez, 1957a; Brncic *et al.*,

1971). Tras la técnica del aplastado, se observa frecuentemente dos de las barras de los cromosomas politénicos del cromosoma IV (cromosoma IVR Y IVL) unidas en su parte basal; con lo que se cree que estas cadenas representan los brazos del cromosoma mitótico en forma de V (Brcic, 1957b). Tras varias mediciones de los cromosomas; Brcic añade que en *D. pavani* el cromosoma más largo es el II, seguido por el cromosoma III, brazo derecho del cromosoma IV, brazo izquierdo del cromosoma IV, cromosoma X y cromosoma V (siendo el brazo derecho e izquierdo del cromosoma IV de tamaños iguales) (Brcic, 1957a).

Por sus características estructurales, los cromosomas politénicos son importantes en estudios taxonómicos y filogenéticos; ya que permiten inferir el grado de relación entre las especies (O'Grady, 2001); estas relaciones han sido estudiadas mediante la comparación de bandas de los cromosomas politénicos. En la práctica, una especie es seleccionada de un grupo de especies como la estándar y las demás especies son comparadas con la misma para determinar las similitudes en el orden de genes y establecer los rearrreglos cromosómicos y con ellos las relaciones entre grupos de especies.

Los tipos de cambios más frecuentes en cuanto a rearrreglos cromosómicos en el género *Drosophila* son las inversiones. Las cuales son el resultado de dos roturas independientes y simultáneas del cromosoma y la unión de los extremos en una orientación invertida respecto a las regiones flanqueantes (Krimbas y Powell, 1992). Las especies difieren en el número, posición, tamaño y frecuencia de las inversiones. Dichas diferencias, pueden estar muchas veces correlacionadas con la distribución, abundancia, y otras características ecológicas de la población; al igual que por las propiedades fisiológicas de las inversiones (Brcic y Koref-Santibañez, 1963). Las inversiones cromosómicas de tipo paracéntricas han permitido llegar a determinar las relaciones filogenéticas entre las especies; más no de su ancestro, es decir no la dirección de la evolución. Para esto se

utiliza el criterio de “Asunción Básica”, el cual dice que los cambios citológicos, más específicamente las inversiones, pueden ser tratadas como eventos únicos, y si dos taxa poseen la misma inversión están más cercanamente relacionados entre estos que con otro taxón que carece de dicha inversión (Krimbas y Powell, 1995).

Sin embargo, algunas especies de *Drosophila* ampliamente distribuidas y aparentemente bien adaptadas, exhiben pocas inversiones o bien, no las poseen. Esto puede deberse a que cada especie tiene sus propios recursos de adaptación al medio ambiente. Es decir; cada organismo tiene un sistema genético único, que no siempre pueden ser comparados con aquellos exhibidos por otros. Para entender el origen y el significado de todos estos tipos de mecanismos adaptativos es necesario el estudio comparativo de la estructura cromosómica de diferentes especies ajustadas a variados medios ambientes (Brncic, 1958)

Estudios realizados por Brncic (1958), Brncic *et al.*, (1971) y Nair *et al.*, (1971) reportan la presencia de inversiones en casi todos los miembros del grupo *mesophragmatica*, salvo en los casos de: *Drosophila gaucha* localizada en Brasil, Argentina, Bolivia y Uruguay; *D. altiplanica* de Bolivia y *D. viracochi* de Perú (Brncic, 1957b) no presentaron inversiones. Adicionalmente, Brncic menciona que *D. pavani* encontrada en Chile y Argentina presenta dos inversiones en el cromosoma II, nominadas como A+B; tres inversiones sobrelapadas en el brazo derecho del cromosoma IVR denominadas como el complejo A+B+C y tres inversiones sobrelapadas en el brazo izquierdo del cromosoma IVL nombradas como A+B+C (Brncic, 1957a). Además, encontró que *Drosophila mesophragmatica* localizada en Perú y Bolivia, presenta la inversión A en el cromosoma III; más tres inversiones en el brazo izquierdo del cuarto cromosoma denominadas como A+B+C (Brncic, 1957b). *D. orkui* de Perú, por su parte

presenta tres inversiones en el cromosoma II denominadas como A, B, C y dos inversiones en el cromosoma III denominadas como A, B (Brncic, 1957a).

Por otra parte; Wasserman (Krimbas y Powell, 1982) menciona que tanto *D. pavani* como los demás miembros del grupo *mesophragmatica* poseen una inversión terminal en el cromosoma IV denominada 4e; la cual se cree es compartida por otros grupos como *canalinae*, *dreyfusi*, y *aureata*. Cabe mencionar que Wasserman únicamente señala que ésta inversión se encuentra en la parte terminal del cromosoma IV; más no indica la sección, ni la secuencia de bandas.

Igualmente; Wasserman y Brncic acotan características en común entre las especies del grupo *repleta* con las especies del grupo *mesophragmatica*; como por ejemplo: ambos grupos poseen numerosas especies (muchas de las cuales son endémicas y aparentemente adaptadas a ciertos ambientes especializados) y semejanzas entre la estructura de bandas de los cromosomas politénicos (Brncic, 1958).

El sistema de nominación de los elementos cromosómicos es sin duda un aspecto importante en lo relacionado a la descripción de los cromosomas. Tal es el caso del sistema usado por Bridges (1935) uno de los pioneros en cuanto a investigaciones sobre *Drosophila melanogaster*, quien trabajó en la publicación del mapa genético de los cromosomas politénicos de *Drosophila* (Novitski, 2006) y propuso una nomenclatura alfanumérica que consiste de 102 divisiones; donde cada brazo es dividido en 20 unidades numéricas y cada una de estas en seis subunidades desde la A hasta la F. Es así, como sus estudios son considerados como una importante herramienta genética para el mapeo de genes, para detectar la diversidad genética dentro de las poblaciones y para inferir filogenias entre especies relacionadas (Schaeffer *et al.*, 2008).

Usando a *D. melanogaster* como referencia, Muller (1940) propuso que cada uno de los cinco brazos cromosómicos; más el cromosoma puntiforme se les asigne una letra

desde la A-F y que esta nomenclatura sea usada para identificar relaciones entre grupos dentro del género.

Wasserman (1963) por otra parte, propone una nomenclatura para reconocer inversiones la cual consiste de un nombre binario en el que por un lado se indica el cromosoma en el cual se encuentra la inversión (X,2,3,4,5) y por el otro se especifica la inversión nombrándola con letras minúsculas del alfabeto (a,b,c,d,m) (Wasserman, 1963).

Al parecer, Brncic (1957a) se basa en la nomenclatura propuesta por Bridges (1935); porque sectoriza a los cromosomas de la especie *D. pavani* (considerada como estándar en el grupo *mesophragmatica*) en secciones arbitrarias (1 hasta el 100), numeradas desde la sección proximal al cromocentro hacia la parte distal o telomérica. El cromosoma X posee 16 secciones comprendidas desde la 1 hasta la sección 16; el cromosoma II posee 23 secciones numeradas desde la 17 hasta la sección 39; el cromosoma III cuenta con 20 secciones numeradas desde la sección 40 hasta la 59; el cromosoma IVR presenta 20 secciones que comprende desde la sección 60 hasta la 79; el cromosoma IVL muestra 20 secciones desde la 80 a la 99; finalmente el cromosoma V con una sola sección: 100. Cabe mencionar, que la diferencia entre la nomenclatura propuesta por Brncic (1957a) para el grupo *mesophragmatica* y la de Bridges (1935) para *D. melanogaster* radica en que Brncic divide a cada brazo cromosómico en secciones; pero no las subdivide en subsecciones.

Es así, que las diferentes nomenclaturas propuestas en cada grupo, conducen a varias inconsistencias en cuanto a las divisiones de los mapas citogenéticos tanto en secciones como en subsecciones como lo propuso Bridges (1935). Así; en algunas especies, el mapa cromosómico es dividido en secciones, pero no todas las secciones son divididas en subsecciones (Schaeffer *et al.*, 2008). Este es el motivo por el que en el

presente estudio se conserva la nomenclatura propuesta por Brncic (1957a) y adicionalmente se propone el agrupar a las secciones en regiones para una descripción más detallada de los cromosomas. Igualmente, se sugiere a la inversión 4e mencionada por Wasserman (Krimbas y Powell, 1982) como típica del grupo *mesophragmatica*.

Este análisis citológico de los cromosomas politénicos de las glándulas salivales y la construcción del mapa citológico de la nueva especie es el primer estudio citogenético de las nuevas especies ecuatorianas del grupo *mesophragmatica*.

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1 MATERIAL BIOLÓGICO**

Para la presente investigación se utilizó una cepa proveniente de 4 hembras y 3 machos capturadas en la naturaleza y cultivada por la Dra. Violeta Rafael; la misma que fue colectada por Figuero, M.L. en el año 2004 en la localidad de Chorlaví provincia de Imbabura: Ibarra (0°21'30"S 78°10'42"W, 2200m de altitud) (Fig. 2) y desde entonces se encuentra disponible en el laboratorio 114 de la PUCE.

Para su crianza se ha utilizado medio de cultivo de banano y gelatina, suplementado con levadura y trozos de banano.

### **4.2 UNIDADES EXPERIMENTALES**

En este estudio se tomaron al azar 10 frascos, y de cada uno de ellos se extrajeron cinco larvas de tercer estadio para ser disectadas. De cada larva se fotografiaron 7 núcleos; dando un total de 350 núcleos.

Se utilizaron las larvas de tercer estadio debido a su grado de politenización.

### **4.3 PREPARACIONES CROMOSÓMICAS**

Para la preparación de los cromosomas se utilizaron las glándulas salivales extraídas de las larvas del tercer estadio, las cuales fueron tratadas siguiendo el protocolo para la preparación de los cromosomas politénicos por aplastado ó "SQUASH" utilizado en el estudio de Morán (2001).

### **4.3.1 LAVADO DE LARVAS**

Es importante para obtener placas limpias, el lavado de las larvas. En este paso, las larvas deben ser extraídas del medio de cultivo con ayuda de una espátula o aguja de disección para luego ser transferidas a un porta objetos excavado que contenga agua destilada. Con la ayuda de una pinza se sostiene las larvas y se las agita suavemente con el fin de colocar agua destilada dos o tres veces consecutivas sobre las mismas para eliminar residuos adheridos como medio de cultivo, levadura o papel higiénico.

### **4.3.2 DISECCIÓN DE LARVAS**

La disección se realizó en un estereomicroscopio marca Olympus modelo SZ2-ILST.

Para la disección se coloca la larva en un porta objetos excavado con una gota de Ringer; se sujeta la larva por la mitad de su cuerpo usando una pinza entomológica (lo más fina posible) y con una aguja de disección se pincha la cabeza por la mitad de las mandíbulas. Se procede a tirar fuertemente el cuerpo de la larva con la pinza entomológica hasta que los órganos de la cabeza se liberen. De esta forma, se aíslan las dos glándulas salivales (translúcidas) que están pegadas a las mandíbulas. Las glándulas aparecen como dos bolsitas fusiformes, que presentan lateralmente una capa de grasa. Sobre el fondo negro del estereomicroscopio, las glándulas aparecen de color grisáceo y la grasa presenta un color blanco opaco.

Se separa el cuerpo graso y demás órganos que se encuentran adheridos a las glándulas con la ayuda de dos agujas de disección. Las glándulas salivales deben estar lo más limpias posible para obtener buenas preparaciones citológicas (Shorrocks, 1972).



### **4.3.3 TINCIÓN**

En un nuevo porta objetos se colocan las glándulas salivales y tres gotas de orceína acética 3% (Orceína BDH 3% diluida en ácido acético 70%) por un mínimo de 30 minutos.

Una vez teñidos los núcleos, se coloca una gota de aceto carmín 2% durante diez minutos con el fin de dar mayor definición a las interbandas; ya que el aceto carmín lava el exceso de orceína y tiñe las bandas más finas (Morán, 2001).

En ningún momento deben quedar secas las glándulas; para solucionar este problema es necesaria la adición de tinte con el fin de evitar la evaporación.

### **4.3.4 LAVADO DE GLÁNDULAS**

Se colocan dos gotas de ácido acético al 50% sobre las glándulas dando movimientos ondulatorios a la placa con el fin de eliminar el exceso de orceína, la cual es removida con la ayuda de papel filtro o papel absorbente. Luego se coloca una o dos gotas de ácido acético fresco al 50%.

### **4.3.5 APLASTADO “SQUASH”**

Las glándulas salivales son colocadas en el centro de el porta objetos (dispuestas una distante de la otra). Se deja caer el cubre objetos sobre la placa formando un ángulo de 45° evitando de esta manera la formación de burbujas.

Se cubre la placa en su totalidad con papel filtro y se procede a sostener con la yema de los dedos el cubre objetos con el propósito de evitar el deslizamiento del mismo. Utilizando la base de un esferográfico o la yema de los dedos se presiona el papel filtro que

envuelve el cubre objetos haciendo movimientos circulares sobre el sitio donde se han colocado las glándulas salivales.

La finalidad del aplastado (squash) es obtener la separación y extensión de los cromosomas. Se sella la placa colocando esmalte transparente alrededor del cubre objetos para evitar la evaporación y deshidratación del tejido. Las placas se las mantuvo a 4°C por un período máximo de 5 días, durante el que se realizan las observaciones.

#### **4.4 FOTOGRAFÍA**

Para fotografiar los cromosomas politénicos se utilizó un microscopio marca Zeiss Imager.A2 con cabezal para cámara digital marca Carl Zeiss, AxionCam MRc con Software Carl Zeiss AxioVision.

Las fotografías fueron tomadas con diferentes aumentos 40 x y 100x con el fin de visualizar la disposición de los brazos cromosómicos e identificar el patrón de bandas de los mismos. El programa (Axio Vision) posee opciones importantes para optimizar la calidad de las fotos; con el fin de dar contraste a las bandas, interbandas y telómeros de los cromosomas politénicos. El programa cuenta también con una escala incluida la cual fue de gran ayuda para tener un aproximado de la medida de los cromosomas. Finalmente, las fotografías fueron editadas en el programa Adobe Photo Shop.

Para el armado del mapa cromosómico es importante analizar los diferentes núcleos presentes en cada individuo con el fin de encontrar cromosomas estirados y claramente visibles. En caso de encontrar segmentos poco definidos o con ciertas torsiones, es importante buscar dicho segmento en otro cromosoma y reemplazarlo. Por lo que el mapa

cromosómico de la nueva especie no proviene únicamente de un solo individuo sino que constituye la unión de varios segmentos de diferentes núcleos e individuos.

## 4.5 MAPA CITOLÓGICO

El análisis cromosómico de la nueva especie fue realizado en distintas fases:

- 1) Construcción del mapa citológico
- 2) Nominación de la secuencia de bandas en los cromosomas de la nueva especie
- 3) Descripción de los cromosomas.

### 4.5.1. CONSTRUCCIÓN DEL MAPA CITOLÓGICO

Se llevó a cabo mediante la edición de las fotografías con el programa de computación Adobe Photo Shop (V. 8.0), el cual es sin duda una herramienta poderosa en lo que se refiere a software de edición de imágenes; pues tiene cientos de funciones y características para explotar. Una de ellas es ajustar el tamaño, forma, fondo y dar contraste/brillo a cada imagen. Además el programa consta de opciones para cortar y pegar los segmentos cromosómicos y construir un cromosoma completo.

Los segmentos cromosómicos se eligieron de una serie de fotografías y aquellos que presentaban mayor contraste de bandas y nitidez pasaron a formar parte del mapa en construcción. Para la descripción de cada cromosoma se utilizó en un principio los colores propios de la tinción con el fin de tener una mayor precisión en cuanto a número y apariencia de bandas. Finalmente, los colores se cambiaron a escala de grises para mayor uniformidad de contraste.

Como modelo para la construcción del mapa cromosómico de la nueva especie, se utilizó la secuencia de *Drosophila pavani* reportada por Brncic (1957a) (Anexo 1).

#### 4.5.2. NOMINACIÓN DE LA SECUENCIA CROMOSÓMICA

La nomenclatura utilizada para la descripción de los cromosomas de la nueva especie, es la propuesta por Brncic (1957a); la cual sectoriza a los cromosomas de la especie *D. pavani* en secciones arbitrarias (1 hasta el 100), numeradas desde la sección proximal (unida al cromocentro) hacia la parte distal. El cromosoma X posee 16 secciones comprendidas desde la 1 hasta la sección 16; el cromosoma II posee 23 secciones numeradas desde la 17 (próxima al cromocentro) hasta la sección 39; el cromosoma III cuenta con 20 secciones numeradas desde la sección 40 (próxima al cromocentro) hasta la 59; el cromosoma IVR (brazo derecho del cromosoma IV) presenta 20 secciones que comprende desde la sección 60 hasta la 79; el cromosoma IVL (brazo izquierdo del cromosoma IV) muestra 20 secciones siendo esta la sección más próxima al cromocentro y la 99 la más distal; finalmente el cromosoma V consta de la sección 100.

Como complemento, se agrupan varias secciones cromosómicas en regiones nominadas con letras mayúsculas que van desde la región A hasta la E. Cabe recalcar, que la letra A de cada cromosoma corresponde a la región más próxima al cromocentro.

Las diferentes regiones fueron definidas con puntos clave; es decir, corresponden a los lugares que brindan mayor información en cuanto al reconocimiento de las secciones de los cromosomas y que aportarán en la identificación de los mismos. La única excepción a dicha nomenclatura es la correspondiente al cromosoma X y V; ya que al tener tamaños pequeños (170  $\mu\text{m}$  y 9  $\mu\text{m}$  respectivamente) se les ha designado regiones más cortas: en el caso del cromosoma X desde la región A hasta la región D y el cromosoma V con sólo la sección 100.

Así por ejemplo: la sección C28 del cromosoma II nos remite a la sección 28 de la región C del cromosoma II.

En los preparados cromosómicos, se puede visualizar el grosor y tinción de las bandas. Por lo que para la descripción se tomará en cuenta la apariencia de las bandas; clasificándolas como: gruesas o delgadas; y en lo relacionado a la tinción (teñidas, medianamente teñidas, punteadas).

#### **4.5.3. DESCRIPCIÓN DE LOS CROMOSOMAS**

Para la descripción de los cromosomas, se considera en primera instancia la longitud. Para ello, se midió a cromosomas extendidos provenientes de ocho individuos. Cabe mencionar que de cada individuo se fotografiaron tres núcleos, es decir los que presentaban los cromosomas más teñidos y extendidos. En lo relacionado al cromosoma X, su media proviene de un promedio de dos núcleos (cada uno de diferente individuo); las medidas tanto del cromosoma II, como de los cromosomas IVR, IVL, y del cromosoma V, resultan cada uno de un promedio de tres núcleos. Por el contrario la media del cromosoma III procede de un solo núcleo. La poca cantidad de individuos tomados en cuenta para las mediciones de los cromosomas se debe a la dificultad de encontrar a todos los cromosomas extendidos y separados unos de otros. Es por esto, que consignamos una longitud relativa.

Por otra parte, ciertas marcas como: telómeros, puffs, bandas y constricciones son también utilizadas para la descripción de los cromosomas. En lo referente a los telómeros, éstos constituyen la pieza fundamental para la identificación de los elementos cromosómicos, ya que cada cromosoma posee un telómero de diferente forma. Por ejemplo el telómero del cromosoma X es el más característico ya que presenta una forma de “clavel”; por lo que es importante el familiarizarse con cada telómero antes de la descripción de cada segmento cromosómico.

El tamaño de los puffs es muy variable, observándose desde muy pequeños hasta muy grandes; y estos son utilizados como marcadores en la identificación de los segmentos cromosómicos.

Debido a que el patrón de bandeo que presentan los cromosomas politénicos es un reflejo constante de las secuencias de ADN, las bandas sirven como marcadores para localizar varias características genéticas como por ejemplo: deleciones, duplicaciones de bandas, translocaciones e inversiones (Lewis, 1954). Adicionalmente, el patrón de bandeo de cada cromosoma es único y característico; se pueden observar bandas más teñidas y de aspecto más grueso que otras (Fortino, 2005).

Las constricciones también cumplen un rol importante como marcadores en la identificación de los cromosomas, y estos por lo general se encuentran limitando las secciones de los cromosomas.

## **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **5.1. MUESTRA POBLACIONAL DE LA NUEVA ESPECIE**

De la cepa entregada en el año 2010 por la Dra. Violeta Rafael (4 hembras y 3 machos) se procedió a multiplicarla hasta obtener 10 frascos en óptimas condiciones para la extracción de las larvas (5 larvas provenientes de cada frasco). En total se fotografiaron 350 núcleos de 50 individuos; los cuales fueron utilizados para la construcción del mapa citológico de la nueva especie debido a su alta nitidez y contraste de bandas. Por lo que este mapa no proviene de un solo individuo sino que constituye la unión de varios segmentos de diferentes núcleos de diferentes individuos.

Cabe mencionar, que desde el mes de septiembre hasta febrero, la población se mantuvo saludable; más esto no se observó en los siguientes meses desde marzo hasta mayo donde la población disminuyó por la presencia de hongos. Sin embargo, desde el mes de Junio la población logró recuperarse y hoy se encuentra disponible en el Laboratorio 114 de la PUCE.

### **5.2. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS CROMOSOMAS POLITÉNICOS**

Uno de los aspectos importantes en cuanto al análisis de los cromosomas politénicos de la nueva especie es el cromocentro; el mismo que presenta un aspecto difuso y de él se despliegan los brazos cromosómicos (X, II, III, IVR, IVL, V) (Fig. 3).

Los telómeros no sólo permiten la identificación de los elementos cromosómicos; sino que se cree protegen y previenen pérdidas de material genético del cromosoma

(Biermann, 1997). En esta investigación; los telómeros sirven como marcadores para la identificación de cada cromosoma debido a que el extremo de cada elemento cromosómico posee una forma particular, por ejemplo: el cromosoma X presenta una forma típica de “clavel”.

El aspecto central en el análisis de los cromosomas politénicos de la nueva especie es la secuencia de bandas e interbandas; las primeras de alta intensidad en cuanto a la coloración y concentración de masa; las segundas con muy poca concentración de masa y coloración (Bedoya y Barrera, 1980). Se cree que la diferencia de grosor y tinción de las bandas es un reflejo de la variación en la compactación de la cromatina en ciertas áreas; así como de la estructura cromosómica.

En lo relacionado a la identificación de cada uno de los cromosomas, se puede mencionar lo siguiente:

Los cromosomas X, II y IVL son los más fáciles de identificar y analizar; ya que por lo general se encuentran extendidos y poseen telómeros claramente visibles.

El cromosoma V al ser el de menor tamaño se encuentra inmerso en el cromocentro por lo que la observación del mismo fue posible en pocas placas. Este cromosoma presenta un aspecto difuso a comparación de los demás elementos cromosómicos.

Por el contrario, la identificación de los cromosomas III y IVR es mucho más compleja; por cuanto los telómeros de ambos tienen apariencia similar y se los puede confundir. Sin embargo, se obtuvieron varias placas que muestran segmentos extendidos y con buena definición para la construcción del mapa de ambos cromosomas.



### 5.3 DESCRIPCIÓN DE LOS CROMOSOMAS

Para la descripción de los cromosomas, se consideran ciertos aspectos como: telómeros, secuencia de bandas e interbandas, puffs y constricciones. En general, los cromosomas de la nueva especie son muy similares a los cromosomas de *D. pavani* descritos por (Brncic, 1957a) (Anexo 1).

#### 5.3.1 CROMOSOMA X

El cromosoma X (Fig. 4), mide 170  $\mu\text{m}$ , no presenta inversiones ni rearrreglos cromosómicos. Las 16 secciones numeradas por Brncic (1957a) se agrupan en cuatro regiones (A, B, C, D).

Las principales características de cada región y sección se presentan a continuación

**Región A:** Es la porción próxima al cromocentro y comprende las 4 primeras secciones.

**Sección 1:** Comprende la parte que se une al cromocentro. Esta sección posee 10 bandas heteropicnóticas y 10 interbandas. La banda más próxima al cromocentro es gruesa y muy teñida; al igual que las dos bandas ubicadas en el centro de la sección. Por el contrario las siete restantes son bandas delgadas y medianamente teñidas. Las cuatro interbandas próximas a la sección 2 son delgadas y medianamente teñidas. Al igual que en la secuencia estándar (*D. pavani*), se observan las dos bandas heteropicnóticas en el centro de la sección, más la banda gruesa muy teñida cerca al cromocentro.

**Sección 2:** Posee 12 bandas e interbandas claramente identificables. En lo referente a las bandas, hay cinco bandas delgadas y continuas, seguidas de dos bandas gruesas y

muy teñidas ubicadas en el centro de la sección, más cinco bandas delgadas muy teñidas. Con respecto a las interbandas, estas son delgadas y medianamente teñidas. En comparación con la secuencia estándar, no se observa la ligera constricción que limita la sección 1 de la sección 2. Aunque, ambas secuencias comparten el mismo número de bandas e interbandas (12 respectivamente).

**Sección 3:** Tiene siete bandas heteropicnóticas y seis interbandas medianamente teñidas. La banda próxima a la sección 2 es delgada y poco teñida, seguida de una banda punteada gruesa muy teñida, más dos bandas delgadas y muy teñidas ubicadas en el centro de la sección. Las bandas restantes son medianamente teñidas. Con respecto a las interbandas, se encuentran entre las bandas heteropicnóticas. A diferencia de la secuencia estándar, la nueva especie no posee las dos bandas muy teñidas que forman una leve constricción entre la sección 2 y 3; sino que únicamente se observa una banda punteada. Igualmente, la nueva especie posee dos bandas heteropicnóticas en el medio de la sección; lo cual corresponde a las bandas punteadas observadas en *D. pavani*.

**Sección 4:** Posee ocho bandas heteropicnóticas delgadas y continuas, más nueve interbandas tanto gruesas como delgadas ligeramente opacas. Se observa que tanto la secuencia estándar (*D. pavani*) y la secuencia de la nueva especie son idénticas.

**Región B:** Formada por 4 secciones: desde la 5 hasta la sección 8.

**Sección 5:** Este segmento tiene siete bandas e interbandas. Las dos primeras bandas heteropicnóticas son delgadas y continuas, las dos siguientes presentan un aspecto muy tenue. Por el contrario la banda encontrada en el medio de la sección es delgada y medianamente teñida. Las dos bandas gruesas muy teñidas se encuentran próximas a la sección 6. En lo referente a las interbandas, éstas son opacas. A diferencia de la secuencia

estándar, este segmento no presenta la leve constricción entre la sección 4 y 5. Igualmente; las tres bandas punteadas observadas en *D. pavani*, son bandas opacas y de poco teñidas en la nueva especie.

**Sección 6:** Esta sección muestra cinco bandas muy teñidas y seis interbandas medianamente teñidas. Las tres primeras bandas heteropicnóticas son de apariencia punteada y algo tenues, la banda siguiente es punteada y medianamente teñida, seguida de una banda gruesa muy teñida. La secuencia estándar muestra a la sección 6 como una porción heterocromática la cual presenta únicamente dos bandas muy tenues. Por el contrario, la nueva especie presenta un mayor número de bandas e interbandas claramente observadas.

**Sección 7:** Segmento continuo que presenta cuatro bandas e interbandas heteropicnóticas. La primera banda es de apariencia gruesa y muy teñida, seguida de una banda tenue delgada. Igualmente se observa una banda delgada muy teñida en el medio de la sección, más una banda punteada gruesa heteropicnótica. Interbandas gruesas y delgadas son observadas; la interbanda más próxima a la sección 6 es de apariencia delgada y las tres interbandas restantes son gruesas. En comparación con la secuencia estándar, la nueva especie no presenta la leve constricción existente entre la sección 6 y 7. Adicionalmente, *D. pavani* presenta cuatro bandas punteadas. Por el contrario, en la nueva especie estas bandas se observan como una banda gruesa punteada hacia la sección 8.

**Sección 8:** Contiene cinco bandas heteropicnóticas gruesas y cuatro interbandas medianamente teñidas. En comparación con *D. pavani*, la nueva especie no posee la constricción entre la sección 7 y 8. Igualmente, las dos bandas gruesas encontradas en la mitad de la sección corresponden a las bandas punteadas observadas en la secuencia estándar.

**Región C:** Formada por 4 secciones: desde la 9 hasta la sección 12

**Sección 9:** Corresponde a un puff de apariencia redondeada y coloración tenue, se distinguen siete bandas heteropícnóticas punteadas, más siete interbandas opacas. En relación a *D. pavani*, la nueva especie presenta una mayor cantidad de bandas e interbandas. En la secuencia estándar únicamente se observan cuatro bandas, dos de las cuales son punteadas y se ubican en el centro de la sección, más dos bandas muy teñidas formando una constricción hacia la sección 8.

**Sección 10:** Se observa un puff grande y conspicuo con dos constricciones, una a cada lado del segmento. La sección presenta 10 bandas heteropícnóticas y 10 interbandas. La nueva especie presenta el mismo número de bandas e interbandas que la secuencia estándar.

**Sección 11:** Representa un segmento largo, de grosor homogéneo constituido por nueve bandas heteropícnóticas, más 10 interbandas. La banda más próxima a la sección 10 es medianamente teñida, seguida de dos bandas continuas muy teñidas. Adicionalmente, se presentan dos bandas delgadas heteropícnóticas en medio de la sección. Las cuatro bandas restantes corresponden a bandas delgadas; tres de las cuales son medianamente teñidas y la restante es delgada y muy teñida. Comparando con *D. pavani*, la nueva especie no posee la leve constricción entre la sección 11 y 12. Igualmente, las dos bandas delgadas muy teñidas observadas en la nueva especie corresponden a las dos bandas punteadas ubicadas en el medio de la sección de la secuencia estándar.

**Sección 12:** De grosor homogéneo con 11 bandas heteropícnóticas y 10 interbandas. Las dos primeras bandas son de aspecto grueso, muy teñidas y continuas, seguidas de dos bandas delgadas heteropícnóticas. Las dos bandas apreciables en medio de la sección son bandas gruesas heteropícnóticas. Seguidamente se presentan tres bandas dos

gruesas y una delgada. Las dos últimas bandas observadas son delgadas y poco teñidas. Comparando con la secuencia estándar, la nueva especie no posee la constricción que presenta *D. pavani* en medio de la sección. Adicionalmente, las bandas que limitan la sección 12 y 13 son continuas, mientras que en la secuencia estándar estas son punteadas.

**Región D:** Formada por 4 secciones: desde la 13 hasta la sección 16.

**Sección 13:** La constituye un puff con 10 bandas muy teñidas y 10 interbandas. Las dos primeras bandas heteropicnóticas son de apariencia gruesa, seguidas de dos bandas punteadas y tenues. Adicionalmente, se presentan cinco bandas punteadas (la primera muy teñida, más de tres bandas medianamente teñidas, y una banda heteropicnótica gruesa. La última banda observada es de aspecto tenue y punteada. La nueva especie coincide con la secuencia estándar en cuanto a la constricción observada entre la sección 12 y 13. Igualmente las dos bandas gruesas heteropicnóticas observadas entre la sección 12 y 13 es la misma en ambas secuencias. Por el contrario, el aspecto romboidal del puff en *D. pavani* contrasta con el redondo de la nueva especie.

**Sección 14:** Presenta 13 bandas heteropicnóticas (tres de las cuales son tenues y punteadas), más 12 interbandas. Las tres bandas heteropicnóticas observadas son delgadas y punteadas, mientras que las cinco restantes son delgadas y poco teñidas. Adicionalmente, se pueden apreciar tres bandas heteropicnóticas punteadas hacia la sección 15. Interbandas delgadas y gruesas se presentan entre las bandas heteropicnóticas. Al igual que la secuencia estándar, la nueva especie posee mayor cantidad de bandas punteadas en la sección; más una banda muy teñida en medio de la misma.

**Sección 15:** Presenta un grosor homogéneo con siete bandas e interbandas. Se observan cuatro bandas muy teñidas y continuas, más tres bandas (dos medianamente

teñidas y una banda punteada en medio de estas). La nueva especie comparte la misma secuencia de bandas que la secuencia estándar; salvo una banda extra ubicada en medio de las dos bandas delgadas situadas hacia la sección 16.

**Sección 16:** Esta sección, es la porción terminal y contiene un puff en forma de clavel. Se muestran 13 bandas heteropicnóticas y 14 interbandas. La primera banda es gruesa y muy teñida, seguida de siete bandas tenues. Las dos bandas continuas y delgadas forman la base del “clavel”, y le siguen tres bandas medianamente teñidas hacia la cabeza del telómero. A diferencia de *D. pavani*, la nueva especie presenta bandas finas que corresponden a las bandas punteadas de la secuencia estándar. Igualmente, la secuencia estándar muestra en la base del telómero dos bandas muy teñidas separadas la una de la otra; lo que corresponde a las dos bandas continuas muy teñidas observadas en la nueva especie.

### 5.3.2 CROMOSOMA II

El cromosoma II (Fig. 5), mide 220  $\mu\text{m}$ ; no presenta inversiones ni rearrreglos cromosómicos. Las 23 secciones numeradas por Brncic (1957a) se agrupan en cinco regiones (identificados con literales de la A a la E).

Las principales características de cada región y sección se presentan a continuación:

**Región A:** Constituida por 4 secciones numeradas desde la sección 17 (cerca al cromocentro) hasta la sección 20.

**Sección 17:** Formada por 13 bandas heteropicnóticas y 14 interbandas, las dos bandas más próximas al cromocentro son anchas y muy teñidas, mientras que las 11

restantes son delgadas y continuas. Comparando ambas secuencias se observa que son similares.

**Sección 18:** Comprende nueve bandas y ocho interbandas; seguido de un puff conspicuo, el cual está constituido de siete bandas e interbandas. Las nueve bandas delgadas son continuas y poco teñidas. Igualmente, las bandas observadas en el puff son delgadas. Comparando la nueva especie con la secuencia estándar, se observa que la nueva especie presenta un puff conspicuo no observado en *D. pavani*.

**Sección 19:** Se observa un puff poco teñido constituido por nueve bandas e interbandas. Adicionalmente se muestran dos bandas heteropicnóticas al lado derecho del puff; lo cual corresponde a la parte terminal del puff encontrado en la sección 18. Las bandas encontradas en el puff redondo son de apariencia continua; las mismas son delgadas y medianamente teñidas. Mientras que, las dos bandas encontradas a un lado del puff son gruesas. Ambas secuencias comparten el puff conspicuo; la diferencia se encuentra en la cantidad de bandas encontradas en la nueva especie comparadas con las pocas bandas punteadas observadas en *D. pavani*. Igualmente, las dos bandas heteropicnóticas observadas al lado derecho del puff de la nueva especie coinciden con las dos bandas encontradas en la secuencia estándar.

**Sección 20:** Se muestran dos puffs redondos. El puff más próximo a la sección 19 tiene dos bandas heteropicnóticas y tres interbandas, mientras que el otro puff lo conforman siete bandas y seis interbandas. Las dos bandas encontradas en el puff cercano a la región 19 son poco teñidas. Seguidas de una banda delgada heteropicnótica que divide un puff del otro. Las bandas medianamente teñidas encontradas en el puff cercano a la sección 21 son delgadas y muy tenues. Al comparar la nueva especie con la secuencia estándar, se observa la presencia de una banda delgada entre ambos puffs; con la única

diferencia que *D. pavani* presenta dos bandas y la nueva especie una. Igualmente, el puff próximo a la sección 19 presenta un mayor número de bandas punteadas en la secuencia estándar.

**Región B:** Formada por 4 secciones: desde la 21 hasta la sección 24.

**Sección 21:** Se observan ocho bandas e interbandas. Las tres primeras bandas heteropicnóticas son gruesas, seguidas de cinco bandas muy teñidas y tenues. En *D. pavani* se observa un punto de quiebre entre la sección 20 y 21, el mismo que no se aprecia en la nueva especie. Por el contrario, ambas secuencias comparten la presencia de dos bandas gruesas y muy teñidas entre la sección 20 y 21, al igual que la banda heteropicnótica comprendida entre la sección 21 y 22.

**Sección 22 y 23:** Estas secciones están ocupadas por un puff grande de apariencia romboidea. Lo conforman nueve bandas y ocho interbandas. Las dos primeras bandas son gruesas y continuas, seguidas de siete bandas gruesas heteropicnóticas. Comparando ambas secuencias, se aprecia que la secuencia estándar posee un mayor número de bandas (15 bandas). Las bandas punteadas presentes en medio de la sección en *D. pavani*, corresponden a las bandas gruesas muy teñidas en la nueva especie.

**Sección 24:** Muestra 11 bandas delgadas y 10 interbandas. Las cuatro primeras bandas son delgadas (dos de ellas muy teñidas y las dos restantes medianamente teñidas), seguidas de tres bandas delgadas y poco teñidas. Adicionalmente, se observan tres bandas, la primera muy teñida y punteada, más una banda heteropicnótica punteada y una tercera banda muy teñida y gruesa. Al igual que la secuencia estándar, se muestra una banda punteada hacia la sección 24 y 25; con la diferencia que en *D. pavani* son dos bandas y en la nueva especie una. Las dos bandas heteropicnóticas apreciables en la secuencia estándar en la mitad de la sección son igualmente observadas en la nueva especie.



**Región C:** Formada por 5 secciones: desde la 25 hasta la sección 29

**Sección 25:** Presenta dos bandas heteropicnóticas y tres interbandas. Comparando con *D. pavani*, la nueva especie muestra igualmente un punto de quiebre que une la sección 24 y 25. Adicionalmente, la nueva especie presenta menos cantidad de bandas que la secuencia estándar.

**Sección 26:** Muestra siete bandas e interbandas. La primera banda es gruesa, seguida de cuatro bandas delgadas medianamente teñidas. Las dos últimas bandas heteropicnóticas son gruesas y opacas. Comparando con la secuencia estándar, la nueva especie presenta la misma banda gruesa entre la sección 25 y 26, al igual que la banda terminal entre la sección 26 y 27. Adicionalmente se observa que la nueva especie muestra una mayor cantidad de bandas en medio de la sección, lo que correspondería a las bandas tenues observadas en *D. pavani*.

**Sección 27:** Presenta siete bandas e interbandas. La primera banda es delgada y poco teñida, seguida de dos bandas delgadas medianamente teñidas. Adicionalmente se muestran dos bandas heteropicnóticas delgadas, más una banda delgada entre la sección 27 y 28. Al igual que la secuencia estándar, la nueva especie presenta una constricción entre la sección 27 y 28 constituida por una banda muy teñida. Por el contrario, las bandas de aspecto punteado presentes en *D. pavani* en el medio de la sección se presentan como bandas delgadas y continuas en la nueva especie.

**Sección 28 y 29:** Estas secciones están ocupadas por un puff alargado con ocho bandas y siete interbandas. Las dos primeras bandas son gruesas y opacas, seguidas de una banda heteropicnótica gruesa. Adicionalmente, se observa una banda opaca, más tres bandas gruesas muy teñidas. La última banda heteropicnótica se encuentra entre la sección 29 y 30. En comparación con la secuencia estándar, la nueva especie posee un menor

número de bandas. Ambas secuencias presentan constricciones a ambos lados de la sección. La constricción que limita la sección 29 de la 30 es más pronunciada en *D. pavani*, mientras que en la nueva especie es ligeramente pronunciada. Igualmente, se observa que las bandas punteadas observadas en la secuencia estándar se presentan como bandas continuas en la nueva especie.

**Región D:** Formada por 5 secciones: desde la 30 hasta la sección 34

**Sección 30, 31 y 32:** La conforman dos puffs, más una porción corta. El primer puff muestra 13 bandas y 12 interbandas. La primera banda gruesa medianamente teñida lo constituye una constricción entre la sección 29 y 30, seguida de una banda delgada medianamente teñida. Adicionalmente, se observa una banda tenue entre dos bandas heteropicnóticas gruesas, seguidas de tres bandas punteadas muy teñidas en el centro de la sección. Las cinco bandas restantes son delgadas. El segundo puff muestra nueve bandas e interbandas. Las seis primeras bandas son delgadas y poco teñidas, seguidas de tres bandas heteropicnóticas delgadas. Por otra parte, se observa una porción final que consta de cinco bandas e interbandas. La primera banda heteropicnótica es gruesa, seguida de dos bandas delgadas medianamente teñidas, más dos bandas (una de ellas punteada y la otra gruesa y muy teñida). Comparando ambas secuencias, se muestra que *D. pavani*, no presenta los dos puffs observados en la nueva especie. Por otro lado, ambas secuencias comparten la constricción entre la sección 29 y 30 (en *D. pavani* es mucho más pronunciada que la nueva especie). Igualmente, las dos bandas observadas entre los dos puffs en la nueva especie corresponden a los mostrados en la secuencia estándar. Las bandas continuas presentes en el primer puff son apreciables como bandas punteadas en *D. pavani*. De igual forma, las bandas del segundo puff concuerdan con la secuencia estándar.

**Sección 33:** Muestra seis bandas e interbandas. La primera banda heteropicnótica es gruesa, seguida de tres bandas (la primera delgada y muy teñida, más dos bandas delgadas medianamente teñidas). Adicionalmente se observan dos bandas gruesas muy teñidas. Las interbandas son medianamente teñidas. Ambas secuencias comparten la presencia de la banda heteropicnótica entre la sección 32 y 33. Igualmente, las dos bandas muy teñidas mostradas entre el límite de la sección 33 y 34 son compartidas por ambas secuencias (con la única diferencia que *D. pavani* presenta una banda punteada y otra continua; lo que en la nueva especie se muestra como dos bandas continuas). Las interbandas mostradas en la secuencia estándar, se presentan en la nueva especie como bandas delgadas y continuas.

**Sección 34:** Conformada por 11 bandas y 10 interbandas. Las dos primeras bandas delgadas son poco teñidas, seguidas de dos bandas heteropicnóticas gruesas. Igualmente, se muestra una banda gruesa medianamente teñida, más cinco bandas heteropicnóticas (dos delgadas y tres gruesas). Comparando con *D. pavani*, se observa que la nueva especie no presenta el punto de quiebre entre la sección 34 y 35. Adicionalmente, en la nueva especie, las dos bandas entre la sección 33 y 34 son continuas y delgadas. Por el contrario en la secuencia estándar se muestran como una banda punteada y una continua. Las bandas punteadas y poco teñidas presentes en *D. pavani* en el medio de la sección, se observan como bandas continuas heteropicnóticas en la nueva especie.

**Región E:** Formada por 5 secciones: desde la 35 hasta la sección 39.

**Sección 35:** Constituida por un puff con un ligero abultamiento hacia la sección 34. Presenta 15 bandas heteropicnóticas y 14 interbandas. Las primeras nueve bandas heteropicnóticas son punteadas, seguidas de tres bandas muy teñidas (una banda delgada

en medio de dos gruesas). Adicionalmente, se muestra una banda gruesa, más una banda punteada muy teñida limitando la sección 35 y 36. Comparando ambas secuencias, la nueva especie presenta un puff algo diferente a *D. pavani*, ya que este es un tanto abultado hacia la sección 34. Por el contrario, ambas secuencias presentan el mismo patrón de bandas (entre bandas punteadas al inicio y al final de la sección y bandas continuas y muy teñidas en medio de la misma).

**Sección 36:** Formada por siete bandas y ocho interbandas. Las dos primeras bandas heteropicnóticas son punteadas, seguidas de cinco bandas continuas gruesas y muy teñidas. Cabe mencionar, que ambas secuencias son idénticas (con la excepción de que en *D. pavani* las dos bandas del centro de la sección son medianamente teñidas; y en la nueva especie éstas bandas son gruesas y muy definidas).

**Sección 37:** Constituye una sección clave, formada por un puff redondo; más una pequeña porción de bandas heteropicnóticas. La primera banda observada es delgada y poco teñida, seguida de tres bandas gruesas muy teñidas y continuas. El puff lo constituyen cinco bandas y cuatro interbandas. La primera banda es delgada y muy teñida seguida de cuatro bandas (una delgada, dos punteadas poco teñidas y una banda opaca entre la sección 37 y 38). Comparando ambas secuencias, se muestra que el puff observado en *D. pavani* presenta bandas muy tenues. Sin embargo, ambas secuencias comparten tanto la presencia del puff, como las cuatro bandas al lado derecho del mismo.

**Sección 38:** Constituye una sección importante en el reconocimiento del cromosoma; ésta presenta nueve bandas e interbandas. Las ocho bandas heteropicnóticas observadas son delgadas y continuas; con excepción de la banda cercana a la sección 39 la cual es delgada y poco teñida. Al comparar la nueva especie con *D. pavani*, se muestra que ambas son muy similares en cuanto a número de bandas. La única excepción se presenta en

la banda límite de la sección 38 y 39 de *D. pavani* la cual es punteada, mientras que en la nueva especie se presenta como continua y poco teñida.

**Sección 39:** Esta sección contiene un puff telomérico de forma redonda hacia la parte terminal del telómero, el cual consta de seis bandas heteropicnóticas y siete interbandas. Las tres primeras bandas son delgadas y muy teñidas, seguidas de una banda heteropicnótica gruesa. Adicionalmente, se muestran dos bandas (una delgada poco teñida y una banda muy teñida al final de la sección). La banda gruesa y muy teñida que se presenta en medio de la sección es compartida tanto por la nueva especie como por *D. pavani*.

### 5.3.3 CROMOSOMA III

El cromosoma III (Fig. 6), mide 200  $\mu\text{m}$ ; no presenta inversiones ni rearrreglos cromosómicos. Las 20 secciones numeradas por Brncic (1957a) se agrupan en cinco regiones (identificadas con literales de la A a la E).

Las principales características de cada región y sección se presentan a continuación:

**Región A:** La sección proximal al cromocentro y comprende las cuatro primeras secciones numeradas desde la sección basal; la cual está unida al cromocentro hacia el telómero.

**Sección 40:** Presenta 10 bandas e interbandas. Las tres primeras bandas heteropicnóticas son gruesas, seguidas de dos bandas muy teñidas y punteadas. La banda siguiente es delgada, de apariencia poco teñida. Adicionalmente, se muestran cuatro bandas heteropicnóticas (dos gruesas punteadas, una tenue punteada y una delgada muy teñida). Al igual que la secuencia estándar, la nueva especie presenta dos bandas muy teñidas al inicio de la sección. Asimismo, la séptima banda de la nueva especie es la misma

que se presenta en *D. pavani*. Por el contrario, las bandas punteadas observadas en la secuencia estándar se muestran más definidas en la nueva especie.

**Sección 41:** La conforma un puff de aspecto triangular hacia el inicio de la sección. Formado por 11 bandas muy teñidas y 10 interbandas medianamente teñidas. La banda próxima a la sección 40 es delgada y poco teñida. Por el contrario, la banda siguiente es gruesa y muy teñida, seguida de nueve bandas heteropicnóticas delgadas y continuas. Al igual que *D. pavani*, la nueva especie presenta la banda que limita la sección 40 de la 41, más las bandas delgadas y continuas presentes en toda la sección. Cabe mencionar, que la secuencia estándar muestra bandas punteadas; las mismas que en la nueva especie son continuas. Adicionalmente, el aspecto triangular es compartido tanto por la secuencia estándar como por la nueva especie.

**Sección 42 y 43:** La conforma un puff redondo, más una porción a cada lado del mismo. El puff consta de cinco bandas e interbandas, al lado derecho del mismo se observa una pequeña porción constituida por dos bandas. Al lado izquierdo del puff por el contrario se muestran 12 bandas y 11 interbandas.

Las dos primeras bandas ubicadas al lado derecho del puff, son muy teñidas y delgadas. Por el contrario las bandas punteadas observadas en el puff son poco teñidas. Finalmente al lado izquierdo del puff se presentan 12 bandas (las tres primeras delgadas y muy teñidas, seguidas de una banda tenue delgada, más dos bandas delgadas heteropicnóticas). Adicionalmente, dos bandas gruesas muy continuas y muy teñidas son apreciadas. Hacia la sección 44 se muestran cuatro bandas poco teñidas.

Ambas secuencias comparten la presencia del puff redondo, más los segmentos ubicados a cada lado del mismo. Las bandas heteropicnóticas existentes entre la sección 41 y 42 son iguales en ambas secuencias. Las bandas que muestra el puff de *D. pavani* son mucho más

definidas que las de la nueva especie, donde no se muestran las dos bandas heteropicnóticas ubicadas en el medio del mismo. La única diferencia radica con las bandas poco teñidas observadas en la nueva especie en el límite de la sección 43 y 44. Estas se muestran en la secuencia estándar como bandas delgadas heteropicnóticas muy definidas.

**Región B:** Formada por 3 secciones: desde la 44 hasta la sección 46.

**Sección 44:** La conforma ocho bandas e interbandas. Las dos primeras bandas heteropicnóticas son gruesas y continuas, seguidas de una banda delgada muy teñida. La banda siguiente es gruesa y muy teñida. Adicionalmente, se muestra una banda punteada tenue, más una banda gruesa heteropicnótica. Las dos últimas bandas son poco teñidas (una punteada y una gruesa). Ambas secuencias presentan el mismo número de bandas e interbandas. La única diferencia radica en la tercera banda de ambas especies; donde *D. pavani* presenta una banda punteada y la nueva especie una banda continua y delgada. Igualmente, la banda más próxima a la sección 45 se presenta en *D. pavani* como dos bandas entrelazadas. Por el contrario, en la nueva especie estas bandas corresponden a una punteada y una delgada.

**Sección 45:** Conformada por siete bandas e interbandas. Se observa dos bandas delgadas medianamente teñidas, más dos bandas gruesas heteropicnóticas. Adicionalmente se aprecia una banda muy tenue seguida de una banda gruesa heteropicnótica. Comparando la secuencia de la nueva especie con *D. pavani*, se observa que la secuencia estándar posee un mayor número de bandas. Adicionalmente, las bandas punteadas observadas en *D. pavani* corresponden a las bandas muy teñidas presentes en la nueva especie. Por otro lado, las interbandas gruesas opacas entre la sección 45y 46 son compartidas por ambas secuencias.

**Sección 46:** Conformada por cinco bandas e interbandas. Las cuatro bandas son gruesas y muy teñidas, seguidas de una banda delgada poco teñida entre la sección 46 y 47. Comparando la secuencia de la nueva especie con la secuencia estándar, se puede observar que *D. pavani* muestra un puff poco pronunciado, el cual no se aprecia en la nueva especie. Igualmente, la secuencia estándar presenta un mayor número de bandas. Por el contrario, ambas secuencias comparten la banda heteropicnótica entre la sección 45 y 46, más las tres bandas gruesas observadas en medio de la sección.

**Región C:** Formada por 4 secciones: desde la 47 hasta la sección 50

**Sección 47:** Caracterizada por nueve bandas y ocho interbandas. La primera banda heteropicnótica es gruesa, seguida de una banda muy teñida. Tres bandas continuas son apreciadas (una de ellas poco teñida, seguida de dos bandas heteropicnóticas continuas en el centro de la sección). Adicionalmente, se muestran cuatro bandas muy teñidas. La nueva especie al igual que la secuencia estándar, presenta la banda gruesa que limita la sección 46 y 47, más las bandas heteropicnóticas ubicadas en el centro de la sección. Por el contrario, se observa que las bandas que limitan la sección 47 de la 48 son medianamente teñidas en *D. pavani*, mientras que en la nueva especie se pueden diferenciar ya que son muy teñidas.

**Sección 48:** Se observan cinco bandas y cuatro interbandas. Las dos primeras bandas heteropicnóticas son gruesas y punteadas, seguidas de tres bandas (la primera medianamente teñida y las dos restantes delgadas y muy teñidas). Interbandas opacas se observan entre cada una de las cinco bandas. La nueva especie presenta igualmente las dos bandas muy teñidas entre la sección 47 y 48. La única diferencia está en que las bandas de *D. pavani* son continuas, mientras que la nueva especie presenta bandas punteadas. Igualmente, la tercera banda es continua y delgada en la nueva especie; mientras que en la secuencia estándar esta es punteada.



**Sección 49:** Formada por ocho bandas y siete interbandas. Las dos primeras bandas heteropicnóticas son gruesas y muy definidas, seguidas de dos bandas poco teñidas. Hacia la sección 50 se observan cuatro bandas (una banda delgada medianamente teñida en medio de dos bandas gruesas heteropicnóticas). La banda final que limita la sección 49 de la 50 es muy teñida. A diferencia de la secuencia estándar, la nueva especie presenta menor cantidad de bandas en la sección; ya que la primera banda punteada observada en *D. pavani*, no se aprecia en la nueva especie. Por el contrario de la quinta a la octava banda son similares a la secuencia estándar (salvo el caso de la sexta banda, la cual es continua en la nueva especie y punteada en *D. pavani*).

**Sección 50:** La conforman siete bandas e interbandas. La banda que limita la sección 49 de la 50 es delgada y medianamente teñida, seguida de una banda tenue punteada. Adicionalmente se puede apreciar dos bandas heteropicnóticas en el medio de la sección, más tres bandas punteadas medianamente teñidas. Las interbandas mostradas son poco teñidas. La nueva especie en comparación con *D. pavani* no presenta el puff redondo. Igualmente, la nueva especie muestra un menor número de bandas que la secuencia estándar. Cabe mencionar, que la segunda banda punteada observada en la nueva especie coincide con la banda de *D. pavani*.

**Región D:** Formada por 5 secciones: desde la 51 hasta la sección 55.

**Sección 51:** Presenta 12 bandas e interbandas. Las dos primeras bandas heteropicnóticas son gruesas y continuas, seguidas de una banda poco teñida. Las dos bandas siguientes son gruesas muy teñidas y continuas, más tres bandas continuas y muy teñidas. Adicionalmente, se presentan dos bandas heteropicnóticas delgadas y continuas, seguidas de dos bandas delgadas medianamente teñidas. En comparación con *D. pavani*, la nueva especie no presenta la leve constricción mostrada en el medio de la sección.

Igualmente, las dos bandas punteadas observadas en la secuencia estándar entre la sección 51 y 52 se presentan en la nueva especie como dos bandas continuas. Por el contrario, ambas secuencias comparten las dos bandas heteropicnóticas que limitan la sección 50 de la 51; más las dos bandas gruesas continuas presentes en medio de la sección (en *D. pavani* éstas corresponden a la ligera constricción). Cabe mencionar, que la tercera banda tenue presentada en la nueva especie corresponde a las bandas punteadas y poco teñidas presentes en *D. pavani*.

**Sección 52:** Muestra 15 bandas y 14 interbandas. Las dos primeras bandas son poco teñidas, seguidas de dos bandas delgadas y muy teñidas. Las 11 bandas restantes son continuas y muy teñidas. Comparando con la secuencia estándar, la nueva especie presenta dos bandas delgadas en medio de la sección; lo cual corresponde a las bandas punteadas y poco teñidas de la secuencia estándar. Adicionalmente, la nueva especie presenta mayor cantidad de bandas hacia la sección 53.

**Sección 53:** Formada por siete bandas e interbandas. La banda que limita la sección 52 de la 53 es delgada. Seguida de cuatro bandas punteadas muy teñidas. Las dos bandas punteadas restantes son medianamente teñidas. En la secuencia estándar, se presenta un puff redondo el cual no es observado en la nueva especie. Igualmente las dos bandas heteropicnóticas gruesas entre la sección 52 y 53, se aprecia como una banda delgada en la nueva especie.

**Sección 54 y 55:** Posee un puff alargado el cual está formado por 20 bandas e interbandas. La banda que limita la sección 53 de la 54 es gruesa y muy teñida, seguida de 18 bandas punteadas heteropicnóticas entrelazadas unas con otras. Adicionalmente, se muestra una banda delgada poco teñida. Las interbandas encontradas son opacas. La interbanda entre la sección 55 y 56 es ancha y poco teñida. Comparando con *D. pavani*, la

nueva especie posee el mismo puff con forma de botella. La banda gruesa que limita la sección 53 de la 54 es igualmente observada en ambas secuencias (en la secuencia estándar, se presentan dos bandas y en la nueva especie una banda). De la misma manera, la banda gruesa encontrada entre la sección 54 y 55 en *D. pavani*, es punteada en la nueva especie.

**Región E:** Formada por 4 secciones: desde la 56 hasta la sección 59.

**Sección 56:** Segmento alargado que posee cuatro bandas e interbandas. La primera banda es delgada y poco teñida, seguida de dos bandas gruesas heteropicnóticas ubicadas en el medio de la sección. La banda que limita la sección 56 de la 57 es punteada y muy teñida. Las interbandas observadas son gruesas y opacas. La secuencia estándar, presenta un mayor número de bandas en su sección. Adicionalmente, la constricción mostrada por *D. pavani* entre la sección 55 y 56 no es observada en la nueva especie.

**Sección 57:** Muestra un puff pequeño con ocho bandas e interbandas. La banda que limita la sección 56 de la 57 es ancha y muy teñida, seguida de dos bandas (una delgada heteropicnótica y otra gruesa y muy teñidas). Las cinco bandas siguientes son punteadas y muy teñidas. La banda heteropicnótica gruesa que limita la sección 56 de la 57 es igual a la observada en la secuencia estándar. De igual manera, el puff pequeño y redondo es compartido por ambas secuencias. Por otra parte, *D. pavani* presenta mayor número de bandas a comparación de la nueva especie.

**Sección 58:** Segmento alargado poco teñido, constituido por siete bandas y seis interbandas. Las cinco bandas observadas son delgadas y poco teñidas. Las dos bandas restantes son gruesas y tenues. Al igual que la secuencia estándar, la nueva especie presenta bandas tenues. La sexta banda de la nueva especie (gruesa y tenue) corresponde a la banda delgada de *D. pavani*.

**Sección 59:** Lo conforma el telómero del cromosoma, constituido por nueve bandas y ocho interbandas. Las dos primeras bandas punteadas son muy teñidas, seguidas de dos bandas punteadas medianamente teñidas. Adicionalmente, se presenta una banda gruesa heteropicnótica seguida de cuatro bandas (una punteada muy teñida en medio de dos bandas delgadas medianamente teñidas). La última banda se presenta como gruesa y muy teñida. Tanto la secuencia estándar como la nueva especie poseen la misma forma del telómero. La banda que limita la sección 58 de la 59 está presente en ambas secuencias (en *D. pavani* como continua y en la nueva especie como punteada). Igualmente las tres bandas gruesas continuas observadas en medio de la sección de la secuencia estándar, se presentan en la nueva especie como dos bandas (una punteada y una continua y muy teñida).

#### 5.3.4 CROMOSOMA IVR (Brazo derecho del cromosoma IV)

El cromosoma IVR (Fig. 5), mide 196  $\mu\text{m}$  y presenta la inversión 4e denominada por Wasserman (Krimbas y Powell, 1982). Las 20 secciones numeradas por Brncic (1957a) se agrupan en cinco regiones (identificados con literales de la A a la E).

Las principales características de cada región y sección se presentan a continuación:

**Región A:** Constituida por 4 secciones numeradas desde la sección basal, unida al cromocentro, hacia el final distal.

**Sección 60:** Formada por 16 bandas y 15 interbandas. La primera banda heteropicnótica es delgada, seguida de cuatro bandas delgadas muy teñidas y continuas. La banda siguiente es delgada y poco teñida, más tres bandas delgadas medianamente teñidas. Las siete bandas restantes son delgadas (las dos primeras poco teñidas, seguidas de una banda muy teñida, más cuatro bandas poco teñidas). En comparación con la secuencia

estándar, la nueva especie presenta mayor cantidad de bandas. Igualmente, no se observan bandas punteadas en la nueva especie.

**Sección 61:** Se muestran siete bandas y ocho interbandas. Las dos primeras bandas son delgadas y muy teñidas, seguidas de dos bandas heteropícnóticas gruesas. Las tres bandas restantes son delgadas, muy teñidas y continuas. En comparación con *D. pavani*, en la nueva especie esta sección la conforma un puff ligeramente pronunciado; el cual posee menor cantidad de bandas. Por el contrario, ambas secuencias comparten la presencia de la banda delgada muy teñida que limita la sección 60 de la 61.

**Sección 62:** Constituida por 13 bandas y 12 interbandas. La primera banda es delgada y poco teñida, seguida de dos bandas delgadas muy teñidas y continuas. Las dos bandas siguientes son delgadas y muy teñidas, más tres bandas (una delgada medianamente teñida en medio de dos bandas muy teñidas). Adicionalmente, se presenta una banda delgada medianamente teñida. Las cuatro bandas restantes son delgadas (siendo la última banda punteada y muy teñida). Ambas secuencias presentan las dos bandas delgadas y muy teñidas entre el límite de la sección 61 y 62 (en la nueva especie estas son continuas, mientras que en *D. pavani* son punteadas). Igualmente, tanto *D. pavani* como la nueva especie muestran tres bandas heteropícnóticas en el centro de la sección (en la nueva especie estas bandas corresponden a una leve constricción). Cabe mencionar, que esta sección en *D. pavani* corresponde a la parte final del puff encontrado en la siguiente sección; más este no se observa en la nueva especie.

**Sección 63:** Presenta 14 bandas y 13 interbandas. Las dos primeras bandas son poco teñidas, seguidas de cuatro bandas (dos delgadas y dos tenues). Adicionalmente, se presentan tres bandas heteropícnóticas (una delgada, una gruesa y una banda tenue), más cinco bandas delgadas. Ambas secuencias comparten la presencia de las dos bandas

heteropicnóticas entre el límite de la sección 62 y 63. Por otra parte, la secuencia estándar presenta un puff triangular el cual no se observa en la nueva especie.

**Región B:** Formada por 5 secciones: desde la 64 hasta la sección 68.

**Sección 64:** Presenta tres segmentos formados por 12 bandas y 13 interbandas. La primera banda heteropicnótica es gruesa, seguida de dos bandas muy teñidas. Cuatro bandas continuas y delgadas son observadas, seguidas de tres bandas muy teñidas. Hacia la sección 65 se presentan dos bandas muy teñidas (una gruesa y una delgada). Las interbandas son delgadas y gruesas. Cabe mencionar, que *D. pavani* muestra una banda gruesa y muy teñida que limita la sección 63 de la 64, la cual se observa en la nueva especie como delgada y muy teñida. Adicionalmente, en la secuencia estándar, se observan mayor cantidad de bandas punteada; lo cual corresponden a bandas continuas en la nueva especie.

**Sección 65:** Presenta siete bandas heteropicnóticas y siete interbandas. La banda que limita la sección 64 de la 65 es gruesa y muy teñida, seguida de tres bandas delgadas y continuas. Hacia la sección 66 se presentan tres bandas muy teñidas. Las dos bandas heteropicnóticas mostradas en la secuencia estándar entre la sección 64 y 65 corresponden a las dos primeras bandas presentes en la nueva especie. De igual manera, las bandas punteadas encontradas en medio de la sección de *D. pavani*, corresponden a las bandas continuas presentes en la nueva especie.

**Sección 66:** Presenta seis bandas e interbandas. Las tres primeras bandas son delgadas y medianamente teñidas, seguidas de una banda muy teñida. Adicionalmente, se muestran tres bandas heteropicnóticas delgadas. Interbandas opacas y gruesas se presentan entre ellas. En comparación con la secuencia estándar, la nueva especie posee menor

cantidad de bandas. Las dos bandas heteropiconóticas que limitan la sección 66 con la 67 son compartidas por ambas secuencias.

**Sección 67:** Muestra un puff conspicuo constituido por ocho bandas y siete interbandas. Las tres primeras bandas son delgadas y poco teñidas, seguidas de una banda delgada y tenue. Las dos bandas siguientes son delgadas y continuas. Adicionalmente, aparecen dos bandas (una delgada heteropiconótica y una delgada punteada). Comparando con la secuencia estándar, la nueva especie presenta un puff conspicuo. Igualmente, la secuencia estándar muestra un mayor número de bandas punteadas; lo que corresponden a las bandas continuas presentes en la nueva especie.

**Sección 68:** Muestra cuatro bandas e interbandas. La primera banda es gruesa y muy teñida, seguida de una banda punteada medianamente teñida. Las dos bandas restantes son gruesas y muy teñidas. La nueva especie al igual que *D. pavani* presenta las tres bandas heteropiconóticas (una entre la sección 67 y 68, otra en medio de la sección y la última entre la sección 68 y 69).

**Región C:** Formada por 4 secciones: desde la 69 hasta la sección 72.

**Sección 69:** La constituye un puff conspicuo y poco teñido. Éste únicamente presenta tres bandas, más cuatro interbandas. Las dos primeras bandas son delgadas y poco teñidas, seguidas de una banda heteropiconótica gruesa. En comparación con la secuencia estándar, la nueva especie presenta una menor cantidad de bandas e interbandas.

**Sección 70:** Presenta seis bandas y cinco interbandas. La banda que limita la sección 69 de la 70 es gruesa y muy teñida, seguida de cuatro bandas (las dos primeras tenues, seguidas de una banda delgada, más una gruesa medianamente teñida). La banda restante es delgada y de apariencia tenue. Comparando ambas secuencias, se observa que *D. pavani* presenta una mayor cantidad de bandas. La banda delgada que limita la sección

69 de la 70 se muestra en ambas secuencias. Igualmente, la banda tenue que limita la sección 70 de la 71 en la nueva especie coincide con la de la secuencia estándar.

**Sección 71:** Presenta 10 bandas y nueve interbandas. La banda que limita la sección 70 de la 71 es gruesa y muy teñida, seguida de dos bandas delgadas continuas. Adicionalmente se muestran tres bandas (una delgada y tenue entre dos bandas delgadas y muy teñidas), más cuatro bandas heteropicnóticas punteadas. Al igual que la secuencia estándar, la nueva especie presenta la banda gruesa que limita la sección 70 de la 71, más las dos bandas ubicadas al lado izquierdo de ésta. Las bandas punteadas cercanas a la sección 72 presentes en *D. pavani* son iguales a las observadas en la nueva especie. Por otro lado, las bandas más gruesas y teñidas encontradas en el medio de la sección de la secuencia estándar corresponden a la cuarta y sexta banda de la nueva especie.

**Sección 72:** La caracteriza una porción corta, más un puff redondo. La porción consta de cuatro bandas y cinco interbandas. El puff presenta siete bandas e interbandas. Las bandas poco teñidas que conforman el segmento corto, son delgadas y continuas. Por otro lado, el puff redondo y conspicuo presenta una banda gruesa heteropicnótica, seguida de tres bandas (dos delgadas y muy teñidas, más una banda delgada poco teñida). La banda siguiente es delgada y punteada. Las dos bandas heteropicnóticas restantes son delgadas. Comparando ambas secuencias, se observa que el puff presente en la nueva especie, no aparece en *D. pavani*. Por el contrario la secuencia de bandas, tanto de la nueva especie como de la secuencia estándar son iguales. La única diferencia que muestra la nueva especie es que las bandas que conforman el puff son continuas, mientras que en *D. pavani* son punteadas.



**Región D:** Formada por 4 secciones: desde la 73 hasta la sección 76.

**Sección 73:** Muestra seis bandas y cinco interbandas. La banda que limita la sección 72 y 73 es gruesa y muy teñida, seguida de dos bandas delgadas medianamente teñidas. Las tres bandas heteropicnóticas restantes son gruesas. Comparando tanto la secuencia estándar como la de la nueva especie, se observa que ambas comparten tanto la banda que limita la sección 72 y 73 como las dos bandas siguientes. Igualmente, la cuarta banda de la nueva especie coincide con la banda ubicada en el centro de la sección en *D. pavani*. La única diferencia radica en que la secuencia estándar presenta una mayor cantidad de bandas en comparación a la nueva especie.

**Sección 74:** La conforman siete bandas heteropicnóticas, más ocho interbandas. Las dos primeras bandas punteadas son poco teñidas, seguidas de una banda delgada heteropicnótica. Adicionalmente, se muestra una banda punteada y muy teñida, seguida de una banda gruesa heteropicnótica. Las dos bandas restantes son gruesas y muy teñidas. Comparando ambas secuencias, se observa una correspondencia. La única diferencia radica en la cuarta banda de la nueva especie, la cual es punteada, mientras que en *D. pavani* ésta es continua.

**Sección 75:** Constituye un segmento tenue formado por cinco bandas y seis interbandas. Las dos primeras bandas son delgadas y muy teñidas, seguida de una banda poco teñida. A continuación se muestra una banda gruesa muy teñida. La última banda heteropicnótica es delgada. Comparando ambas secuencias, se muestra que *D. pavani* presenta un mayor número de bandas. Adicionalmente, la banda que limita la sección 74 de la 75 es compartida tanto por *D. pavani* como por la nueva especie. Igualmente, la cuarta banda gruesa presente en la nueva especie coincide con la banda heterocromática ubicada en medio de la sección de la secuencia estándar.

**Sección 76:** La constituye un puff redondo constituido por nueve bandas e interbandas. Las dos bandas que limitan la sección 75 de la 76 son delgadas y muy teñidas, seguidas de dos bandas heteropicnóticas (una delgada medianamente teñida y otra gruesa muy teñida). Adicionalmente, se presentan cuatro bandas punteadas, más una banda delgada muy teñida. Al igual que la secuencia estándar, la nueva especie presenta la banda que limita la sección 75 de la 76, más la banda heteropicnótica que limita la sección 76 de la 77. La forma del puff es otra característica compartida por ambas secuencias.

**Región E:** Formada por 3 secciones: desde la 77 hasta la sección 79. Incluye a la inversión 4e.

**Sección 77 y 78:** La conforman 16 bandas e interbandas, más un puff conspicuo con cuatro bandas. Las dos primeras bandas heteropicnóticas son delgadas y continuas, seguidas de dos bandas (una delgada poco teñida y otra gruesa heteropicnótica). A continuación se encuentra la inversión 4e constituida por ocho bandas. Las dos primeras son gruesas y muy teñidas, más cuatro bandas (dos delgadas medianamente teñidas y dos gruesas continuas); de las dos bandas restantes que conforman la llamada inversión 4e y forman la parte inicial del puff: la primera banda es delgada poco teñida, la otra es punteada y muy teñida. A continuación de la inversión 4e aparecen cuatro bandas punteadas poco teñidas (las cuales conforman la parte restante del puff).

La secuencia y número de bandas que presenta la inversión 4e, coinciden tanto en la nueva especie como en la secuencia estándar.

**Sección 79:** Es una de las secciones más importantes para el reconocimiento del cromosoma; ya que se observa un telómero redondo con un abultamiento en la punta del mismo. Esta sección la conforman nueve bandas y 10 interbandas. Las tres primeras bandas punteadas son muy teñidas y continuas, seguidas de dos bandas heteropicnóticas,

más dos bandas heteropicnóticas gruesas. Finalmente se muestran dos bandas delgadas poco teñidas hacia la punta del telómero. Ambas secuencias comparten la forma del telómero, más las dos bandas que limitan la sección 78 de la 79. Por otra parte, se observa que *D. pavani* presenta una mayor cantidad de bandas que la nueva especie.

### 5.3.5 CROMOSOMA IVL (brazo izquierdo del cromosoma IV)

El cromosoma IVL (Fig. 8), mide 190  $\mu\text{m}$ ; no presenta inversiones ni rearrreglos cromosómicos. Las 20 secciones numeradas por Brncic (1957a) se agrupan en cinco regiones (identificadas con literales de la A a la E).

Las principales características de cada región y sección se presentan a continuación:

**Región A:** Constituida por 3 secciones numeradas desde la sección basal, la cual está unida al cromocentro, hacia el final distal.

**Sección 80:** La conforma siete bandas y seis interbandas. La banda más próxima al cromocentro es gruesa y muy teñida, seguida de tres bandas delgadas y poco teñidas. Adicionalmente, se muestra una banda heteropicnótica ancha, seguida de dos bandas (una delgada y una gruesa heteropicnótica). Interbandas poco teñidas son observadas. La secuencia estándar posee un mayor número de bandas que la nueva especie. Por el contrario, ambas secuencias comparten la presencia de la banda próxima al cromocentro, más la banda que limita la sección 80 de la 81. Igualmente, la quinta banda continua presente en la nueva especie corresponde a la banda punteada observada en *D. pavani*.

**Sección 81:** Presenta nueve bandas e interbandas. La banda que limita la sección 80 de la 81 es delgada y muy teñida, seguida de dos bandas (una punteada; más una delgada poco teñida). Adicionalmente, se presentan tres bandas heteropicnóticas. Hacia la sección

82, se muestran tres bandas (una gruesa heteropicnótica y dos bandas punteadas poco teñidas). Al comparar la secuencia de la nueva especie con la secuencia estándar, se observa que la nueva especie presenta un menor número de bandas. Por otra parte, la banda que limita la sección 80 de la 81 es compartida por ambas secuencias. Igualmente, la banda que limita la sección 81 de la 82 es continua y delgada en *D. pavani*, mientras que en la nueva especie es punteada y poco teñida.

**Sección 82:** La conforma 13 bandas e interbandas. Las dos primeras bandas punteadas son delgadas y poco teñidas, seguidas de dos bandas (una gruesa heteropicnótica y otra delgada). Adicionalmente, se presentan dos bandas delgadas y muy teñidas, más siete bandas punteadas y delgadas. Comparando ambas secuencias, se observa que las cuatro primeras bandas de la nueva especie son poco teñidas en comparación con las primeras bandas de la secuencia estándar. Por otra parte, la quinta y sexta banda delgada y muy teñida encontrada en la nueva especie en el centro de la sección son iguales a las observadas en *D. pavani*. Del mismo modo, las bandas punteadas al lado izquierdo de éstas corresponden a las siete bandas punteadas mostradas en la secuencia estándar.

**Región B:** Formada por 4 secciones: desde la 83 hasta la sección 86.

**Sección 83:** La conforma un puff redondo constituido por 12 bandas y 11 interbandas. La primera banda que limita la sección 82 de la 83 es gruesa y muy teñida, seguida de dos bandas delgadas heteropicnóticas, más una banda gruesa muy teñida. Adicionalmente, se presentan cuatro bandas (una gruesa heteropicnótica y tres delgadas y muy teñidas). Hacia la sección 84 cuatro bandas son apreciables (dos delgadas poco teñidas y dos gruesas muy teñidas). Comparando ambas secuencias, se observa que la nueva especie presenta un mayor número de bandas en el centro del puff (estas son continuas). Adicionalmente, tanto la nueva especie como la secuencia estándar comparten

la presencia del puff redondo, más las banda gruesa heteropicnótica que limitan la sección 82 de la 83 y de la sección 83 de la 84.

**Sección 84:** Se observan 15 bandas y 14 interbandas. Las cuatro primeras bandas heteropicnóticas son delgadas y continuas, seguidas de ocho bandas delgadas poco teñidas, más tres bandas (una delgada muy teñida, otra delgada y una punteada medianamente teñida). Comparando ambas secuencias, se muestra que las cuatro primeras bandas de la nueva especie corresponden a las dos bandas punteadas y dos continuas observadas en *D. pavani*. Adicionalmente, las bandas punteadas ubicadas en el medio de la sección de la secuencia estándar corresponden a las ocho bandas continuas y poco teñidas en la nueva especie.

**Sección 85:** Constituido por un puff formado por 11 bandas heteropicnóticas y 10 interbandas. Las dos primeras bandas son punteadas, seguidas de siete bandas heteropicnóticas gruesas, punteadas y continuas. Hacia la sección 86 se presentan dos bandas (una punteada heteropicnótica y una delgada poco teñida). Interbandas medianamente teñidas son observadas entre las bandas descritas. El puff mostrado en la nueva especie coincide con el de la secuencia estándar.

**Sección 86:** Se muestran nueve bandas y 10 interbandas. Las tres primeras bandas son medianamente teñidas, seguidas de una banda delgada medianamente teñida. Adicionalmente, se presentan tres bandas (dos gruesas heteropicnóticas y una gruesa medianamente teñida). Hacia la sección 87 se observan dos bandas (una delgada y una delgada muy teñida). Comparando ambas secuencias se ve que al igual que la secuencia estándar, la nueva especie comparte la banda gruesa muy teñida en medio de la sección.

**Región C:** Formada por 4 secciones: desde la 87 hasta la sección 90.

**Sección 87:** Se observan 12 bandas e interbandas. Las siete primeras bandas heteropicnóticas son delgadas y continuas, seguidas de cuatro bandas delgadas muy teñidas. La banda que limita la sección 87 de la 88 es gruesa y muy teñida. Al comparar ambas secuencias, se observa que la nueva especie no posee la constricción entre la sección 86 y 87 que muestra *D. pavani*. Igualmente, las siete primeras bandas continuas visibles en la nueva especie corresponden a las seis bandas continuas y una poco teñida de la secuencia estándar.

**Sección 88:** Se observan 12 bandas y 11 interbandas. Las dos primeras bandas heteropicnóticas son gruesas, seguidas de cinco bandas punteadas delgadas y medianamente teñidas. Adicionalmente, se muestran una banda gruesa heteropicnótica, más cuatro bandas (una gruesa heteropicnótica, una punteada, una banda tenue y una banda delgada muy teñida). Al comparar ambas secuencias, se observa que en las dos aparece la banda heteropicnótica que limita la sección 87 de la 88, más la banda que limita la sección 88 de la 89. Aunque ésta es punteada en *D. pavani*; mientras que en la nueva especie es continua y delgada.

**Sección 89:** Se muestran 16 bandas y 15 interbandas. Las siete primeras bandas delgadas son continuas y medianamente teñidas, seguidas de tres bandas (dos gruesas heteropicnóticas y una delgada medianamente teñida). Las seis bandas restantes son punteadas y medianamente teñidas. Comparando ambas secuencias, se encuentra correspondencia; ambas poseen las dos bandas gruesas heteropicnóticas en medio de la sección.

**Sección 90:** Constituye una sección importante, ya que se muestra un punto de quiebre hacia la sección 91. Se presentan 10 bandas e interbandas. Las tres primeras

bandas son poco teñidas, seguidas de siete bandas delgadas continuas y medianamente teñidas. Al igual que la secuencia estándar, la nueva especie tiene un punto de quiebre entre la sección 90 y 91. Por el contrario, la banda punteada mostrada en *D. pavani* en el centro de la sección; corresponde a la cuarta banda delgada medianamente teñida en la nueva especie.

**Región D:** Formada por 5 secciones: desde la 91 hasta la sección 95.

**Sección 91:** Constituida por un punto de quiebre entre la sección 90 de la 91. Posee 12 bandas e interbandas. Las tres primeras bandas son delgadas y poco teñidas, seguidas de dos bandas heteropicnóticas delgadas. Adicionalmente se muestra una banda punteada muy teñida, más dos bandas tenues punteadas. Hacia la sección 92 se visualizan cuatro bandas (una gruesa, una delgada medianamente teñida, y dos delgadas heteropicnóticas). Comparando ambas secuencias, se observa que *D. pavani* presenta un mayor número de bandas punteadas y medianamente teñidas. Por el contrario la nueva especie muestra bandas continuas. Tanto *D. pavani*, como la nueva especie presentan el punto de quiebre hacia la sección 90, más las dos bandas heteropicnóticas que limitan la sección 91 de la 92.

**Sección 92:** Formada por 22 bandas e interbandas. Las cinco primeras bandas heteropicnóticas son delgadas, seguidas de tres bandas (una punteada muy teñida y dos gruesas). Dos bandas gruesas heteropicnóticas son observadas, más 12 bandas delgadas medianamente teñidas. Comparando con la secuencia estándar, la nueva especie presenta un mayor número de bandas e interbandas. En cambio, ambas comparten la presencia de dos bandas heteropicnóticas en medio de la sección (en la nueva especie éstas son continuas, mientras que en *D. pavani*, una es continua y la otra es punteada). Igualmente, las 12 bandas delgadas mostradas en la nueva especie hacia la sección 93 coinciden con las observadas en *D. pavani*.

**Sección 93:** Constituida por 17 bandas y 16 interbandas. Las ocho primeras bandas son delgadas y poco teñidas, seguidas de una banda delgada heteropicnótica; más una banda delgada medianamente teñida. Adicionalmente, se muestra una banda gruesa heteropicnótica, seguida de seis bandas heteropicnóticas. Comparando ambas secuencias, se observa que la secuencia estándar presenta mayor número de bandas. Igualmente; no se observa en la nueva especie, la constricción presente en medio de la sección.

**Sección 94:** Constituida por 20 bandas e interbandas. Las nueve primeras bandas son delgadas y muy teñidas, seguidas de una banda gruesa muy teñida en medio de la sección. Adicionalmente, se presentan cuatro bandas (dos delgadas, una delgada muy teñida y una punteada heteropicnótica). Hacia la sección 95 se muestran seis bandas delgadas heteropicnóticas. Comparando ambas secuencias se encuentra que la nueva especie posee siete bandas extras en la sección. Por el contrario, ambas secuencias comparten la presencia de la banda gruesa heteropicnótica ubicada en medio de la sección.

**Sección 95:** Presenta siete bandas e interbandas. La banda que limita la sección 94 de la 95 es delgada y muy teñida, seguida de dos bandas gruesas heteropicnóticas continuas. En medio de la sección se observa una banda gruesa punteada, seguida de dos bandas delgadas muy teñidas. Hacia la sección 96, una banda delgada punteada es apreciada. Ambas secuencias son muy parecidas, tanto en *D. pavani* como en la nueva especie se muestra correspondencia entre la primera, segunda y tercer banda. Igualmente, la banda gruesa y punteada observada en la nueva especie corresponde a las bandas punteadas en la secuencia estándar.

**Región E:** Formada por 4 secciones: desde la 96 hasta la sección 99.

**Sección 96:** La conforma un puff redondo, más una porción corta. El puff consta de seis bandas y siete interbandas, mientras que la porción consta de seis bandas e



interbandas. Las seis bandas que conforman el puff son delgadas, punteadas y continuas. Adicionalmente, las dos primeras bandas del segmento corto son gruesas y punteadas, seguidas de dos bandas delgadas. Hacia la sección 97, se presentan dos bandas (una delgada heteropicnótica y una gruesa muy teñida). Al igual que la secuencia estándar, la nueva especie posee un puff redondo poco pronunciado, más bandas punteadas muy teñidas. Igualmente, las cuatro bandas gruesas heteropicnóticas mostradas en *D. pavani* corresponden a la primera, segunda, quinta y sexta banda del segmento corto en la nueva especie. La única diferencia radica en la presencia de dos bandas delgadas observadas en la nueva especie entre las bandas gruesas del segmento corto; las mismas que no son apreciadas en *D. pavani*.

**Sección 97:** Se muestra un puff ligeramente pronunciado hacia el centro de la sección, constituido por 12 bandas y 13 interbandas. Las dos primeras bandas heteropicnóticas son gruesas y continuas, seguidas por cuatro bandas (dos delgadas y dos delgadas y punteadas). Adicionalmente, se muestra una banda delgada poco teñida, más cinco bandas (cuatro gruesas heteropicnóticas y una delgada poco teñida). Comparando con la secuencia estándar, la nueva especie presenta una mayor cantidad de bandas continuas. Por otra parte, ambas secuencias comparten la banda que limita la sección 96 de la 97.

**Sección 98:** Presenta un puff redondo y pronunciado compuesto de ocho bandas y nueve interbandas. La banda que limita la sección 97 de la 98 es delgada y punteada, seguida de tres bandas punteadas gruesas y muy teñidas. Adicionalmente, se presenta una banda punteada, más una banda delgada heteropicnótica. Hacia la sección 99 se observan dos bandas (una delgada poco teñida y una gruesa heteropicnótica). A diferencia de la secuencia estándar, la nueva especie presenta un puff pronunciado. Igualmente las bandas punteadas mostradas en *D. pavani* corresponden a las bandas heteropicnóticas presentes en

el puff de la nueva especie. Tanto *D. pavani* como la nueva especie comparten la presencia de la banda que limita la sección 97 de la 98 la cual es punteada, más la banda gruesa muy teñida presente en la secuencia estándar.

**Sección 99:** Esta sección, es la porción terminal y contiene un puff en forma de copa con una banda heteropicnótica en medio del mismo. Se observan nueve bandas e interbandas. Las dos primeras bandas son gruesas, continuas y muy teñidas, seguidas de tres bandas heteropicnóticas gruesas. Adicionalmente, se muestran dos bandas gruesas muy teñidas, más dos bandas punteadas y tenues. Comparando la secuencia de la nueva especie con la secuencia estándar, se observa que presenta un mayor número de bandas. Por el contrario, ambas comparten las dos bandas heteropicnóticas gruesas que limitan la sección 98 de la 99. Igualmente comparten las dos bandas gruesas y muy teñidas que se ubican en el centro de la sección.

### 5.3.6 CROMOSOMA V

El cromosoma V (Fig. 9), es el más pequeño de los cromosomas politénicos; éste mide 9  $\mu\text{m}$ . Como se mencionó anteriormente, la nomenclatura de este cromosoma es diferente a la de los demás elementos, ya que posee únicamente la sección 100.

**Sección 100:** Constituida por 10 bandas y 11 interbandas. Las 10 bandas punteadas son delgadas y poco teñidas. Comparando con la secuencia estándar, se muestra que la nueva especie presenta un menor número de bandas e interbandas.

#### 5.4 COMPARACIÓN ENTRE LAS SECUENCIAS DE BANDAS DE LA NUEVA ESPECIE Y *Drosophila pavani*

En este estudio, al comparar la secuencia de la nueva especie con la secuencia estándar (*D. pavani*) se observa lo siguiente:

1. Semejante a la secuencia estándar, el cromosoma más largo es el cromosoma II (220  $\mu\text{m}$ ), seguido del III (200  $\mu\text{m}$ ), cromosoma IVR (196  $\mu\text{m}$ ), cromosoma IVL (190  $\mu\text{m}$ ), cromosoma X 170 ( $\mu\text{m}$ ) y finalmente el cromosoma V (9  $\mu\text{m}$ ).
2. Se reporta una secuencia invertida en el cromosoma IVR; sección 77 y 78, región E, la cual se cree corresponde a la inversión 4e denominada por Wasserman (Krimbas y Powell, 1982) como compartida por las especies miembros del grupo *mesophragmatica*.

En el estudio realizado por Brncic y Koref-Santibañez (1957a) “The *mesophragmatica* group of species of *Drosophila*” sobre hibridación entre *D. gaucha* (considerada especie hermana de *D. pavani*) con *D. mesophragmatica* se observó que cierta descendencia se desarrolló hasta el estado de pupas. En este artículo la (Fig. 10), muestra una inversión terminal de ocho bandas en el cromosoma IVR entre la sección 77 y 78 (Brncic y Koref-Santibañez, 1957a), a la que no se refieren sus autores y que se sospecha se trata de la inversión 4e que menciona Wasserman en sus artículos (Krimbas y Powell, 1982) como compartida por las especies miembros del grupo *mesophragmatica*.

Por ello, se compara la sección 77 y 78 del cromosoma IVR entre la secuencia tanto de la nueva especie y de *D. pavani* con el segmento correspondiente en el cromosoma 4 de *D. repleta*; apreciándose la inversión de ocho bandas en la nueva especie (Fig. 11).

Por lo que se piensa que la inversión 4e nominada por Wasserman (Krimbas y Powell, 1982) correspondería a la sección 77 y 78 de la región E en *Drosophila pavani* y en la nueva especie, homóloga a la sección A subsección 3 y 4 en *D. repleta* (Nomenclatura empleada por Wharton, 1942).

Las distintas nomenclaturas cromosómicas utilizadas en los diferentes grupos de *Drosophila* dificultan la identificación de segmentos cromosómicos. En este sentido, este estudio procura complementar el trabajo de Brncic y trata de clarificar la descripción de los cromosomas de esta nueva especie ecuatoriana del grupo *mesophragmatica*. De la misma forma, la construcción del mapa citológico es un aporte al conocimiento de este grupo de especies.

El agrupar a cada sección en regiones, ayuda a describir en detalle las secuencias de bandas; dando ciertas pautas para el reconocimiento futuro de cada sección en otras especies. Así mismo, esta investigación aporta para posteriores estudios de la denominada inversión 4e la cual se cree es compartida no solo por los miembros del grupo *mesophragmatica* sino también por grupos como *canalinaea*, *dreyfusi* y *aureata*.

La gran semejanza de la secuencia de la nueva especie con *D. pavani*; confirmarían los estudios taxonómicos de la Dra. Violeta Rafael en cuanto a la agrupación de la nueva especie dentro del grupo *mesophragmatica*.

## 6. RECOMENDACIONES

Es fundamental contar con un medio óptimo para la crianza de las nuevas especies; el mismo que debe ser realizado bajo sumos cuidados de asepsia con el fin de evitar la contaminación de hongos y la disminución de la población. Adicionalmente, se debe revisar cada día los frascos y cambiarlos constantemente para tener la mayor cantidad de larvas posible para posteriores análisis citológicos.

Es importante continuar con el trabajo de recolección en la región Andina; con el fin de conocer la distribución del grupo *mesophragmatica* para poder realizar trabajos complementarios tanto a nivel genético como a nivel ecológico.

Para corroborar la presencia de la inversión 4e en el grupo *mesophragmatica*; sería interesante mapear los cromosomas de las especies del grupo encontradas en el Ecuador como las hasta ahora reportadas (*D. gasici*-encontrada en la Provincia de Pichincha; *D. mesophragmatica* reportada en Chimborazo, Cotopaxi, Loja, Pichincha y Tungurahua; *D. gaucha* y *D. pavani* en la Provincia de Pichincha) (Rafael y Vela, 2000) y otras de reciente descubrimiento.

Paralelamente a los análisis citológicos, sería interesante realizar estudios moleculares como la hibridación del ADN, el mismo que permite medir el grado de diferenciación entre dos especies. Los resultados podrían aportar en la clasificación del grado de parentesco entre grupos y al establecimiento de filogenias.

## 7. LITERATURA CITADA

- Acurio, A., Carrera, C., Rafael, V., Vela, D. 2002. Nuevas especies del Género *Drosophila* (Díptera, Drosophilidae) en el Mercado Santa Clara de la Ciudad de Quito. Resum. XXVI Jorn. Ecuat. Biología. Pág.51.
- Acurio, A. 2007. Diversidad del género *Drosophila* (Díptera, Drosophilidae) en seis diferentes hábitats del Parque Nacional Yasuní y Clave Taxonómica Multimedia de *Drosophila* para Ecuador. Tesis de Licenciatura, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Acurio, A y Rafael, V. 2009. Diversity and geographical distribution of *Drosophila* (Díptera, Drosophilidae) in Ecuador. Dros. Inf. Serv. 92.
- Arcos, O.G.1989. Microdistribución de las especies del grupo de *Drosophila repleta* (Díptera, Drosophilidae) en un cuadrante Guayllabamba, Ecuador, con la descripción y Biología de una nueva especie. Tesis de Licenciatura, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Ashburner, M., Carson, H.L., Thompson, JR. 1982. The Genetics and Biology of *Drosophila*. Volume 3b, Imprenta Academic, New York, Estados Unidos.
- Bedoya, G., Barrera, L. 1980. Estudio de algunos aspectos morfológicos en cromosomas politénicos. Laboratorio 16. Actualidades Biológicas 9 (31): 16-24.
- Berghella, L., Dimitri, P. 1996. The Heterochromatin rolled Gene of *Drosophila melanogaster* is Extensively Polytenized and Transcriptionally Active in the Salivary Gland Chromocenter. Genetics 144: 117-125.

- Biermann, C. 1997. Ticking Telomeres/Telltale Telomerase. *The American Biology Teacher* 59 (1): 16-20.
- Brcic, D., Koref-Santibañez, S. 1957a. The *mesophragmatica* group of species of *Drosophila*. *Evolution* 11:300-310.
- Brcic, D., Koref-Santibañez, S. 1957b. The *mesophragmatica* group of *Drosophila* with description of three new species. *Evolution* 11:300-310.
- Brcic, D. 1957a. Chromosomal polymorphism in natural populations of *Drosophila pavani*. *Chromosoma* 8: 699-708.
- Brcic, D. 1957b. A comparative study of chromosomal variation in species of the *mesophragmatica* group of *Drosophila*. *Genetics* 42: 798-805.
- Brcic, D. 1958. Evolución del grupo *mesophragmatica* del Género *Drosophila*. *Biológica* XXVI: 3-46.
- Brcic, D., Koref-Santibañez, S. 1963. Mating activity of homo-and heterokaryotypes in *Drosophila pavani*. *Genetics* 49: 585-591.
- Brcic, D., Nair, P. S., Wheeler, M. R. 1971. Cytotaxonomic Relationship within the *mesophragmatica* Species group of *Drosophila*. *Studies in Genetics* VI: 1-16.
- Céspedes, D., Rafael, V. 2011. Cuatro especies del género *Drosophila* (Díptera, Drosophilidae) miembros del grupo *mesophragmatica* en los Andes ecuatorianos. Por publicar.
- Fortino, A. 2005. Manual de Prácticas de Genética. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias. Las prensas de ciencia, Imprenta Publidisa, México.

- González, P. J. 2002. Evolución Comparada de los Elementos Cromosómicos en el género *Drosophila*. Título de Doctora en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España.
- Gunderina, L., Kiknadze, I., Istomina, A., Gusev, V., Miroshnichenko, L. 2004. Divergence of the Polytene Chromosome Banding sequences as a Reflection of Evolutionary Rearrangements of the Genome Linear Structure. Russian Journal of Genetics 41 (2): 130-137.
- Hartl, D.L., Lozovoskaya, E.R. 1995. Heterochromatin. En: Molecular Biology Intelligence Unit. The *Drosophila* Genoma Map: A Practical Guide. (D.M. Molsbery, eds) pp. 49-50. Landes R. Company, Texas, U.S.A.
- Hennig, W. 1999. Heterochromatin. Chromosoma 108: 1-9.
- Hunter, A.S., Hunter, R.A. 1964. The *mesophragmatica* species group of *Drosophila* in Colombia. Ann. Entom. Soc. Amer. 57: 732-736
- Koref-Santibañez, S. 1964. Reproductive Isolation Between the Sibling Species *Drosophila pavani* and *Drosophila gaucha*. Evolution 18 (2): 245-251.
- Koryakov, D., Alekseyenko, A., Zhinnlev, I. 1999. Dynamic organization of the beta-heterochromatin in the *Drosophila melanogaster* polytene X chromosome. Mol. Gen. Genet. 260: 503-509.
- Kress, H. 1996. Polytene Chromosomes: A General Model for the Eucaryotic Interphase State. Int. J. Insect Morphology and Embryology 25 (1/2): 63-91.
- Krimbas, C., Powell, J. 1992. *Drosophila* Inversion Polymorphism. CRC Press, Boca Raton.



- Krimbas, C., Powell, J. 1995. *Drosophila* Inversion Polymorphism. *Genet* 65: 247-250.
- Lacadena, J. 1996. Citogenética, Imprenta Complutense, Madrid, España.
- Lewis, E.B. 1954. «The Theory and Application of a New Method of Detecting Chromosomal Rearrangements in *Drosophila*». *The American Naturalist* 88 (841): 225.
- Lizandra, J., Elgion, L., Vera, V. 2010. Radiation of the “*Drosophila*” subgenus (*Drosophilidae*, *Díptera*) in the Neotropics. *Journal Zool Syst Evol Res* 48(4): 310–321.
- Markow, T.A., O’Grady, P. 2008. Reproductive ecology of *Drosophila*. *Functional Ecology* 22: 747-759.
- Morán, T. 2001. Cariología Z y Significado Evolutivo del Fenómeno de Asinápsis Somática en *Drosophila novemmaristata* y *Drosophila guayllabambae* (Grupo *repleta*, Subgrupo *hydei*, *Díptera Drosophilidae*). Tesis de Licenciatura, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Mota, N., Robe, L., Valente, L., Budnik, M., Loreto, L. 2008. Phylogeny of the *Drosophila mesophragmatica* Group (*Díptera*, *Drosophilidae*): An Example of Andean Evolution. *Zoological Science* 25: 526-532.
- Murray, A. 1990. All's well that ends well. *Nature* 346: 797-798.
- Nacur, J. 1958. Genitalia masculina de *Drosophila* del grupo *mesophragmatica* (*Díptera*). *Revista Brasileira de Biología* 18(3):243-249.

- Nair, P. S., Brncic, D. y Kojima Ken-Ichi. 1971. Isozyme Variation y Evolutionary Relationship in the *mesophragmatica* Species Group of *Drosophila*. *Studies in Genetics* VI: 18-28.
- Novitski, E. 2006. Genetics in the early twentieth century-a personal journey. *Chromosome Research* 14: 339-347.
- O'Grady, P., Baker, R., Durando, C., Etges, W., DeSalle, R. 2001. Polytene chromosomes as indicators of phylogeny in several species groups of *Drosophila*. *BMC Evolutionary Biology* 1:6.
- Pelling, C. 1972. Transcription in giant chromosomes puffs. En: *Developmental studies on giant chromosomes* (W. Beermann, eds) pp. 87-99. Springer, Verlag, Berlin.
- Powell, J. 1997. *Progress and Prospects in Evolutionary Biology: The Drosophila Model*. Oxford University Press, New York.
- Rafael, V., Arcos, G. 1988. *Drosophila guayllabambae* n. sp., un nuevo miembro del grupo *repleta*, subgrupo *hydei* (Díptera, Drosophilidae). *Evolución Biológica* 2: 167-176.
- Rafael, V., Arcos, G. 1989. Subgrupo *inca*, un nuevo subgrupo del grupo *repleta*, con descripción de *Drosophila huancavilcae* n. sp. (Díptera, Drosophilidae). *Evolución Biológica* 3: 233-243.
- Rafael, V., Arcos, G., Terán, L.A. 2000a. Ecología y distribución del género *Drosophila* en Guayllabamba y el Quinche, provincia de Pichincha – Ecuador. *Revista de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador*, Quito, 65: 130-155.

- Rafael, V., Arcos, G., Terán, L.A. 2000b. El género *Drosophila* en tres provincias de la costa del Ecuador y el registro de *Drosophila malerkotliana*. Revista de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, 65: 156-175.
- Rafael, V., Vela, D. 2000. *Drosophila* distribution in Ecuador. Drosophila information Service, Norman 83:85-88.
- Rafael, V., Vela, D. 2003. *Drosophila yangana* sp. nov. Un nuevo miembro del grupo *repleta*, subgrupo *inca* (Díptera, Drosophilidae). Revista de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, 71: 129-139.
- Rafael, V. 2007. *Drosophila malerkotliana* y *Zaprionus indianus* (Díptera, Drosophilidae) invaden poblaciones ecuatorianas de *Drosophila*. Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas. 28 (1, 2): 30- 43.
- Robe, L.J., Valente, V.L.S., Budnik, M., Loreto, E.L.S. 2005. Molecular phylogeny of the subgenus *Drosophila* (Díptera, Drosophilidae) with an emphasis on Neotropical species and groups: a nuclear versus mitochondrial gene approach. Mol Phylogenet Evol 36: 623–640
- Schaeffer, S., Bhutkar, A., McAllister, B., Matsuda, m., Matzkin, L., O'Grady, P., Rohde, C., Valente, V., Aguadé, M., Anderson, W., Edwards, K., Garcia, A., Goodman, J., Hartigan, J., Kataoka, E., Lapoint, R., Lozovsky, E., Machado, C., Noor, M., Papaceit, M., Reed, L., Richards, S., Rieger, R., Russo, S., Sato, H., Segarra, C., Smith, D., Smith, T., Strelets, V., Tobar, Y., Tomimura, Y., Wasserman, M., Watts, T., Wilson, R., Yoshida, K., Markow, T., Gerbart, W., Kaufman, T. 2008. Polytene Chromosomal Maps of 11 *Drosophila* Species: The Order of Genomic Scaffolds Inferred From Genetic and Physical Maps. Genetics 179: 1601-1655.

- Shorrock, B. 1972. Chapter 2: Laboratory Ecology. Life-cycle of *D. melanogaster*. En: *Drosophila* (H. Burn, eds) pp. 31-40. Ginn & Company Limited, London, Great Britain.
- Strickberger, M.W. 1978. Parte I: Identificación del material genético. Capítulo 2: La división Celular y los cromosomas. En: *Genética* (M. Aguadé y G. Larrea, eds.) pp 26-27. Ediciones Omega, S.A., Barcelona, España.
- Throckmorton, L. 1975. The phylogeny, ecology and geography of *Drosophila*. In: *Handbook of Genetics* (R.King, ed) pp: 421–469. Plenum, New York.
- Vela, D., Rafael, V. 2001. Ocho nuevas especies del grupo *tripunctata*, género *Drosophila* (Díptera, Drosophilidae), y el registro de *Drosophila paraguayensis* en el Bosque Protector Paschoa, Pichincha – Ecuador. *Revista de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador*, Quito, 66: 92-120.
- Vela, D., Rafael, V. 2004. Three new Andean species of *Drosophila* (Díptera, Drosophilidae) of the *mesophragmatica* group. *Iheringia, Sér. Zool.* 94(3):295-299.
- Vela, D., Rafael, V. 2004a. Dos nuevas especies del grupo *flavopilosa*, género *Drosophila* (Díptera, Drosophilidae) en el Bosque Paschoa, Provincia de Pichincha. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas.* 26(1,2): 7-13.
- Vela, D., Rafael, V. 2004b. Tres nuevas especies del grupo *guarani*, género *Drosophila* (Díptera, Drosophilidae) en el Bosque Paschoa, Provincia de Pichincha-Ecuador. *Revista de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador*, Quito, 26: 14-21.

- Vela, D., Rafael, V. 2005a. Nuevas especies de *Drosophila* (Díptera, Drosophilidae) en el Bosque Pasochoa, Pichincha – Ecuador. Revista de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, 75: 69-80.
- Vela, D., Rafael, V. 2005b. Catorce nuevas especies del género *Drosophila* (Díptera, Drosophilidae) en el bosque húmedo montano del Volcán Pasochoa, Pichincha, Ecuador. Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas. 27(1,2): 27-41.
- Wasserman, M. 1963. Cytology and Phylogeny of *Drosophila*. The American Naturalist XCVII (896).
- Wasserman, M. 1982a. Evolution of the *repleta* group. En: The Genetics and Biology of *Drosophila*. Vol 3b. (M. Ashburner, H. L. Carson y J. N. Thompson, JR. eds.) pp. 61-139.
- Wasserman, M. 1982b. Cytological evolution in the *Drosophila repleta* species group. Ecological Genetics and Evolution: 49-64.
- Zhang, P., Spradling, A. C. 1994. The *Drosophila* Salivary Gland Contains Highly Polytenized Subdomains of Mitotic Heterochromatin. Genetics 139: 659-670.

## 8. FIGURAS









**Figura 4. Cromosoma X: (*D. p.*) *Drosophila pavani* (secuencia estándar del grupo *mesophragmatica*), (*N. sp.*) Nueva especie, (C) Cromocentro.**

**Figura 5. Cromosoma 2: (*D. p.*) *Drosophila pavani* (Secuencia estándar del grupo *mesophragmatica*), (*N. sp.*) Nueva especie, (C) Cromocentro.**

**Figura 6. Cromosoma 3: (*D. p.*) *Drosophila pavani* (Secuencia estándar del grupo *mesophragmatica*), (*N. sp.*) Nueva especie, (C) Cromocentro.**

**Figura 7. Cromosoma IVR: (*D. p.*) *Drosophila pavani* (Secuencia estándar del grupo *mesophragmatica*), (*N. sp.*) Nueva especie con la inversión 4e, (C) Cromocentro.**

**Figura 8. Cromosoma IVL: (*D. p.*) *Drosophila pavani* (Secuencia estándar del grupo *mesophragmatica*), (*N. sp.*) Nueva especie, (C) Cromocentro.**









## **9. ANEXOS**