

**PONTIFICIA UNICERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

**ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**Diversidad del género *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae), en la estación seca y lluviosa en el Bosque Protector Yanacocha (Quito, Ecuador).**

**Disertación previa a la obtención del título de Licenciada en Ciencias Biológicas**

**MARÍA ISABEL TAMAYO GUDIÑO**

**Quito, 2015**

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

**CERTIFICADO**

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Biológicas de la candidata María Isabel Tamayo Gudiño ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Dra. Violeta Rafael

Directora de la Disertación

Quito 23 de noviembre de 2015

## TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	7
ABSTRACT.....	8
INTRODUCCIÓN.....	9
MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
Área de estudio.....	12
Fase de campo.....	13
Fase de laboratorio.....	14
Análisis estadístico.....	14
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
AGRADECIMIENTOS.....	21
DECLARACIÓN DE DIVULGACIÓN.....	21
LITERATURA CITADA.....	21
TABLAS.....	29
FIGURAS.....	33
ANEXO 1.....	38

**Two new species of the genus *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae), in Yanacocha  
protected forest, Pichincha, Ecuador.....39**

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1	Número de individuos del género <i>Drosophila</i> en el gradiente altitudinal, del sendero “Andean Snipe” .....	30
Tabla 2	Número de individuos del género <i>Drosophila</i> colectados en la estación seca (agosto del 2013 y septiembre del 2014) y estación lluviosa (marzo del 2014 y mayo del 2014) en el bosque de Yanacocha.....	31
Tabla 3	Prueba de signos de Wilcoxon, para determinar diferencias entre la estación seca y lluviosa del bosque protector Yanacocha. ....	32

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Curvas de acumulación de especies.....	34
a.	– Curva de acumulación de especies del género <i>Drosophila</i> (ago 2013, mar 2014, may 2014 y sep 2014).....	34
b.	– Curva de acumulación de especies, usando los estimadores para la estación seca (agosto del 2013 y septiembre del 2014).....	34
c.	– Curva de acumulación de especies, usando los estimadores para la estación lluviosa (marzo y mayo del 2014).....	34
Figura 2	Relación entre la precipitación, temperatura, humedad relativa y la abundancia de especies de <i>Drosophila</i> colectadas en el bosque protector Yanacocha.....	35
Figura 3.	– Variación de temperatura.....	36
a.-	variación en la estación seca (agosto del 2013 y septiembre del 2014).....	36
b.-	variación en la estación lluviosa (marzo y mayo del 2014).....	36
Figura 4	Variación de Humedad Relativa.....	37
a.-	variación en la estación seca (agosto del 2013 y septiembre del 2014).....	37
b.-	variación en la estación lluviosa (marzo y mayo del 2014).....	37

**Diversidad del género *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae), en la estación seca y lluviosa en el Bosque Protector Yanacocha (Quito, Ecuador).**

María Isabel Tamayo Gudiño<sup>1</sup> & Violeta Lily Rafael Hidalgo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Genética Evolutiva, Escuela de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Apartado: 17-01-2184, Quito, Ecuador.

(tamayo.izumit.isabel183@gmail.com; vrafael@puce.edu.ec)

Financiado por la Universidad Católica del Ecuador con el proyecto No. H19191

**RESUMEN**

El género *Drosophila* tiene una distribución cosmopolita, y se encuentra desde el nivel del mar hasta los 4100 de altitud. Los miembros de este género son considerados como descomponedores de materia orgánica, ya que consumen microorganismos asociados con la materia en descomposición. Las especies del género que habitan en los trópicos disponen de alimento durante todo el año, mientras que las especies de zonas templadas encuentran su alimento desde la primavera hasta inicios del otoño. Por esta razón en zonas templadas las especies de *Drosophila* poseen varias adaptaciones para sobrevivir en el invierno, y la más común es la diapausa. El objetivo de este estudio fue determinar si existe un cambio en la composición de las poblaciones de *Drosophila* en las estaciones lluviosa y seca. Se realizaron cuatro colectas, en los meses de agosto del 2013, marzo, mayo y septiembre del 2014 en la Reserva Yanacocha, al noroccidente del volcán Pichincha, Ecuador. En total se recolectaron 426 individuos, 131 en la estación seca y 295 en la estación lluviosa. Estos individuos fueron agrupados en 18 especies de las cuales dos especies son nuevas para la ciencia: *Drosophila* 1 sp. nov. y *Drosophila* 2 sp. nov.

Para dilucidar como cambian las fluctuaciones de las poblaciones del género *Drosophila* entre las estaciones seca y lluviosa se utilizó la prueba de signos de Wilcoxon y el inverso del índice de diversidad de Gini-Simpson. La prueba de Wilcoxon mostró que el bosque no tiene ninguna diferencia entre las estaciones. Con el índice obtuvimos que en la estación seca el valor del índice es  $1-D=0.79$  y en la estación lluviosa es  $1-D=0.71$  estos valores indican que la diversidad del género *Drosophila* en el bosque Yanacocha es similar, en ambas estaciones. Los factores ambientales como la temperatura, humedad relativa y altitud no muestran ningún cambio drástico entre estaciones, es decir se mantienen relativamente estables durante todo el año. Sin embargo la precipitación, la cual presenta una variación a lo largo del año podría ser uno de los factores que estarían influyendo en la abundancia de especies.

**PALABRAS CLAVE:** Bosque de transición, diversidad, estacionalidad, índice de Gini-Simpson, precipitación.

## **ABSTRACT**

The genus *Drosophila* has a cosmopolitan distribution and is found from sea level to 4100 meters above sea level. Members of the genus *Drosophila* are considered as decomposers of organic matter, since they eat microorganisms associated with decaying matter. Species of the genus inhabiting the tropics have food throughout the year, while temperate species find their food from spring to early fall. Therefore *Drosophila* species have various adaptations to survive the winter, the most common being the diapause. The aim of this study was to determine if there is a change in the composition of the populations of *Drosophila* in the rainy and dry seasons. Four collections were made in the months of August 2013, March, May and September 2014 in the Yanacocha Reserve, northwest of the Pichincha volcano, Ecuador. In total 426 individuals were collected,

131 in the dry season and 295 were collected in the rainy season. These individuals were grouped into 18 species, of which two species are new to science: *Drosophila* 1 sp. nov., and *Drosophila* 2 sp. nov. To reveal the fluctuations in the populations between the dry and rainy seasons we use Wilcoxon signed-ranked test and the inverse Gini-Simpson diversity index was used. Wilcoxon test shown that there is not any difference between seasons in the forest. In the dry season it is  $1-D = 0.79$  and in the rainy season is  $1-D = 0.71$  these values indicate that the diversity of the genus *Drosophila* in the Yanacocha forest is similar in both seasons. Environmental factors do not show any drastic changes between stations, they remain relatively stable throughout the year. However the precipitation could be one of the factors that would influence the abundance of species

**KEY WORDS:** Diversity, Gini-Simpson index, precipitation, seasonality, transition forest.

## INTRODUCCIÓN

La familia Drosophilidae fue creada con 12 especies pertenecientes al género *Drosophila*, las cuales no estaban relacionadas sistemáticamente [1]. En la actualidad esta familia incluye más de 3000 especies [2], y se subdivide en dos subfamilias Steganinae y Drosophilinae. La subfamilia Drosophilinae contiene al género *Drosophila*, que cuenta aproximadamente con 1.500 especies [3]. Dentro del género *Drosophila* existen ocho subgéneros, siendo los más representativos los subgéneros *Drosophila* y *Sophophora*. El subgénero *Drosophila* es el más abundante con 721 especies, *Sophophora* tiene 331 especies [4].

El género *Drosophila* tiene distribución mundial. Se puede encontrar desde el nivel del mar hasta los 4100 de altitud, y también se la encuentra desde los trópicos hasta la tundra [5]. Algunas especies del género son endémicas de regiones específicas o de ecosistemas particulares. Estas

especies se encuentran dentro de la categorización de especies ampliamente distribuidas con respecto a su geografía, pero son ecológicamente restringidas [6]. Por ejemplo, los miembros del grupo de *Drosophila repleta* tienen un desarrollo íntimamente relacionado con los cactus y otras plantas suculentas, y tienen la misma dispersión que las plantas de las cuales dependen [7].

Los miembros del género *Drosophila* suelen alimentarse de los microorganismos, levaduras y bacterias asociadas con las primeras etapas de descomposición de las plantas, así como de los hongos [8]. Existen ciertas especies de *Drosophila* que están asociadas con flores, especialmente en el estadio larval [9,10]. Hay algunas excepciones como *Drosophila suzukii*, que es considerada plaga en Estados Unidos y Europa, porque ovipositan y alimentan de frutas maduras provocando la descomposición acelerada de la fruta [11,12,13].

El alimento de *Drosophila* está disponible desde la primavera hasta el otoño en las zonas templadas, por lo que algunas especies tienen adaptaciones para sobrevivir al invierno, como: 1) oviposición en un sustrato con una temperatura óptima [14]; 2) diapausa [15]; y 3) aclimatación [16]. Estas adaptaciones brindan a las especies las formas de mitigar los efectos de la estación desfavorable [17]. A excepción de las especies domésticas, como *D. melanogaster* y *D. simulans*, las especies silvestres no vuelan en invierno [6, 18].

En las zonas tropicales en cambio, los recursos están disponibles todo el año. La disponibilidad de alimento depende de la fenología de las plantas, como es el caso de las mariposas [19], la cual esta proporcionada por la estacionalidad. Sin embargo en los trópicos la estacionalidad se basa en sistemas de precipitaciones discontinuas [20]. A pesar de que la estacionalidad no está claramente marcada, las especies han tenido que desarrollar una sincronización con su planta hospedera para poder aprovechar los recursos [21]. Por este motivo algunas especies se hacen presentes en la

temporada seca, mientras que otras aparecen únicamente durante la estación lluviosa [19, 22]. Esta fluctuación se debe a la diferencia de las especies que habitan en zonas templadas, las especies tropicales no tienen adaptaciones marcadas como la diapausa, ya que esta haría que los individuos fueran más vulnerables a los ataques de los depredadores, parásitos y parasitoides [23]. En el caso de las montañas tropicales, las especies que habitan zonas con altitud elevada, como los escarabajos, experimentan cambios abruptos de temperatura, radiación solar, y humedad a medida que aumenta la altitud, estos cambios pueden ser producidos en un solo día [24].

Las especies neotropicales de *Drosophila* han sido descritas desde 1830 [25], y todavía se continúan descubriendo nuevas especies. En los primeros registros del género *Drosophila* en el Ecuador se mencionan cinco especies: *D. obscurifrons*, *D. dilacerata*, *D. mellea*, *D. griseicollis* y *D. ferruginea*; estas especies fueron recolectadas por Rivet, a finales de 1800, en la sierra ecuatoriana [26]. Desde entonces se han registrado 112 especies de *Drosophila* en el Ecuador [27].

¿Cómo oscilan las especies entre la temporada seca y la temporada lluviosa? Esta pregunta ha sido resuelta en otras regiones neotropicales como Costa Rica, en la que observaron que existe mayor número de especies en la época lluviosa que en la seca, y además que la abundancia aumenta si las especies se encuentran en un bosque primario [28]. En Brasil, también se han hecho otros estudios con la estacionalidad, en el bosque tropical semidecidual, en el bosque atlántico y la pampa (los dos últimos pertenecientes a la zona templada de Sudamérica). Se ha visto que existe una variación muy pronunciada de individuos de *Drosophila*. En estos ecosistemas se ha comprobado la dominancia de algunas especies, las cuales varían en las distintas épocas del año [29, 30, 31, 32].

En el caso de las zonas tropicales del viejo mundo se han realizado estudios de las variaciones estacionales en la India, en donde las especies comunes como *D. ananassae* y *D. inmigrans*, se encuentran durante todo el año, sin embargo las especies raras como *D. punjabiensis*, fueron encontradas solo durante la época del monsoon, [33, 34].

En el Ecuador, se han realizado estudios sobre la diversidad del género *Drosophila* en diferentes gradientes altitudinales [35], pero no se ha hecho ningún trabajo relacionado con la estacionalidad. Esta investigación es la primera en abordar la variación de la diversidad del género *Drosophila* en un bosque alto andino. Este bosque pertenece a una reserva privada, categorizado como Bosque Protector Yanacocha, el muestreo se realizó durante las épocas seca y lluviosa.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **AREA DE ESTUDIO**

El bosque protector Yanacocha (0°6'41.8"S, 78°35'4.9"W) se localiza en el noroccidente del volcán Pichincha (provincia de Pichincha, Ecuador). Para este estudio se utilizó como transecto uno de los senderos establecidos (Andean Snipe, 3560m -3798m), el cual comprende dos tipos de vegetación: 1) en la parte baja se presenta el bosque altimontano norte- andino siempre verde (2.600-4000m); 2) y en la parte alta está el tipo de bosque bajo y arbustal alto andino paramuno (3.600 a 4.100m) [36].

El bosque altimontano norte- andino siempre verde, se extiende en forma de franjas, especialmente en las estribaciones montañosas y quebradas de los Andes. Se considera una zona de transición entre la vegetación de montaña y zona de páramo. Las especies de este tipo de

bosque son arbóreas, arbustivas y epifitas, las más representativas son: *Aa* sp., *Barnadesia arborea*, *B. strigosum*, *Cavendishia bracteata*, *Clethra fimbriata*, *Collumelia oblonga*, *Coriaria ruscifolia*, *Dioscorea* sp., *Disterigma humboldtii*, *Dorobaea pimpinelifolia*, *Gunnera brephogea*, *Lepidaploa canescens*, *Neurolepis aristata*, *Orepanax seemannianum*, *O. ecuadoriense*, *Rubus coriaceus*, *Siphocampylus giganteus*, *Symplocos* sp, *Tristerix longebracteatus* y en menor cantidad está presente la especie de *Polylepis incana* [36].

El bosque bajo y arbustal alto andino paramuno, es conocido como la ceja Andina, que es la transición entre la parte superior del bosque andino montano y el páramo. Las especies de este tipo de bosque son esclerófilas y arbustivas, siendo las más representativas: *Brachyotum ledifolium*, *B. strigosum*, *Berberis pichinchesis*, *Bidens Leucanta*, *Bomarea multiflora*, *Carex pichinchesis*, *Cortaderia nitidia*, *Escallonia myrtilloides*, *Gynoxis buxifolia*, *Hypericum larciforium*, *Lachemilla orbiculata*, *Monina* sp., *Plantajo importante*, *Pernettya prostrata* y *Polylepis incana* [36].

## **FASE DE CAMPO**

Se realizó cuatro colectas del género *Drosophila*, dos en la estación seca (Junio-Septiembre) y dos en la estación lluviosa (Octubre- Mayo). La primera captura de *Drosophila* se realizó durante la estación seca del 2013 (agosto), la segunda y tercera durante la estación lluviosa (marzo y mayo del 2014) y la cuarta captura en la estación seca (septiembre del 2014). Se recolectó individuos a los 14 y 21 días, siendo a los 21 días el tiempo en que se retiraron las trampas.

A lo largo del transecto se establecieron diez puntos de muestreo y se colocaron 40 trampas (cuatro trampas en cada punto). Las trampas contenían plátano fermentado con levadura [37]

También se dejaron Datalogers para medir la humedad relativa, y la temperatura cada tres horas durante 21 días. Los datos de la precipitación fueron proporcionados por el Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI), el cual tiene una estación meteorológica ubicada a 11,9km del bosque Yanacocha a 3320msnm, los datos fueron medidos diariamente.

Los individuos de *Drosophila* recolectados vivos fueron colocados en tubos con medio de cultivo [38], mientras que los individuos muertos se depositaron en tubos de micro centrífuga con alcohol al 75%.

## **FASE DE LABORATORIO**

En el laboratorio, se fundaron isoclinas, para obtener la descendencia F1 y poder reconocer el macho y la hembra de cada especie. Todos los individuos que se obtuvieron de las isoclinas, fueron fotografiados y analizados su morfología externa en un estereomicroscopio (Zeiss; Discovery V8) con una cámara fotográfica incorporada. La identificación de las especies se hizo mediante análisis de genitalia. Todos los individuos, pertenecientes a nuevas especies, y nuevos registros para la zona, fueron montados, etiquetados y colocados en el Museo de Zoología, Sección de Invertebrados de la Pontificia Universidad Católica (QCAZ - I).

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICOS**

Para los análisis se utilizó un método no paramétrico, ya que los datos no asumen una distribución normal [39]; se usaron las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk y Kolmogorov para comprobar la ausencia de una distribución normal [40,41]. Se usó la prueba de signos de Wilcoxon, que es la prueba no paramétrica, equivalente a la prueba de t dependiente, esta prueba se la realiza para dos grupos de datos [41], para determinar si existió una diferencia significativa

entre estaciones. Los métodos no paramétricos utilizados para medir la diversidad fueron:

Estimador de la riqueza Chao 1 y el índice Diversidad de Gini- Simpson.

Chao 1 estima el número de especies absolutas en una muestra, en base al número de especies [42]. Las especies raras pueden ser agrupadas como singletons, que son especies representadas por un solo individuo en la muestra, o como doubletons, que son especies que se encuentran representadas por dos o más individuos [43, 44]. El valor producido por el análisis del estimador de Chao 1 es el resultado de una función del radio de singletons y doubletons, el cual superará la riqueza de especies observadas, cuando la frecuencia de los singletons aumente. [42].

Se usó el índice de Ginni-Simpson que toma en cuenta a las especies dominantes y no a las especies raras o moderadamente raras; por lo que se lo representa con la letra D (Dominancia) [45]. En términos prácticos el Índice de Gini-Simpson mide la probabilidad de que dos individuos elegidos al azar en una muestra pertenezcan a la misma especie [34, 46]. Cuando el valor del índice de Ginni-Simpson se eleva la diversidad disminuye, por lo cual se lo expresa generalmente como el inverso (1-D), cuyo valor de la medida aumenta a medida que el conjunto se vuelve más uniforme [42]. Los análisis estadísticos se realizaron con los programas: IBM SPSS Statics 23, PAleontological STatics (PAST) versión 3.02 y Estimates versión 9.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En las cuatro colectas, se capturaron en total 426 individuos, agrupados en 18 especies. Cuatro hembras y un macho no fueron identificados. Se realizaron los análisis estadísticos con 17 especies, asumiendo que una de las hembras desconocidas podría ser la hembra del macho que no fue identificado. Las demás hembras, al ser completamente diferentes a las hembras de las

especies que se pudieron identificar, fueron consideradas como especies distintas (Tabla 1). Dos de las especies encontradas fueron especies nuevas para la ciencia, una de ellas pertenece al grupo de especies de *Drosophila annulimana*. Estas especies nuevas son descritas en el manuscrito " Two new species of the genus *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae), in Yanacocha protected forest, Pichincha, Ecuador" (Anexo 1). Las especies nuevas son *Drosophila* 1 sp. nov. y *Drosophila* 2 sp. nov.

El esfuerzo de muestreo de este estudio no se ha completado todavía, porque en la curva de acumulación de especies no se forma aún la asíntota, lo que indica que se necesitaron más muestreos para alcanzar el equilibrio (Figura 1a.).

En total en la estación seca se recolectaron 131 individuos, 75 individuos en agosto del 2013, repartidos en nueve especies, y 56 individuos en el mes de septiembre del 2014 agrupados en 13 especies. Las especies más abundantes fueron: *D. carlosvilelae*, *D. asiri*, *D. ninarumi* y *D. yanayuyu* (Tabla 2). El esfuerzo de muestreo de esta estación expuso que las curvas de las especies observadas y la curva con los valores del estimador de Chao 1 se cruzan; el valor de Chao 1 mostró un 15 que significa que faltaron dos especies para completar el muestreo en la estación seca (13 especies encontradas) (Figura 1b.). Las curvas de singletons y doubletons estaban entrelazadas. El índice de diversidad de Ginni-Simpson fue  $1-D = 0,79$ , que está cerca de uno, lo que indica que tiene diversidad alta.

En la estación lluviosa se recolectaron 295 individuos, 121 individuos correspondientes al mes de marzo del 2014, repartidos en ocho especies, y 174 individuos al mes de mayo del 2014, agrupados en 13 especies (Tabla 2). Las especies numerosas que aparecen en la estación lluviosa son: *D. carlosvilelai*, *D. asiri*, *D. ninarumi* y *D. paraguayensis*. El esfuerzo de muestreo de esta

estación indicó que al igual que en la estación seca, las curvas de especies observadas y la curva con los valores producidos por Chao 1 se cruzan; el valor de Chao 1 reveló un valor de 18.33, lo que significa que se necesitaron tres especies para que la curva de acumulación de especies alcance la asíntota en la estación lluviosa (15 especies encontradas) (Figura 1c.). Las curvas de singletons y doubletons se cruzaron dos veces en la curva. El análisis de diversidad de Ginni-Simpson fue  $1-D = 0,71$ , este valor no es muy diferente con el valor de la estación seca, también es una diversidad alta.

Thompson y Withers [47] señalan que hay muchos factores para que la curva tenga diferente forma, uno de estos factores puede ser la poca riqueza de especies, otro factor pudiera ser el cambio de la abundancia general de especies o en otro caso puede ser la proporción de especies raras presentes en la muestra. En este caso que se hayan cruzado las curvas refleja que se alcanzó la completitud del muestreo. Las curvas de singletons y doubletons, las cuales estuvieron entrelazadas en ambas estaciones confirman que el muestreo fue completo, por lo tanto cada especie fue representada por al menos dos individuos [43]. Consecuentemente en este estudio se colectaron casi todas las especies del área de estudio.

El inverso del índice de Ginni-Simpson manifestó que la diversidad fue alta en ambas estaciones, estos valores reflejan la equidad de las especies (V. Crespo, com. pers.). La prueba de signos de Wilcoxon señaló que ambas estaciones no tienen diferencia ( $p = 0.199$ ) (Tabla 3).

Sin embargo si tan sólo se tiene en cuenta el número de individuos, se podría decir que la estación lluviosa (295 individuos) es más abundante que la estación seca (131 individuos). Los estudios de Torres & Madi-ravazzi [29]; Srinath & Shivanna [33], encontraron que existe una mayor cantidad de individuos en la estación lluviosa que en la estación seca. Los resultados

obtenidos por los autores citados son corroborados por los resultados del presente estudio (Figura 2). Una razón puede ser que al llover las plantas crecen, produciendo una gran cantidad de recursos [23], como son los frutos, que al descomponerse atraen a más individuos [34]. Las plantas no son las únicas que se benefician con la lluvia. Los hongos, otra fuente de alimento para las especies de *Drosophila* [8]. Las drosófilas incrementan en número durante la estación lluviosa, cuando se encuentra mayor cantidad de este recurso [48]. Esto puede deberse a que las especies de drosófilas dependen de la fenología de su fuente de alimento (plantas u hongos), esto podría considerarse como clave para entender la fluctuación de las poblaciones en el bosque [19]. Seguramente fueron varios los factores que interactuaron en la sincronización de las drosófilas con su planta hospedera, estos pueden ser factores evolutivos, climáticos como la nubosidad, temperatura, fotoperiodo y humedad [21].

Mientras tanto, en la temporada seca las especies podrían encontrarse activas pero con una diapausa reproductiva [28]. Janzen [49] observó en su estudio, realizado en bosques secundarios de Costa Rica, que en la época seca no se encuentran etapas inmaduras del desarrollo de los insectos. El aumento de la temperatura se consideraría mortal para los huevos, los cuales son altamente vulnerables a la desecación [23]. Otra razón podría ser que la falta de recursos alimenticios no permite a los organismos generar óvulos y espermatozoides; a diferencia de las especies de zonas templadas que pasan el invierno en un estado totalmente inactivo. Las especies tropicales no pueden realizar esta diapausa completa porque al iniciar la estación seca, el ambiente aún continúa húmedo, lo que dificulta encontrar una zona para refugiarse [49], porque la humedad atrapada crearía un lugar idóneo para que el individuo pueda ejecutar sus funciones normalmente.

En este estudio se observó que especies como *D. carlosvilelae*, *D. asiri*, *D. ninarumi*, y *D. paraguayensis*, aumentan su abundancia en la época lluviosa, mientras que en la temporada seca su abundancia disminuye. Sin embargo, *D. carlosvilelae* es la especie más abundante en ambas estaciones, a pesar de que en la estación seca se encuentra en menor número que en la estación lluviosa; lo cual indicaría que esta especie es representativa de este bosque y que tiene adaptaciones para estar presente todo el año. Además se conoce que esta especie vive sobre los 3400msnm [50].

Los factores abióticos: precipitación, altitud, humedad relativa (HR) y la temperatura tienen una gran influencia en la fluctuación de las especies [51]. La temperatura está íntimamente relacionada con la altitud, debido a la caída de la temperatura en 5° C, cuando hay un aumento de 1000m en la altitud [52]; sin embargo en este estudio la altitud no tiene un gran impacto en la distribución de las especies, ya que la distancia entre cada punto de muestreo es de cien metros longitudinales, y esto no podría ser considerado como un gradiente altitudinal (Tabla 1). Otro factor es la humedad relativa que determina la cantidad del rango de evaporación y la pérdida de humedad del suelo [53]; en las zonas tropicales, especialmente en las zonas ecuatoriales, se presentan los valores más altos de humedad relativa donde la media de vapor de agua del aire y la temperatura son elevadas [53]. La humedad relativa a nivel del suelo tiene un valor de 100% y va disminuyendo a medida que se aleja del suelo [54]. El bosque protector Yanacocha, no muestra una gran heterogeneidad en el caso de los factores abióticos como la humedad relativa y la temperatura (Figuras 3-4). Se observa que todo el año, la temperatura tiene una media estable, y la humedad relativa (HR) es alta pero constante durante todas las colectas (Figura 4). Este estudio demuestra una clara diferencia sobre la abundancia, hay más individuos en la estación

lluviosa que la estación seca. La precipitación en la estación lluviosa no permitió la disminución de humedad en el ambiente, mientras que en la estación seca la lluvia es pobre y la humedad decrece. Se ha visto que las drosófilas se estresan más rápidamente en los ambientes secos que en los húmedos. Eso se debe a que estos organismos tienden a desecarse más rápidamente cuando están presentes en un sitio con temperatura alta y humedad baja, mientras que en lugares con la temperatura alta y la humedad alta los niveles de estrés son menores [54]. Los organismos que se encuentran en la estación lluviosa están más activas que cuando se encuentran en la estación seca, la humedad acumulada en el aire trae una buena oportunidad para la creación de microclimas en que los organismos podrían realizar sus actividades como la reproducción y la búsqueda de alimento. Bublly *et al.* [54] sugieren que en la estación seca las especies del género *Drosophila* puedan migrar hacia ambientes con condiciones más aptas para mitigar las altas temperaturas y la baja humedad. Sin embargo en el bosque Yanacocha no hay pruebas de que las especies migren, ya que la mayoría de especies están en el bosque durante todo el año.

Se podría decir que ambas estaciones son igualmente diversas (diversidad alta), y no existe una significación estadística que pruebe que sean diferentes. Sin embargo, un índice de diversidad no mide la diversidad, el índice señala un aproximado de la diversidad que existe en un área [55].

Por lo tanto se podría afirmar que los factores abióticos determinan las fluctuaciones en los tamaños de las poblaciones [33]. En el caso del bosque protector Yanacocha los factores de temperatura y humedad relativa no son influyentes. La temperatura permaneció constante durante todo el estudio y no varía porque los puntos de muestreo no están en un gradiente altitudinal. La humedad relativa tuvo una variación, pero se la consideraría como una variación ligera que no afecto al número de individuos. En comparación con otros entornos, en los cuales se ve

claramente una diferencia marcada entre temperatura y humedad relativa que permiten el cambio de las poblaciones de *Drosophila* [54, 31, 52]. Las poblaciones de *Drosophila* en este bosque son muy estables tanto en época seca como en la lluviosa, ya que tienen a la mayoría de especies de *Drosophila* presentes durante todo el año. La precipitación sería el único factor ambiental que estaría influyendo en las fluctuaciones de la abundancia de las especies de *Drosophila* porque estaría generando gran cantidad de recursos alimenticios y crearía ambientes aptos para que los individuos se desarrollen.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por la financiación del proyecto H19191. A la fundación Jocotoco por permitirnos coleccionar en el Bosque Protector Yanacocha. Al Ministerio de Ambiente por los permisos de colección. Al Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI) por los datos de precipitación. A Emily Ramos, Luz Marina Llangarí, Ricardo Zambrano, Marcela Cisneros, Erika Caicedo, Eduardo Atiencia, Melani Noboa, Lucía Rodríguez, Jonathan Rondall and Luis Eduardo López por la compañía y paciencia tanto en el campo como en el Laboratorio.

## **DECLARACIÓN DE DIVULGACIÓN**

Ningún conflicto de intereses ha sido reportado por los autores.

## **LITERATURA CITADA**

[1] Wheeler, M.R. The Drosophilidae: A Taxonomic overview. In: Ashburner, M., Thompson, J.N., Carson, H.L. (Eds.). *The Genetics and Biology of Drosophila*, vol. 3a. Academic Press, London, pp. 1–97. 1981.

- [2] Wheeler, M.R. Additions to the catalog of the world's Drosophilidae. In: Ashburner, M., Thompson, J.N., Carson, H.L. (Eds.). *The Genetics and Biology of Drosophila*, vol. 3e. Academic Press, London, pp. 395–409. 1986.
- [3] Markow, T. A., O'Grady, P. *Drosophila*, A guide to species identification and use. Elsevier editorial. USA. 2006.
- [4] Van der Linde, K., Houle D. A supertree analysis and literature review of the genus *Drosophila* and closely related genera (Diptera , Drosophilidae ). *Insect Systematic & Evolution*, 2008; 39 (3): 241-268.
- [5] Throckmorton, L. H. The Phylogeny, Ecology and Geography of *Drosophila*. In R. C. King (Ed.), *Handbook of genetics*, vol. 3 (p. 49). Chicago: Plenum Publishing Corporation. 1975.
- [6] Parsons, P., A., & Stanley S., M.. Domesticated and Widespread Species. In: Ashburner, M., Thompson, J.N., Carson, H.L. (Eds.), *The Genetics and Biology of Drosophila*, vol. 3a. Academic Press, London, pp. 350–393. 1981.
- [7] Heed, W., B., Mangan, R., L. Community Ecology of the Sonoran Desert *Drosophila*. In: Ashburner, M., Thompson, J.N., Carson, H.L. (Eds.), *The Genetics and Biology of Drosophila*, vol. 3e. Academic Press, London, pp. 311–345. 1986.
- [8] Carson, H., L. The ecology of *Drosophila* breeding sites. Lyon Arboretum Lecture 2. University of Hawaii Press, Honolulu. 1971.
- [9] Oliviera, R., & Vilela, C. [Natural breeding substrates of flavopilosa group]. *Rev. Bra. Gen.*, 1994; 17(3):301.

- [10] Vela, D., Rafael, V. [ Two new species of flavopilosa group, genus *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) in Pasochoa forest. Province of Pichincha]. Rev. Ecu.Med. Cien. Bio., 2004a; 26:7-13.
- [11] Deprá, M., Poppe, J. L., Schmitz, H. J., De Toni, D. C., & Valente, V. L. S. The first records of the invasive pest *Drosophila suzukii* in the South American continent. *J. P. Sc.* 2014; 87(3):379–383.
- [12] Chandler, J., A., James, P., M., Jospin, G., Lang, J., M. The bacterial communities of *Drosophila suzukii* collected from undamaged cherries. *Peer J.* 2014; 2: 1-10.
- [13] Freda, P., J., Braverman, J., M. *Drosophila suzukii* , or Spotted Wing *Drosophila*, Recorded in Southeastern Pennsylvania, U.S.A. *Ent. N.*, 2013; 123 (1): 71-75.
- [14] Dillon, M. E., Wang, G., Garrity, P. a, & Huey, R. B. Review: Thermal preference in *Drosophila*. *J. Ther. Bio.*, 2009; 34(3), 109–119.  
<http://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2008.11.007>
- [15] Kimura, M. T. Interspecific variation of diapause intensity and seasonal adaptation in the *Drosophila auraria* species complex ( Diptera : Drosophilidae ). *Bri. Eco. Soc.*, 2014; 2(2), 177–183.
- [16] Parkash, R., & Ranga, P. Seasonal changes in humidity impact drought resistance in tropical *Drosophila leontia*: Testing developmental effects of thermal versus humidity changes. *Com. Bio. Phy.* 2014; 169, 33–43.

- [17] Rodríguez-Trellez, F., Rodríguez, M., A. Measuring evolutionary responses to global warming: Cautionary lessons from *Drosophila*. *Ins. Con. Div.* 2010; 3, 44-50.
- [18] Bächli, G., Vilela, C., R., Andersson Escher, S., Saura, A. *The Drosophilidae of Fennoscandia and Denmark*. 2004. Brill Academic Publishers.
- [19] Checa, M., F., Barragán, A., Rodríguez, J., Christman, M. Temporal abundance patterns of butterfly communities (Lepidoptera: Nymphalidae) in the Ecuadorian Amazonia and their relationship with climate. *Ann. Soc. En. Fra.* 2009. 45; 470-486.
- [20] Richter, M. Tropical mountain forests-distribution and general features. *Bio. Ecol. Se.* 2008; 2, 7-24.
- [21] Cueva, O., Homeier, J., Breckle, S., *et al.*, Seasonality in an evergreen tropical mountain rainforest in southern Ecuador. *Eco.* 2006; 12, 69-85.
- [22] Wolda, H. Seasonality of Tropical Insects. *J. An. Eco.* 1980; 49, 277-290.
- [23] Denlinger, D. Dormancy in Tropical Insects. *Ann. Re. En.* 1968; 31, 239-264.
- [24] Sømme, L., Davidson, R., Onore, G. Adaptations of insects at high altitudes of Chimborazo, Ecuador. *Eu. J. En.* 1996; 93, 313-318.
- [25] Val, F., C., Vilela, C., R., Marques, M., D. *Drosophilidae of Neotropical region*. In: Ashburner, M., Thompson, J.N., Carson, H.L. (Eds.). *The Genetics and Biology of Drosophila*, vol. 3a. 1981. Academic Press, London, pp. 123–168.

- [26] Becker, T., [Mission of Geographical Service of the Army for Its meridian Equatorial arc extent in South America], 1899-1906, 1919; 10(2): 208-209.
- [27] Acurio A., Rafael V. Diversity and geographical distribution of *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) in Ecuador. In *Dros. Inf. Ser.* 2009; Vol. 92, pp. 20–25.
- [28] Janzen, D., Schoener, T. Differences in Insect abundance and Diversity between Wetter and Drier sites during a Tropical Dry season. *Eco.*, 1968; 49 (1): 96-110.
- [29] Torres, F. R., & Madi-ravazzi, L. Seasonal variation in natural populations of *Drosophila* spp . ( Diptera ) in two woodlands in the State of São Paulo , Brazil. *In. Sé. Zoo.*, 2006; 96(4), 437–444.
- [30] De Toni, D., C., Gottschalk, M., S., Coredeiro, J., Hofmann, P., P., R., Valente, V., L., S. Study of Drosophilidae (Diptera) Communities on Atlantic Forest Islands of Santa Catarina State, Brazil. *Neo. Ent.* 2007; 36 (3): 356-375.
- [31] Poppe, J., L., Valente, V., L., S., Schimtz, H., J. Population Dynamics of Drosophilids in the Pampa Biome in Response to Temperature. *Neo. Ent.*, 2013; 42(3), 269-277.
- [32] Poppe, J., L., Valente, V., L., S., Schimtz, H., J. Structure of Drosophilidae Assemblage (Insecta, Diptera) in Pampa Biome (São luiz gonzaga, RS). *Pa. Av. Zoo. Museu de Zoologia da Universidad de Sao Paulo*, 2012; 52 (16): 185-195.
- [33] Srinath, B., & Shivanna, N. Seasonal variation in natural populations of *Drosophila* in Dharwad , India. *J. Ent. Zoo. St.*, 2014; 2(4), 35–41..

- [34] Achumi, B., Hegde, S., N., Lal, P., Yeniseti, S, C. Altitudinal and seasonal variation in *Drosophila* species on mount Japfu of Nagaland a sub-Himalayan hilly state of India. J. In. Sc., 2013; 13: 1-12..
- [35] Céspedes D, Rafael V. [Diversity of genus *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) in Cruz Loma brook, Pichincha, Ecuador]. Rev. Ecu. Med. Cien. Bio. 2013; Vol. xxxiv- N° 1 y 2.
- [36] MDMQ- Secretaría de Ambiente. [Specification of vegetation map of the Metropolitan District of Quito (DMQ)]. 2011. Quito, 96 páginas. ISBN: 978-9978-353-52-3.
- [37] Rafael V., Arcos G., Arcos Terán L. [Ecology and distribution of the genus *Drosophila* and the Guayllabamba Quinche province of Pichincha- Ecuador]. Rev. U. C. Ec. 2000.
- [38] Vela, D., Rafael, V. Three new andean species of *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) of the mesophragmatica group. Inh., 2004b; 94(3): 295-299.
- [39] Espinosa E. [The non parametric estimators of Chao]. El., 2003; 53: 53-56.
- [40] Hammer, Ø. Past: Reference manual version 3.02. 2014; 1-222.
- [41] Laerd Statistics. Wilcoxon Signed-Rank Test using SPSS Statistics. [Internet]. Lund Research Ltd. [updated 2013 cited 2015 Dec 12] Available from: <https://statistics.laerd.com/spss-tutorials/wilcoxon-signed-rank-test-using-spss-statistics.php>.
- [42] Magurran, A. Measuring Biological Diversity. 2004. Blackwell. Victoria, Australia.

- [43] Chao, A., Colwell R., K., Lin, C., Gotelly, N., J. Sufficient sampling for asymptotic species richness. *Eco.*, 2009; 90 (4): 1125-1133.
- [44] Jimenez-Valerde, A., Hortal, J., [The species acumulation curves and the necessity of evaluate the quality of biological inventoies]. *Rev. Ib. Arac.*, 2003; 8(31): 151-161
- [45] Pineda, E., O., Moreno, C., E. [Diversity of species]. En *Ecociencia. Métodos para el análisis de la diversidad*. 2014. Conferencia llevada acabo en Mindo, Pichincha, Ecuador.
- [46] Moreno, C. Translate of the original: Methods for measure diversity. 2001. M&T- Manuales y Tesis SEA. vol 1. Zaragoza. 84pp.
- [47] Thompson, G., Withers, P. Effect of species richness and relative abundance on the shape of the species accumulation curve. *Aus. Eco.*. 2003; 28(4), 355-360.
- [48] Patterson, J. T. The *Drosophilidae* of the south west. In: Cooper, D., Dobzhansky, T. 1956. The Ocurrance of Species of *Drosophila* in Different Life zones and at Different seasons. *Eco.*, 1943; 37 (3): 526-533.
- [49] Janzen, D. Sweep samples of Tropical Foliage Insects: Effects of seasons, vegetation types, elevation, time of day and insularity. *Eco.*, 1973; 54(3): 687-708.
- [50] Ramos, E. [Diversity of the genus *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) in three altitudinal levels in Napo Province, Ecuador] *Biología*. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Ecuador.

- [51] Begon, M., Harper, J., Townsend, C. Ecology: Individuals, Populations and Communities. 2006. Blackwell science. 4th Edition. pp.: 738.
- [52] Mani, M. S. Ecology and Biogeography of High altitude insects. (E. Schimitschek, Ed.) Series Entomologica (First). 1968. Springer science and Business Media.  
[http://doi.org/10.1016/S1571-5078\(08\)00422-4](http://doi.org/10.1016/S1571-5078(08)00422-4)
- [53] Peioxoto, J., Oort, A. The Climatology of Relative Humidity in the Atmosphere. Ame.Met. Soc., 1996; 9 (12): 3443- 3463
- [54] Bublly, O., Kristensen, T., Kellermann, V., Loeschke, V. Humidity affects genetic architecture of heat resistance in *Drosophila melanogaster*. J. Evo. Bio. 2012;25: 1180-1188
- [55] Jost, L. Entropy and Diversity. Oi., 2006; 2(1): 363-375.

# TABLAS

**Tabla 1: Número de individuos del género *Drosophila* en el gradiente altitudinal, del sendero “Andean Snipe”**

GRUPO	ESPECIES	ALTITUD										TOTAL
		3560m	3587m	3617m	3644m	3666m	3694m	3722m	3743m	3771m	3798m	
<i>D. annulimana</i>	<i>Drosophila</i> 2 sp. nov	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>D. asiri</i>	<i>D. asiri</i>	11	6	5	16	16	12	15	11	11	13	116
<i>D. flavopilosa</i>	<i>D. korefae</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>D. gurani</i>	<i>D. ecuatoriana</i>	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	5
<i>D. mesophragmatica</i>	<i>D. mesophragmatica</i>	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	2
	<i>D. rucux</i>	1	0	0	2	4	3	2	1	0	0	13
	<i>D. yanayuyu</i>	2	3	1	2	8	4	3	2	3	3	31
<i>D. tripunctata</i>	<i>D. carlosvilelae</i>	22	20	21	14	14	14	16	10	8	27	166
	<i>D. ninarumi</i>	7	9	4	3	3	4	2	6	0	4	42
	<i>D. paraguayensis</i>	0	4	3	6	1	1	1	2	0	9	27
	<i>D. paschoensis</i>	2	0	0	1	0	0	0	0	0	1	4
	<i>D. patacorona</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
No agrupadas	<i>Drosophila</i> 1 sp. nov.	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	7
	<i>Drosophila</i> 3 sp. desconocida (♀)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	<i>Drosophila</i> 4 sp. desconocida (♀)	0	0	2	0	0	0	1	1	0	0	4
	<i>Drosophila</i> 5 sp. desconocida (♀)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	<i>Drosophila</i> 6 sp. desconocida (♀)	0	2	0	0	0	0	1	0	0	0	3
	<i>Drosophila</i> 7 sp. desconocida (♂)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
<b>TOTAL</b>		46	48	36	46	47	38	43	33	29	60	426

**Tabla 2. – Número de individuos del género *Drosophila* colectados en la estación seca (agosto del 2013 y septiembre del 2014) y estación lluviosa (marzo del 2014 y mayo del 2014) en el bosque de Yanacocha**

	Grupo	Especies	Colectas				Total
			Estación seca		Estación lluviosa		
			Agosto 2013	Septiembre 2014	Marzo 2014	Mayo 2014	
<b>Subgénero <i>Drosophila</i></b>	<i>D. annulimana</i>	<i>Drosophila</i> 2 sp. nov.	0	1	0	0	1
	<i>D. asiri</i>	<i>D.asiri</i>	9	14	17	76	116
	<i>D. flavopilosa</i>	<i>D. korefae</i>	0	0	0	1	1
	<i>D. guarani</i>	<i>D. ecuatoriana</i>	2	2	0	1	5
	<i>D. mesophragmatica</i>	<i>D. mesophragmatica</i>	0	0	0	2	2
		<i>D. rucux</i>	1	8	2	2	13
		<i>D. yanayuyu</i>	6	12	0	13	31
	<i>D. tripunctata</i>	<i>D. carlosvilelae</i>	41	4	71	50	166
		<i>D. ninarumi</i>	13	5	18	6	42
		<i>D. paraguayensis</i>	0	6	10	11	27
		<i>D. paschoensis</i>	1	2	1	0	4
		<i>D. patacorona</i>	0	0	1	0	1
	No agrupadas	<i>Drosophila</i> 1 sp. nov.	0	0	0	7	7
		<i>Drosophila</i> 3 sp. desconocida (♀)	1	0	0	0	1
		<i>Drosophila</i> 4 sp. desconocida (♀)	0	1	1	2	4
		<i>Drosophila</i> 5 sp. desconocida (♀)	0	0	0	1	1
		<i>Drosophila</i> 6 sp. desconocida (♀)	0	1	0	2	3
		<i>Drosophila</i> 7 sp. desconocida (♂)	1	0	0	0	1
<b>Subtotal</b>			75	56	121	174	
			131		295		
<b>Total</b>			426				

**Tabla 3: Prueba de signos de Wilcoxon, para determinar diferencias entre la estación seca y lluviosa del bosque protector Yanacocha.**

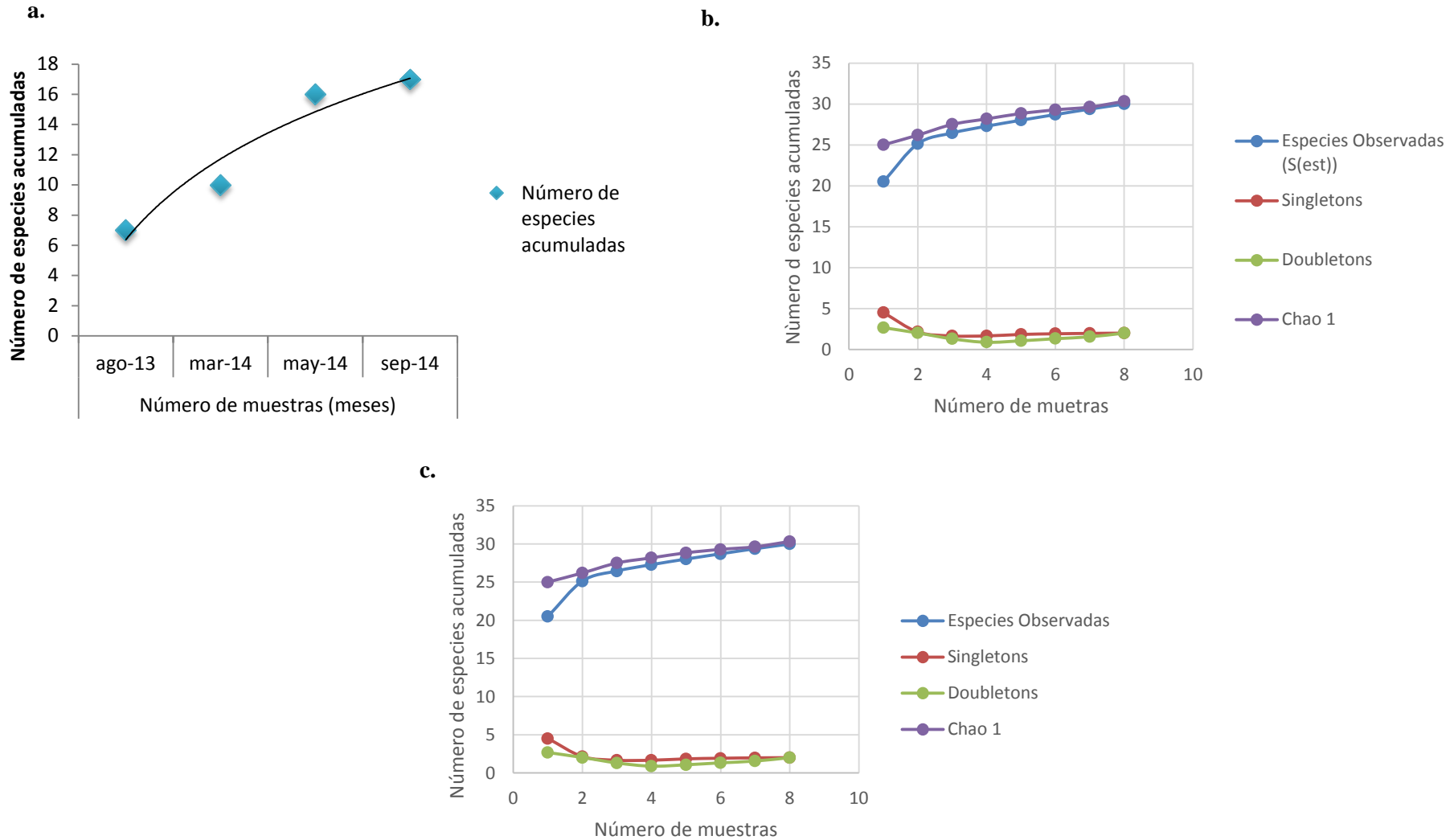
Test Statistics<sup>a</sup>

	Lluviosa - Seca
Z	-1,284 <sup>b</sup>
Asymp. Sig. (2-tailed)	,199

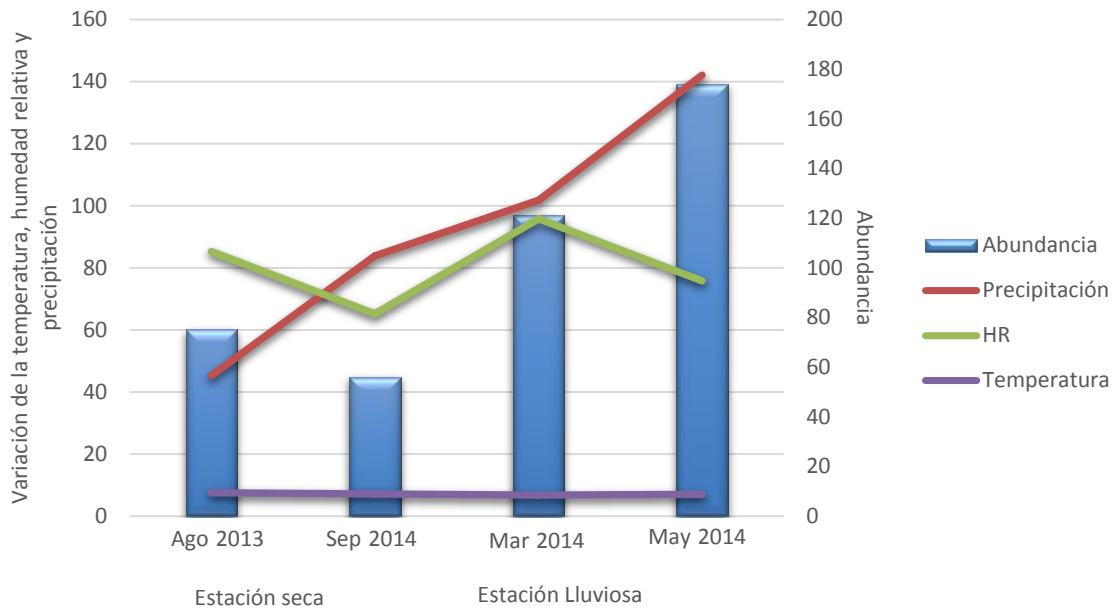
a. Wilcoxon Signed Ranks Test

b. Based on negative ranks.

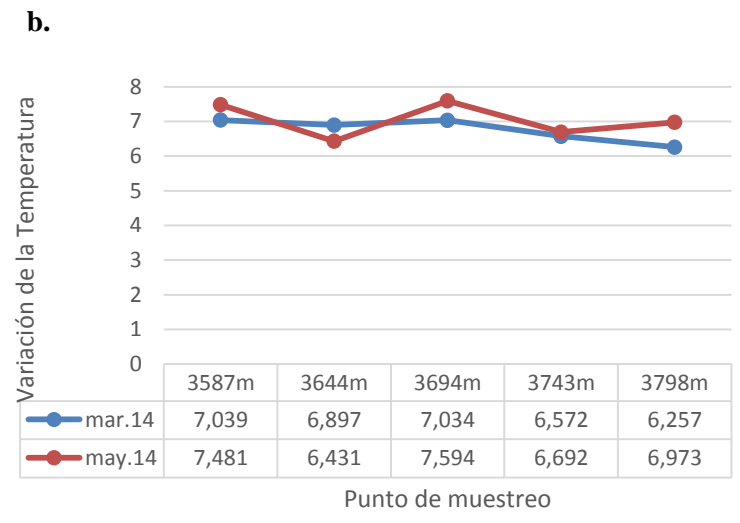
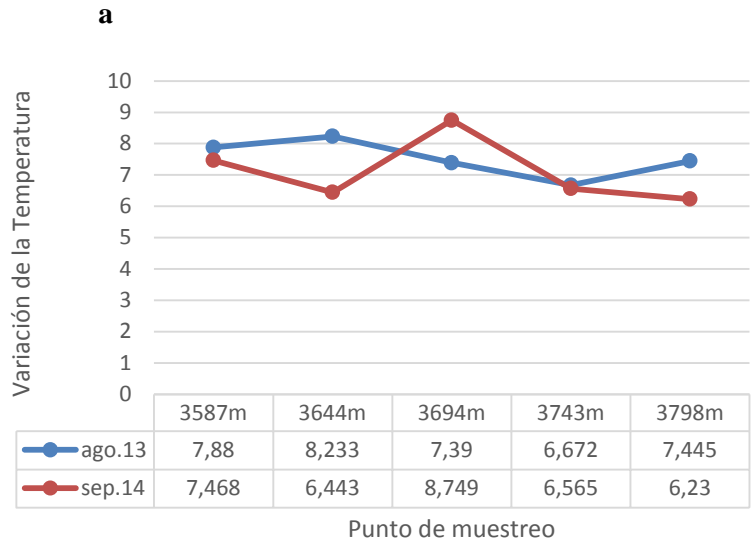
## **FIGURAS**



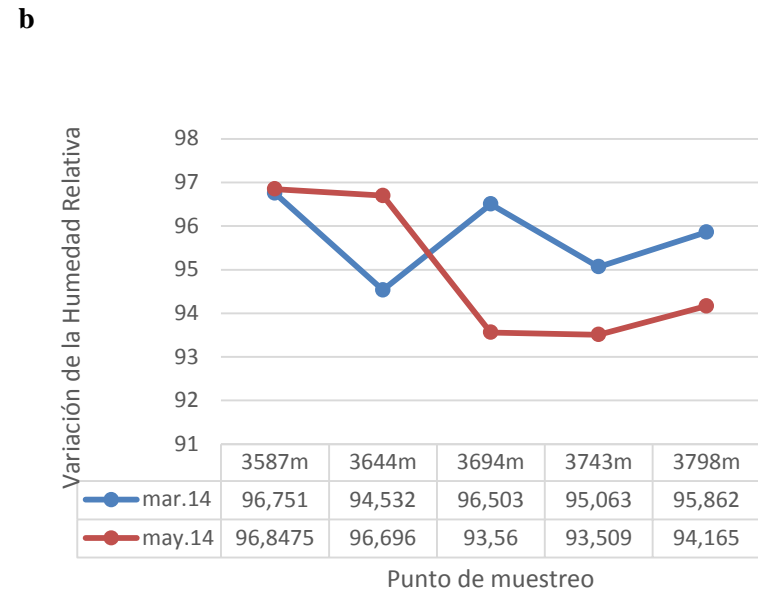
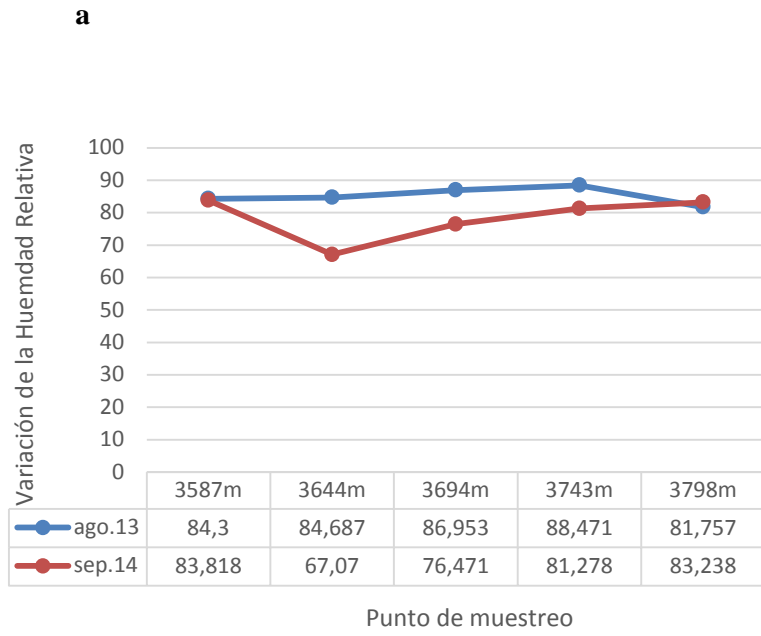
**Figura 1. Curvas de acumulación de especies.** **a.** – Curva de acumulación de especies del género *Drosophila* (ago 2013, mar 2014, may 2014 y sep 2014). **b.** – Curva de acumulación de especies, usando los estimadores para la estación seca (agosto del 2013 y septiembre del 2014). **c.** – Curva de acumulación de especies, usando los estimadores para la estación lluviosa (marzo y mayo del 2014).



**Figure 2. – Relación entre la precipitación, temperatura, humedad relativa y la abundancia de especies de *Drosophila* colectadas en el bosque protector Yanacocha.**



**Figura 3. – Variación de temperatura. a.-** variación en la estación seca (agosto del 2013 y septiembre del 2014). **b.-** variación en la estación lluviosa (marzo y mayo del 2014). En el bosque Protector Yanacochoa



**Figura 4. – Variación de Humedad Relativa. a.-** variación en la estación seca (agosto del 2013 y septiembre del 2014). **b.-** variación en la estación lluviosa (marzo y mayo del 2014). En el bosque Protector Yanacochoa

# **ANEXO**

**ANEXO 1****Two new species of the genus *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae), in Yanacocha protected forest, Pichincha, Ecuador.****María Isabel Tamayo G.<sup>1</sup> & Violeta Rafael<sup>1</sup>**

1 Laboratorio de Genética Evolutiva, Escuela de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador; tamayo.izumit.isabel183@gmail.com.

**RESUMEN.-**

Se describen dos nuevas especies del género *Drosophila*. Estas especies fueron capturadas en el bosque protector Yanacocha, ubicado en el noroccidente del volcán Pichincha. Las especies nuevas *D. yanacocha* sp. nov., fue colectada a 3587msnm, la cual es miembro del grupo de *D. annulimana*. La segunda nueva especie, *D. papaver* sp. nov., fue encontrada a 3771msnm. Esta especie no pudo ser colocada en ningún grupo de especies del género *Drosophila*.

**PALABRAS CLAVE:** Descripción de especies, *Drosophila* de Altitud alta, Ecuador, grupo *Drosophila annulimana*, reserva Yanacocha.

**ABSTRACT.-**

Two new species of genus *Drosophila* were described. These species were collected in Yanacocha Protected Forest, located in the northwest of the Pichincha volcano. The new species *Drosophila yanacocha* sp.nov., was captured at an elevation of 3587m. This species is member of *Drosophila annulimana* group. The other new species *Drosophila papaver* sp. nov., was

recollected at an elevation of 3771m. This species could not be placed with confidence in any species group of genus *Drosophila*.

**KEY WORDS:** *Drosophila annulimana* group, Ecuador, High altitude *Drosophila*, Yanacocha reserve.

## INTRODUCTION

The genus *Drosophila* contains about 1579 species (Brake and Bächli, 2008). The genus *Drosophila* includes eight subgenera: *Drosophila*, *Sophophora*, *Chusqueophila*, *Dorsilopha*, *Dudaica*, *Phloridosa*, *Psilodorha* and *Siphlodora* (Van der Linde and Houle, 2008). The subgenus *Drosophila* is the largest in number of species (Markow and O'Grady, 2006). The subgenera are subdivided into groups (i.e related species that do not have a formal taxonomic rank) because the phylogeny of some species are not well characterized (Morales-Hojas and Vieira, 2012). In some cases, external morphological characters are similar between species and make identification difficult. For this reason additional methods such as polytene chromosome structure and genitalia are necessary for species level determination (Breuer and Pavan, 1950).

Ecuador is a tropical country in South America considered one of the most biologically mega-diverse countries (Military Geographical Institute, 2013). This classification includes all forms of life. One of the most important factors is the Andes mountains. This mountain range produces a variety of microclimates that facilitates the diversification of species of the genus *Drosophila* (Raphael *et al.*, 2000)

In Ecuador, members of the genus *Drosophila* are found from sea level up to 4100m. The first records of the genus *Drosophila* in the country were published by Becker (1919). Currently there

are 112 species of *Drosophila* recorded in Ecuador, which are grouped into five sub-genera. The most representative is the subgenus *Drosophila* with 92 species (Acurio and Rafael, 2009). Recently we have described a number of new species of *Drosophila* in Ecuador. They belong to the species groups *D. tripunctata* (Vela and Rafael, 2001; Vela and Rafael, 2005; Céspedes and Rafael, 2012), *D. mesophragmatica* (Vela and Rafael, 2004a; Céspedes and Rafael, 2012), *D. repleta* (Vela and Rafael, 2003; Vela and Rafael, 2005; Rafael and Arcos, 1988; Acurio *et al.*, 2013), *D. flavopilosa* (Vela and Rafael, 2004b; Vela and Rafael, 2005), *D. morelia* (Vela and Rafael, 2004b), *D. gurani* (Vela and Rafael, 2005; Vela and Rafael, 2004c), *D. annulimana* (Vela and Rafael, 2005; Cabezas and Rafael, 2013), *D. onycophora* (Figüero *et al.*, 2012a) and *D. asiri* (Figüero *et al.*, 2012b).

## **MATERIALS AND METHODS.**

Specimens of *Drosophila* were captured in the Yanacocha Protected Forest (0°6'41.8"S, 78°35'4.9"W) on the northwest flank of the Pichincha volcano (Quito, Pichincha, Ecuador). This forest is managed by the Jocotoco Foundation.

The traps were placed on a transect from 3560m to 3798m. This zone is composed of two types of vegetation. In the highest part there was low and scrub montane forest (3600- 4100m) and in the lower part there was North Andean montane evergreen forest (2600-4000m). The traps contained fermented banana with yeast bait that was prepared the day before use. Specimens of *Drosophila* were collected during the dry season (August 2013) and in wetter season (March and May 2014) and September of 2014 which is also dry season. Adult *Drosophila* specimens collected alive were placed in tubes with standard Gelatine-Banana culture media (Rafael *et al.*,

2000). The dead *Drosophila* were placed in micro-centrifuge tubes with 75% ethanol. The baits were put inside glass jars sealed with cotton plugs. The material was transported to the laboratory where they were kept pending emergence of adults.

In the laboratory, captured females were isolated to form isolines (placed individually in tubes with Milk-Banana culture medium, Appendix 1), to obtain F1 descendants and identify males and females of the species. We tried to maintain these females on standard Gelatin-Banana culture but it was unsuccessful; the larvae did not develop in that medium. After several attempts, the Milk-Banana medium was used with excellent results. They larvae fed, pupated and emerged normally as adults.

The external morphology of the eight specimens was measured with a stereomicroscope with built-in camera (Zeiss, Discovery V8). We examined the characters and morphological indices as calculated by Bächli *et al.*, (2004). The means are reported with the range of values in parentheses for the measurements of the paratypes. Lengths and dimensions are in mm.

The specimens were deposited in the Museum of Zoology, Invertebrate Section of the Pontifical Catholic University of Ecuador (QCAZ - I).

## **RESULTS:**

Two new species of *Drosophila* were captured in the Protected Forest Yanacochoa. One of them, *Drosophila papaver* sp. nov., was identified from an isoline reared from a wild caught female in the laboratory. Six adults (four females and two males) of this species were successfully reared to adulthood. The second species *Drosophila yanacochoa* sp. nov., was collected dead from the baited traps. This species was described from one male.

*Drosophila yanacocha* sp. nov.

Figures 1-7

**Type Specimens:** Holotype ♂ (dissected, genitalia in microvial, dry mounting), labeled *D. yanacocha* holotype ♂ M. I. Tamayo det. 2014/ B. P. Yanacocha, Pichincha, Ecuador. M. I. Tamayo col., Aug. 2014 (QCAZI 3174), deposited in the Museum of Zoology Invertebrate Section, Pontifical Catholic University of Ecuador (QCAZ-I).

**Diagnosis.** Yellow, thorax dusted with setae and hairs appearing as dark spots. Wings with R4+5 and M veins slightly convergent at the apex. Ventral lobe with two setae and a well sclerotized beak-shaped structure. Aedeagus with two fin-like projections with a serrate edge ventrally.

**Male description.** Holotype. External morphology, length (body + wings), 5.31 mm, Body length 3mm.

**Head.** Head. Brown, frontal length= 0.39; frontal index= 0.63; top to bottom width ratio= 1.42. Frontal triangle yellowish brown, dusted; frontal vitta brown. Ocellar triangle dark brown, 33.33% of frontal length; ocellus orange. Orbital plate dusted, medium orbital setae nearer to the anterior orbital setae and towards the external edge of the orbital plate, distance of or3 to or1= 0.14; distance of or3 to vtm = 0.2, or1/or3 ratio= 0.42; or2/or1 ratio= 0.30; postocellar setae= 58.97% and ocellar setae= 56.41% of frontal length; vt index= 0.91, vibrissal index= 0.48. Cheek index= 4.2. Eyes brown, eye index= 1.21. Antenna brown yellowish in the first and second segments; arista plumose with three dorsal and two ventral branches plus terminal fork.

**Thorax.** Yellow, dusted with setae and hairs emerging from dark spots; length 1.13. The anterior dorsocentral seta with a darker area towards the anterior dorsocentral seta, the dark spots join to form a stripe (Figure 1). Six rows of acrostichal setulae in front of dorsocentral seta; six rows of hairs in disarray between dorsocentral seta. Scutelum yellow, basal scutellar seta divergent. Transverse distance of dorsocentral setae 0.46 of longitudinal distance, dc index= 0.87. Distance between apical scutellar setae 90.62% between apical and basal setae; scut and sterno indices could not be calculated. Medium katepisternal seta 1/3 of the anterior katespisternal seta. Legs yellowish brown.

**Wings.** Beige, with a conspicuous shading on R-M, M and CuA veins. R4+5 vein and R2+3 slightly shaded. R4+5 and M veins slightly convergent in the apex (Figure 2). Length = 3.84, length to width ratio= 2.47; Indices: C= 4.83; ac= 1.77; hb= 0.47; 4C= 0.5; 4v= 1.52; 5x= 0.87; M= 0.30; prox x= 0.46.

**Abdomen.** Yellowish brown, tergites without dorsal midline and with a dark stripe basally.

**Male Terminalia.** Anal plate micropubescent with large setae, partially attached to epandrium. Epandrium micropubescent. Ventral lobe, micropubescent, with two setae and a well sclerotized, beak-shaped structure (p) . Surstylus long, micropubescent on the lower part. The right side with 16 inner setae, without outer setae and with 10 prenisetae. The left side with 16 inner setae, without outer setae and with 11 presisetae (Figure 3). Hyandrium sclerotized and horseshoe-shaped. Gonopod with one seta (Figure 4).

**Aedeagus.** Slightly curved towards the dorsal part apically and cleft. Ventrally with two fin-like projections with serrate edge. Dorsally with two aristaes with toothed edges. Paraphysis oval with

striations and three setae proximally. Ventral branch well developed. Apodema sclerotized (Figures 5-7)

**Etymology.** Name *Drosophila yanacocha* refers to Protected Forest Yanacocha, where the specimens were collected. Yanacocha in Quichua means dark lagoon.

**Ecological Data.** *Drosophila yanacocha* was collected in the protect forest Yanacocha at an elevation of 3587masl in dry season. The forest is classified as Northern Andean montane evergreen forest. The specimens were captured with the following species: *D. asiri*, *D. ecuatoriana*, *D. rucux*, *D. yanayuyu*, *D. carlosvilelai*, *D. ninarumi* and *D. pasochiensis*.

***Drosophila papaver* sp. nov.**

Figures 8-14

**Type Specimens:** Holotype ♂ (dissected, genitalia in microvial, dry mounting), labeled *D. papaver* holotype ♂ M. I. Tamayo det. 2014/ B. P. Yanacocha, Pichincha, Ecuador. M. I. Tamayo col., May. 2014 (QCAZI 3176). Halotype ♀ (dissected, genitalia in microvial, dry mountaing), same data as male holotype, M. I. Tamayo det. 2014 (QCAZI 3175). Paratypes 4♀ y 1♂ (dissected, genitalia in microvial, dry mountaing), M. I. Tamayo det. 2014/ B. P. Yanacocha, Pichincha, Ecuador. M. I. Tamayo col., May 2014 (♀ QCAZI 3177-3180, ♂ QCAZI 3181) deposited in QCAZ-I.

**Diagnosis:** Brown body. Vibrissae conspicuous. Thorax with six irregular rows of acrostichal setulae between the two anterior dorsocentral setae. Aedeagus with two toothed edges in dorsal view. Spermatheca oval shaped with a rough crown in the apex.

**Male description.** Holotype. External morphology: Total length (body + wings) 3.44mm (3.44-3.79mm), body length 3.50mm (3.50- 4mm). Body color brown.

**Head.** Yellowish brown, frontal length 0.435 (0.35-0.37); frontal index= 1.09 (1.09- 1.54), top to bottom width ratio= 1.90. Frontal triangle brown, frontal vitta yellow. Ocellar triangle yellowish brown, 34.28% (34.28% - 40.54%) of frontal length, ocellus yellow. Orbital plate yellowish brown; middle orbital bristle nearer to anterior orbital bristle, distance of or3 to or1= 0.1, distance of or3 to vtm = 0.12, or1/or3 ratio= 1, distance of postocellar setae= 0.32, distance of ocellar setae= 80% of frontal length. Carina slightly prominent. Cheek index= 4.5 (4.5- 7.33) Vibrissa conspicuous. Eyes wine-red; eye index= 0.72. Antenna yellowish brown on the first and second segments; arista plumose with three dorsal and two ventral branches plus terminal fork, micro pubescent.

**Thorax.** Yellowish brown, length= 0.91 (0.91- 0.93) with six irregular rows of acrostichal setulae between the two anterior dorsocentral setae, h index= 1.87. Transverse distance of dorsocentral setae could not be calculated, dc index= 0.81 (0.81- 1.11). Distance between apical scutellar setae 70% (70%- 84.61%) between apical and basal setae. The basal scutellar seta were divergent; scut index= 1.72. Sterno index could not be calculated (the posterior katepisternal seta were missing), but in previous photographs the medium katepisternal seta was 1/3 of the length of the anterior katepisternal seta. Legs yellow.

**Wings.** Beige, with slightly shaded from the middle of the marginal cell to the media vein; length 3.87 (3.51-3.87), length to width ratio= 2.40 (2.40- 2.90). Indices: C=3.53 (3.53- 4.86); ac= 1.40 (1.38- 1.40); hb= 0.90 (0.39- 0.90); 4C= 0.47 (0.46-0.47); 4v= 1.07 (1.06- 1.07); 5x= 1.08; M= 0.27 (0.19- 0.27); prox x= 0.36 (0.36- 0.47).

**Abdomen.** Dark brown without dorsal midline, tergites with a dark band in the posterior part of each tergite. Without lateral pigmentation (Figure 8).

**Terminalia.** Anal plate with large setae, micro-pubescent, partially attached to epandrium. Epandrium micro-pubescent without setae on both sides. Ventral lobe, micro-pubescent, with 26 setae on the left side and 20 setae on the right side. Surstylus oval shaped, with microprojections on the most external side; 11 primary prensisetae (teeth) on both sides, without secondary prensisetae, 11 outersetae on left side and 10 outersetae on right side. Descasternum shaped like a hat (Figure 9).

**Aedeagus.** Sclerotized, the apex with a slight cleft; in dorsal view with two toothed edges. Ventral branch well developed. Paraphysis square shaped with two setae at the apex. Apodema poorly sclerotized (Figures 10-12).

**Female description.** Halotype. External morphology: similar to male. Length (body + wings), 4.74mm (4.31-5.05mm), Body length 3.50mm (3.50- 4.20mm).

**Head.** Frontal length 0.31 (0.35-0.42); frontal index= 0.46 (1.09- 1.24), top to bottom width ratio (0.83-2.03). Ocellar triangle yellowish brown, 70% (47.61% - 105%) of frontal length; middle orbital bristle closer to anterior orbital bristle, distance of or3 to or1= 0.06 (0.33 – 0.66) distance of or3 to vtm = 0.17 (0.16-0.19), or1/or3 ratio= 1.07 (0.55- 1.07), distance of postocellar setae

mean (0.3- 0.37), distance of ocellar setae= (71.42% -92.5%) of frontal length. Cheek index= 4.09 (4.09- 9.71). Eyes wine-red; eye index= 1.36 (1.08- 1.36).

**Thorax.** With a light band in the middle, length= 1.04 (1.04- 1.19), h index= 0.78 (0.78- 1.52). Transverse distance of dorsocentral setae (1.28- 1.57), dc index= 0.84 (0.71- 0.84). Distance between apical scutellar setae 76.66% (44.11%- 90.32%) between apical and basal setae. The basal scutellar seta divergent; scut index= 1.38 (0.78- 1.38). Sterno index 0.78 (0.71- 0.78).

**Wings.** Beige, length 4.8 (3.92 -4.8), length to width ratio= 2.46 (2.26- 2.46). Indices: C=4.11 (4.11- 5.03); ac= 1.47 (1.02- 1.47); hb= 0.25 (0.25- 1.17); 4C= 0.46 (0.36-0.46); 4v= 1.05 (0.38- 1.05); 5x= 0.95 (0.94- 1.18); M= 0.25 (0.25- 0.31); prox x= 0.32 (0.32- 0.39).

**Abdomen.** Dark brown without dorsal midline, tergites with a posterior stripe in the posterior part darker in the male.

**Female terminalia.** Oviscapt yellow, sclerotized; with 19 marginal setae in the left side and 15 marginal setae in the right side. Two discal outer ovisensilla and a spike with two thin hairs on both sides (Figure 13). Spermatheca sclerotized, shaped like a capsule with a warty crown on the apex (Figure 14).

**Etymology.** The name *Drosophila papaver*, refers to the plant *Papaver somniferum* because spermatheca of *D. papaver*, is similar to the capsular fruit of this species.

**Ecological Data.** *Drosophila papaver*, was collected in the Yanacocha protected forest at an elevation of 3771masl in wetter season. The forest is classified as low montane forest and shrubland. The specimens were collected with the following species: *D. carlosvilelai*, *D.*

*ninarumi*, *D. asiri*, *D. yanayuyu*, *D. korefae*, *D. ecuatoriana*, *D. mesophragmatica*, *D. rucux* and *D. paraguayensis*.

## DISCUSSION

In this study we describe two new species of the genus *Drosophila*. *Drosophila papaver* sp. nov., has not been grouped as the morphological characters do not have similarities with any species group.

*Drosophila yanacocha* sp. nov., has been grouped into the *Drosophila annulimana* species group Duda, 1927. This new species has similarities with several features of this group. Pavan and Cunha (1947) proposed the *annulimana* species group, whose species are characterized by a large, dark, dusted mesonotum, bristles and hairs emerging from dark spots, and wing veins R4 + 5 and M converging at the apex (Gottschalk *et al.*, 2012). The genitalia *D. yanacocha* sp. nov., share the features of the anal plate partially attached to the epandrium with a micropubescent surestilus. The paraphyses of the aedeagus are oval with three bristles (Cabezas and Rafael, 2013). Furthermore, this species also has a sclerotized falciform (beak-shaped) projection between the insertion point of the two anal plates, as in all species of *annulimana* group (Pavan and Breuer, 1950).

Usually species in the *Drosophila annulimana* group are found in tropical ecosystems, cloud forests at a range of 1200-2000 masl (Santiana *et al.*, 2012; Cabezas and Rafael, 2013). But *D. yanacocha* sp. nov., was collected at 3587m, in the Yanacocha protected forest. Another species of *annulimana* group that was collected at higher altitudes was *D. yana*, whose distribution ranges from 2780msnm to 3150msnm. This species was collected in the Pasochoa volcano (Vela

and Rafael, 2005). The wind in the mountains is stronger than in the lowlands (Mani, 1968), therefore there is a tendency for small insects, including *Drosophila*, to be blown by the wind to another location (Hodkinson, 2005). It is possible that of the specimen of *D. yanacocha* sp. nov., reached the collection site by accident and as a temporary visitor to the forest. It is not possible to say that this species is reproducing in the mountains (Mani, 1968).

#### **ACKNOWLEDGEMENTS:**

The Pontificia Universidad Católica del Ecuador provided funding for the Project H19191. Ministry of environment provided permits. The Jocotoco Foundation allowed us to collect in the Yanacocha protected forest. Emily Ramos, Luz Marina Llangarí, Ricardo Zambrano, Marcela Cisneros, Erika Caicedo, Eduardo Atiencia, Melani Noboa, Lucía Rodríguez, Jonathan Rondall and Luis Eduardo López provided companionship and patience in the field and in the Laboratory.

#### **REFERENCES**

- Acurio A., Rafael, V. 2009. Diversity and geographical distribution of *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) in Ecuador. In *Drosophila Information Service* 92. 20-25.
- Acurio A., Rafael, V., Céspedes, D., Ruiz, A. 2013. Description of a new spotted-thorax *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) species and its evolutionary relationships inferred by a cladistic analysis of morphological traits. *Ann. Entomol. Soc. Am* 106: 695-705.
- Bächli, G., Vilela, C., R., Andersson Escher, D., Saura, A. 2004. The Drosophilidae of Fennoscandia and Denmark. Brill Academic Publishers.

- Brake, I., and Bächli, G. 2008. Drosophilidae (Diptera). - In: World Catalogue of Insects 9: 1-412.
- Becker, T. 1919. Mission du Service Géographique de l'Armée pour la mesure d. un arc Méridien Equatorial en Amérique du Sud, 1899-1906, 10(2) :208-209.
- Breuer, M., E., Pavan, C. 1950. Genitalia masculina de "*Drosophila*" (Diptera): Grupo annulimana. Revista Brasileña de Biología, 10 (4) : 469-488.
- Cabezas, M., B. Rafael, V. 2013. Una nueva especie del grupo *Drosophila annulimana* (Diptera, Drosophilidae) y un nuevo registro en las Provincias de Pichincha y Napo, Ecuador. Inheringia, 103(4): 357-360.
- Céspedes, D., Rafael, V. 2012. Cuatro especies nuevas del grupo de especies *Drosophila mesophragmatica* (Diptera, Drosophilidae) de los Andes ecuatorianos. Inheringia, 102(1): 71-79.
- Duda, O. 1927. Die sudamerikanischen Drosophiliden (Dipteren) unter Berücksichtigung auch der anderen neotropischen sowie der nearktischen Arten. Archiv für Naturgeschichte 91: 1-228.
- Figuero, M., L., León, R., Rafael, V. and Céspedes, D. 2012a. Cuatro nuevas especies del grupo *Drosophila onycophora* (Diptera, Drosophilidae) en el Parque Arqueológico Rumipamba, Pichincha, Ecuador. Inheringia, 102 (2): 212-220.

Figuero, M., L., Rafael, V. and Céspedes, D. 2012b. Grupo *Drosophila asiri* (Diptera, Drosophilidae), un nuevo grupo de especies andinas con la descripción de dos nuevas especies y la re descripción de *Drosophila asiri*. *Inheringia*, 102: 33-42.

Gottschalk, M. S., Martins, M. B., Praxedes, C. D. L. B., and Medeiros, H. F. De. 2012. A new Amazonian species from the *Drosophila annulimana* species group (Diptera, Drosophilidae). *Revista Brasileira de Entomología*, 56: 431–435.

Hodkinson, I. D. 2005. Terrestrial insects along elevation gradients: species and community responses to altitude. *Biological Reviews*, 80: 489-513.

<http://doi.org/10.1017/S1464793105006767>

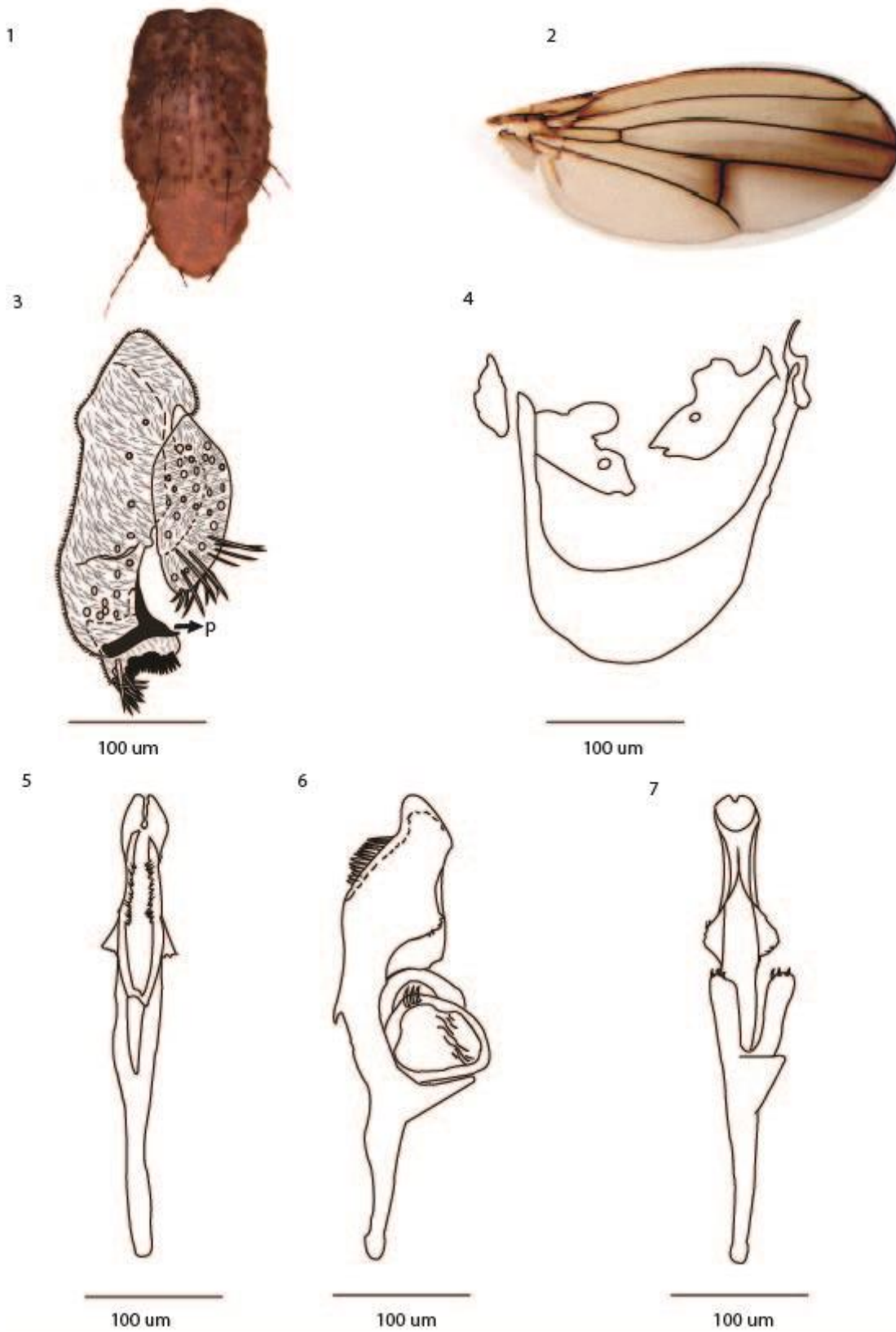
Instituto Geofísico Militar. 2013. Atlas Geográfico de la República del Ecuador: El Medio Ambiente. Secretaria Nacional de Planificación y Desarrollo (SENPLADES). Segunda Edición.

Mani, M. S. 1968. Ecology and Biogeography of High altitude insects. (E. Schimitschek, Ed.) Series Entomologica (First). Springer science and Business Media. [http://doi.org/10.1016/S1571-5078\(08\)00422-4](http://doi.org/10.1016/S1571-5078(08)00422-4).

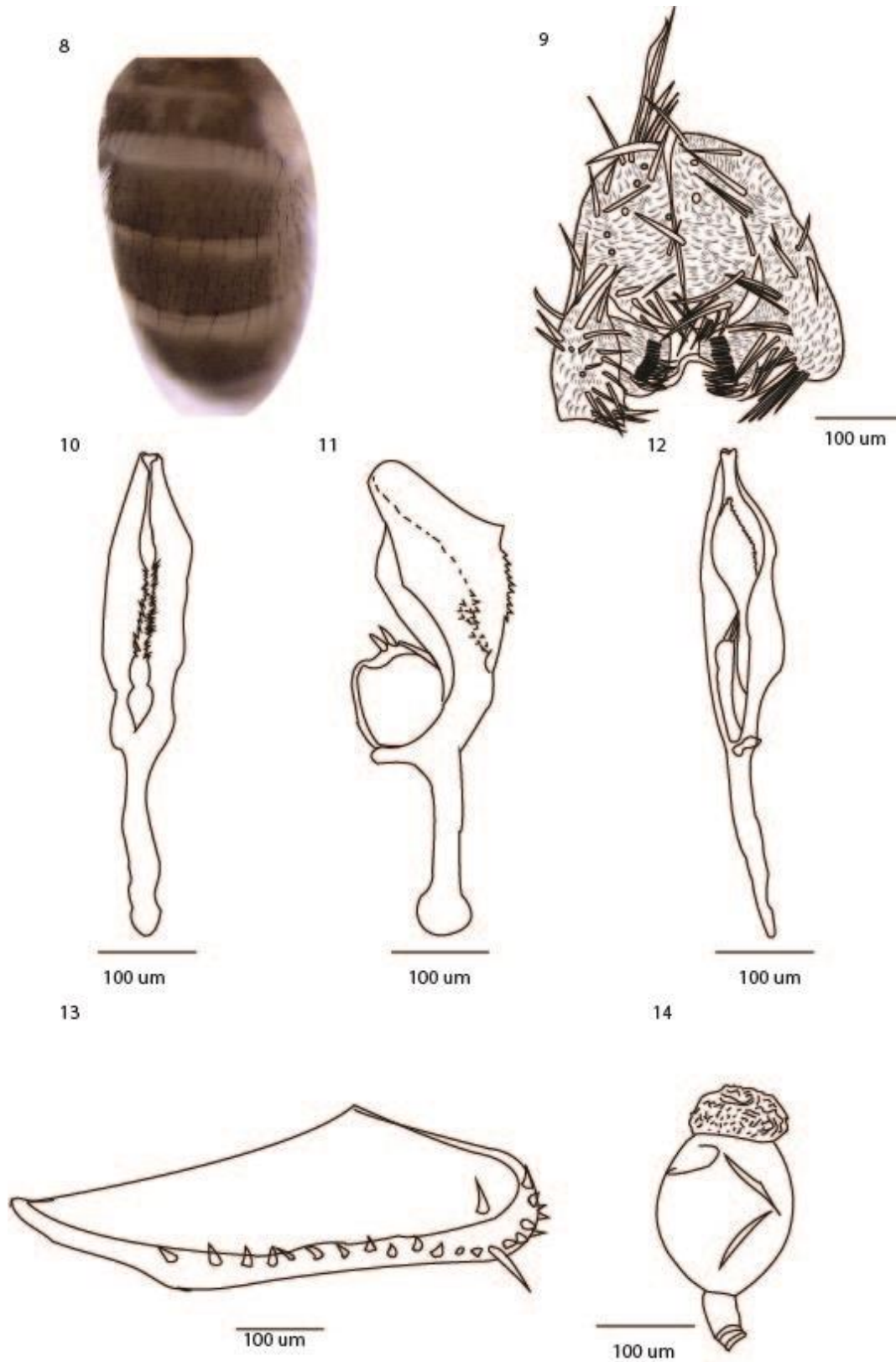
Markow, T., A., O’Grady, P. 2006. *Drosophila*, A guide to species identification and use. Elsevier. USA.

- Morales-Hojas, R., y Vieira, J. 2012. Phylogenetic patterns of geographical and ecological diversification in the subgenus *Drosophila*. *PLoS ONE*, 7: 1-15.  
[http:// doi.org/10.1371/journal.pone.0049552](http://doi.org/10.1371/journal.pone.0049552)
- Pavan, C. y Cunha, A. B. da. 1947. Espécies brasileiras de *Drosophila*. Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo 86:3-46.
- Rafael V., Arcos G. 1988. *Drosophila guayllabambae* sp. nov., un nuevo miembro del grupo repleta, subgrupo hydei (Diptera, Drosophilidae). *Evol. Biol.* 2: 167-176.
- Rafael V., Arcos G., Arcos Terán L. 2000. Ecología y distribución del género *Drosophila* en Guayllabamba y El Quinche, provincia de Pichincha- Ecuador. *Revista de la Universidad Católica del Ecuador.* 65:130-155.
- Santiana, J., Báez, S., Guevara, J. 2012. Páginas 34-36 en: Ministerio del Ambiente del Ecuador 2012. Sistema de clasificación de los ecosistemas del Ecuador continental. Ministerio del Ambiente del Ecuador. Quito
- Van der Linde, K. and Houle, D. 2008. A supertree analysis and literature review of the genus *Drosophila* and closely related genera (Diptera, Drosophilidae). *Insect Syst. Evol.* 39: 241-267.
- Vela, D. y V. Rafael. 2001. Ocho nuevas especies del grupo *tripunctata*, género *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae), y el registro de *Drosophila paraguayensis* en el Bosque Protector Pasochoa, Pichincha-Ecuador. *Revta Pont. Univ. Católica Ecuador*, 66: 92-120.

- Vela, D. y V. Rafael. 2003. *Drosophila yangana* sp. nov. un nuevo miembro del grupo *repleta*, subgrupo *inca* (Diptera: Drosophilidae). *Revta Pont. Univ. Catolica Ecuador*, 71: 129-139.
- Vela, D., Rafael, V. 2004a. Three new andean species of *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) of the *mesophragmatica* group. *Inheringia*, 94(3): 295-299.
- Vela, D., Rafael, V. 2004b. Dos nuevas especies del grupo *flavopilosa*, género *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) en el Bosque Pasochoa. Provincia de Pichincha. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 26: 7-13.
- Vela, D., Rafael, V. 2004c. Tres nuevas especies del grupo *guarani*, género *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) en el Bosque Pasochoa, Provincia de Pichincha. *Revista ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biologicas*, 26: 14-21.
- Vela, D. y V. Rafael. 2005. Catorce nuevas especies del género *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) en el bosque húmedo montano del Volcán Pasochoa, Pichincha, Ecuador. *Revista de Medicina y Ciencias Bio- lógicas* 27: 27-41
- Vilela, C., R. 1984. A new species of *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) belonging to the *annulimana* group. *Ciência e Cultura*, 37(12): 1961-1964.



**Figures 1- 14.** *Drosophila yanacocha* sp. nov., holotype ♂: 1, thorax; 2, wing; 3, anal plate in lateral sight; 4, hypandrium; 5-7, aedeagus in dorsal, lateral and ventral sight.



**Figures 8-14.** *Drosophila papaver*. sp. nov., holotype ♂: 8, abdomen; 9, anal plate; 10-12, aedeagus in dorsal, lateral and ventral sight; holotype ♀: 13, oviscapt; 14, spermatheca.

## **APENDIX**

### **Appendix 1**

The Milk-Banana culture medium is a modification of that described by Bächli (2000). This medium is prepared as follows: Banana (500g) cut in pieces, with dehydrated milk (50g), a teaspoon of white sugar 350ml of water were placed in a blender. These ingredients were blended and put in a pot with constant stirring and brought to a boil. When the media was boiling, the gelatin (37g), nipagine (1.2g) and 350 ml of water were blended and added. The hot media was stirred until it began to boil again. Then lemon juice (5ml) was added with diluted yeast (2.4g). The mixture was stirred again for several minutes. The hot medium can then be placed in culture tubes. The cooled medium should be stored in the refrigerator.

## **AUTORS GUIDELINES**

### **Manuscript preparation**

#### **1. General guidelines**

Manuscripts are accepted in English and Spanish. American English spelling and punctuation are preferred. Please use double quotation marks, except where “a quotation is ‘within’ a quotation”.

Long quotations of 20 words or more should be indented with quotation marks.

Please use the active voice where possible. Submit manuscripts with double spacing (including references, tables, table captions, and figure legends). Use Times New Roman 12-point font. Set up document with margins of 2.54 cm (1 in.) on each side. Text should be left aligned and ranged right. Page and line numbers are required for all sections (figures exempted).

A typical manuscript will not exceed 9000 words including captions and footnotes. Manuscripts that greatly exceed this will be critically reviewed with respect to length. Authors should include a word count with their manuscript.

Manuscripts should be compiled in the following order: title page (including Acknowledgements as well as Funding and grant-awarding bodies); abstract; keywords; main text; acknowledgements; references; appendices (as appropriate); table(s) with caption(s) (on individual pages); figure caption(s) (as a list).

Abstracts of a maximum of 350 words are required for all manuscripts submitted.

Each manuscript should have 3 to 5 keywords.

Search engine optimization (SEO) is a means of making your article more visible to anyone who might be looking for it. Please consult our guidance [here](#).

Section headings should be concise.

All authors of a manuscript should include their full names, affiliations, postal addresses, telephone numbers and email addresses on the cover page of the manuscript. One author should be identified as the corresponding author. Please provide the affiliation where the research was conducted. If any of the named co-authors moves affiliation during the peer review process, the new affiliation can be given as a footnote. Please note that no changes to affiliation can be made after the manuscript is accepted. Please note that the email address of the corresponding author will normally be displayed in the article PDF (depending on the journal style) and the online article.

All persons who have a reasonable claim to authorship must be named in the manuscript as co-authors; the corresponding author must be authorized by all co-authors to act as an agent on their behalf in all matters pertaining to publication of the manuscript, and the order of names should be agreed by all authors.

Biographical notes on contributors are not required for this journal.

Please supply all details required by any funding and grant-awarding bodies as an

Acknowledgement on the title page of the manuscript, in a separate paragraph, as follows:

- *For single agency grants:* "This work was supported by the [Funding Agency] under Grant [number xxxx]."

- *For multiple agency grants:* "This work was supported by the [Funding Agency 1] under Grant [number xxxx]; [Funding Agency 2] under Grant [number xxxx]; and [Funding Agency 3] under Grant [number xxxx]."

Authors must also incorporate a Disclosure Statement which will acknowledge any financial interest or benefit they have arising from the direct applications of their research.

For all manuscripts non-discriminatory language is mandatory. Sexist or racist terms must not be used.

Authors must adhere to SI units. Units are not italicised.

The use of standardized nomenclature in science is essential to facilitate integration and linking of scientific information. Species names should be italicized (e.g., *Panthera onca*). The genus and species must be written out in full, both in the title of the manuscript and at the first mention of a taxon in a paper; after that, the first letter of the genus name, followed by the full species name can be used. The first citation of a species in a taxonomic paper must include the authority and date, but the authority does not have to be cited in the References. Genes, mutations, genotypes, and alleles should be italicized. Use the standard name by consulting the appropriate genetic nomenclature database (e.g., AnolisGenome for Anole lizards. Since taxonomic classifications are unstable, authors should explicitly mention which arrangement they are following in the articles.

- All datasets, images, recordings, genes, and relevant information should be deposited in public resources and the corresponding accession numbers should be noted. Suggested databases include, but are not limited to: Database of Interacting Proteins: <http://dip.doe->

mbi.ucla.edu/dip/Main.cgi; GenBank: [www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank); Morphobank:  
[www.morphobank.org](http://www.morphobank.org) ; TreeBase: [www.treebase.org](http://www.treebase.org) ; Xeno-canto: [www.xeno-canto.org](http://www.xeno-canto.org)

When using a word which is or is asserted to be a proprietary term or trade mark, authors must use the symbol ® or TM.

Authors must not embed equations or image files within their manuscript

*For all manuscripts introducing new zoological taxa at family-group level or below:*

In order to validate electronic publication of these taxa, you will be prompted to register your manuscript with ZooBank at proof stage. Individual new taxa will not be required for publication, but can be registered by you should you wish. For the ZooBank record to become visible, it must be updated retrospectively with the date of publication. For more information, visit the ZooBank website at <http://www.zoobank.org/>

*Geolocation Information:*

All authors are strongly encouraged to submit a Geolocation Information section as part of their manuscript, as a separate paragraph before the Acknowledgements and References sections. This will be used to help us index your article's study area accurately on JournalMap, an online map used for searching and browsing research articles. Indexing on JournalMap increases an article's discoverability and can help to drive usage and citations. Coordinates given can define points or bounding boxes; they can indicate where the research was conducted or, for example, in the case of a taxonomic journal, the locations where the specimens originated. Please see the Author Services page for more information.

## **2. Style guidelines**

*Research articles:* The aim of research articles is to publish novel and exceptional studies on Neotropical biodiversity. Topics include all scales of biodiversity, from molecules to ecosystems. Research articles should have a maximum of 9000 words of text (excluding tables, figure captions, literature cited and supplemental online material), 10 figures, and four tables.

*Introduction:* The introduction should put the emphasis of the manuscript into a broader perspective, explicitly making reference to key literature, and/or controversies or disagreements in the field. The introduction should conclude with a statement summarizing the aim and hypotheses of the study and a comment about whether that aim was achieved. *Methods:* This section should provide enough detail to enable reproduction of the research. Mention in detail, for example, the experimental design, description of source of materials used, what is being tested and how it is assessed. Detailed protocols for new methods should be included, but well-established protocols should be only referenced. *Results:* This section should be written in past tense. State the results of the study and draw attention in the text to data presented in tables and figures. Large datasets should be submitted as supplemental files, which are published online together with the accepted article. *Discussion:* The discussion should spell out the significance of the results, major conclusions, and interpretations of the work. This section should clearly state if the new results support or reject existing hypothesis and what is the impact of the research in the field. *Acknowledgments:* This section should list people and institutions that contributed to the study, along with their contributions. Do not acknowledge Editors by name. *Author contribution:* Briefly include the contribution of each author.

*Reviews:* The aim of review articles is to provide a comprehensive analysis of a particular subject, including potential controversies, new developments, and prospects for future research.

Reviews should not include unpublished data, but can incorporate novel perspectives from the author. Reviews should be written in a language that facilitates reading by a diverse audience, ranging from non-specialists to professional scientists. The journal encourages the use of Glossary boxes to explain difficult terms. Reviews should have a maximum of 4000 words, 100 references, five figures, three tables, and three text boxes. The word limit does not include text in the abstract, references, figures, tables, text boxes, glossary box, and supplemental online material. *Introduction:* This section should highlight the relevance and rationale behind the Review. It should include a summary of the current state of knowledge and clearly mention potential controversies and/or new developments that have altered the field. *Body of the Review:* This section should include a synthesis of recent developments. Use subheadings to highlight specific topics and their relevance. *Concluding remarks:* At the end of the article, authors should include a summary of the review, highlighting the most relevant aspects of it, as well as limitations and future research. *Acknowledgments:* This section should list people and institutions that contributed to the study, along with their contributions. Do not acknowledge Editors by name. *Author contribution:* Briefly include the contribution of each author.

*Monographs:* The aim of monographs is to publish novel and exceptional studies on Neotropical biodiversity. Topics include all scales of biodiversity, from molecules to ecosystems.

Monographs have exactly the same sections and format that apply for Research Articles, with the distinction that there is no limit for the number words, figures, tables, and supplemental online material. Neotropical Biodiversity publishes up to two monographs per year.

### **3. Figures**

Please provide the highest quality figure format possible. To improve the print and online display, please ensure that all figures and graphics are supplied at the appropriate resolutions listed below:

- Minimum 1200 dpi for line art; Minimum 600 dpi for greyscale; Minimum 300 dpi for colour.
- Figures must be saved separate to text. Please do not embed figures in the manuscript file.
- Files should be saved as one of the following formats: TIFF (tagged image file format), PostScript or EPS (encapsulated PostScript), and should contain all the necessary font information and the source file of the application (e.g. CorelDraw/Mac, CorelDraw/PC).
- All figures must be numbered in the order in which they appear in the manuscript (e.g. Figure 1, Figure 2). In multi-part figures, each part should be labelled.
- Figure captions must be saved separately, as part of the file containing the complete text of the manuscript, and numbered correspondingly.
- The filename for a graphic should be descriptive of the graphic, e.g. Figure1, Figure2a.

#### **4. Graphical Abstracts**

Neotropical Biodiversity authors now have the option of including a graphical abstract in their paper. The purpose of a graphical abstract is to give the reader a clear idea of the content of the article by means of an appropriate image.

The graphical abstract should have a maximum width of 525 pixels. If your image is narrower than 525 pixels we recommend placing this on a white background 525 pixels wide to ensure the dimensions are maintained.

Graphical abstracts must be saved separate to text. Please do not embed graphical abstracts in the manuscript file. Files should be saved as one of the following formats: .jpg, .png, or .gif.

The file name for a graphical abstract should be descriptive, e.g. GraphicalAbstract1

## **5. Publication charges**

### *Article publishing charge*

Publishing in Neotropical Biodiversity is free of charge. Additionally, each article published in Neotropical Biodiversity is published Open Access, which means that the article is freely and permanently available on Taylor & Francis Group's online platform <http://www.tandfonline.com/>.

There is no additional subscription fee, article pay-to-view fee or any other form of access fee; and no publication embargo is applied. More information about Taylor & Francis Open and Routledge Open.

## **6. Compliance with ethics of experimentation**

Authors must ensure that research reported in submitted manuscripts has been conducted in an ethical and responsible manner, in full compliance with all relevant codes of experimentation and legislation. All manuscripts which report in vivo experiments or clinical trials on humans or animals must include a written Statement in the Methods section that such work was conducted with the formal approval of the local human subject or animal care committees, and that clinical trials have been registered as legislation requires.

Authors must confirm that any patient, service user, or participant (or that person's parent or legal guardian) in any research, experiment or clinical trial who is described in the manuscript has given written consent to the inclusion of material pertaining to themselves, and that they

acknowledge that they cannot be identified via the manuscript; and that authors have anonymised them and do not identify them in any way. Where such a person is deceased, authors must warrant they have obtained the written consent of the deceased person's family or estate.

Authors must confirm that all mandatory laboratory health and safety procedures have been complied with in the course of conducting any experimental work reported in the manuscript; and that the manuscript contains all appropriate warnings concerning any specific and particular hazards that may be involved in carrying out experiments or procedures described in the manuscript or involved in instructions, materials, or formulae in the manuscript; and include explicitly relevant safety precautions; and cite, and if an accepted standard or code of practice is relevant, a reference to the relevant standard or code. Authors working in animal science may find it useful to consult the Guidelines for the Treatment of Animals in Behavioural Research and Teaching.

## **7. Reproduction of copyright material**

If you wish to include any material in your manuscript in which you do not hold copyright, you must obtain written permission from the copyright owner, prior to submission. Such material may be in the form of text, data, table, illustration, photograph, line drawing, audio clip, video clip, film still, and screenshot, and any supplemental material you propose to include. This applies to direct (verbatim or facsimile) reproduction as well as "derivative reproduction" (where you have created a new figure or table which derives substantially from a copyrighted source).

You must ensure appropriate acknowledgement is given to the permission granted to you for reuse by the copyright holder in each figure or table caption. You are solely responsible for any fees which the copyright holder may charge for reuse.

The reproduction of short extracts of text, excluding poetry and song lyrics, for the purposes of criticism may be possible without formal permission on the basis that the quotation is reproduced accurately and full attribution is given.

This journal offers authors the opportunity to license their work under the Creative Commons Attribution (CC BY) licence which permits others to distribute, remix, tweak, and build upon your work, even commercially, as long as they credit you for the original creation. Please ensure that the rights holder of any third party copyright materials included in your paper has either granted you permission to publish their material under the appropriate licence terms, or has granted you permission to use their material with the appropriate copyright notice. For further guidance please consult our Guide.

## **8. Supplemental online material**

Authors are encouraged to submit animations, movie files, sound files or any additional information for online publication.

## **GUIA DE REFERENCIAS**

### **In the text**

Placement References are numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Identify references in text, tables, and legends by bracketed numbers [1], and provide a list of references at the end of the article in numerical order using square brackets for the

numbers. Reuse the original number assigned to the reference each time the reference is cited in the text, regardless of its previous position in the text. Insert the citation numbers at the relevant place in the text. As a general rule, reference numbers should be placed outside full stops and commas and inside colons and semicolons (but see exceptions below).

*Examples:*

- Myopathy typically occurs in fewer than one in 10,000 patients on standard doses. [1]
- Most of the optimization methods proposed in previous studies are parametric methods. [3–7]
- Compared to the initial shape, the optimized surface shape can substantially improve the structural characteristics.[12,13]
- With this approach, the jagged-shape problem [8] caused by parameter-free method is resolved.
- The Mindlin–Reissner plate theory [15] posits that ...
- This approach was successfully implemented by Benders et al. [30] and Zhao [31] for modular NN.
- For this purpose, the NNs were widely used in structural inverse problems,[24] damage identification,[14,25] or parameters estimation,[26] among many applications.
- According to an early work of Litwiniszyn,[1] large-scale subsidence over a yielding underground geostructure can be modelled as a stochastic Markov process.
- See [11,12].
- See, for example, [1,3,10–13,15–20,22–25,27,28].
- For some work along these lines, see [3,13,17,18,27].

- Other efforts are including the perturbation method described in [8,11,12,16] and the perturbation method described in [11,15].
- Further details about the BEM formulation and its validation are given in [17], where aspects like meshing strategy are explained thoroughly.
- The crack boundary was discretized using 10 discontinuous quadratic elements, where the crack-tip elements are discontinuous quarter-point (see [17,28]).
- When citing multiple references, use commas (without spaces) to separate them. Use an en dash to join inclusive first and last numbers, e.g. [2,3,4,5,7,10] would be abbreviated to [2–5,7,10].
- Give a note number even if the author is named in the text:
- Jones [10] has argued that ...
- Jones and Smith [12] have argued that ...
- If you want to name more than two authors in the text, use:
- Jones et al. [3] have argued that ...

*With a quotation*

- Author maintains that “This is author’s quoted text”. [1,p.3]

*Page number*

- Jones [10,p.23–27] states that

Note that page numbers in the text are different to those in the reference list, with no space before or after the page number. In both cases NLM uses p. rather than pp.

### *Personal communication*

References to personal communications are cited only in the text.

- ... and most of these proved to be fatal (2003 letter from RS Grant to me; unreferenced, see "Notes") ...

### **Tables and figures**

References cited only in tables or figure legends should be numbered in accordance with the sequence established by the first identification in the text of the particular table or figure.

### **Reference list**

Order Numerical order based on the text

### **Form of author name**

Surname and initials. Capitalize surnames and enter spaces within surnames as they appear in the document you are citing, e.g. Van Der Horn or van der Horn; De Wolf or de Wolf or DeWolf.

Place family designations of rank after the initials, without punctuation, e.g. Author AA Jr. See <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7282/> for further guidance.

### ***Book***

#### *One author*

- *Author* AA. This is a book title: and subtitle. Abingdon: Routledge; 2012.

#### Two authors

- Author AA, Author BB. This is a book title: and subtitle. Abingdon: Routledge; 2012.

*Three authors*

- Author AA, Author BB, Author CC. This is a book title: and subtitle. Abingdon: Routledge; 2012.

*More authors*

- Author AA, Author BB, Author CC, et al. This is a book title: and subtitle. Abingdon: Routledge; 2012.

*Organization as author*

- British Medical Association. Book title: and subtitle. Abingdon: Routledge; 2012.

*No author*

- HIV/AIDS resources: a nationwide directory. 10th ed.
- Longmont (CO): Guides for Living; 2004.

*Chapter Author*

- AA. Book title: and subtitle. Abingdon: Routledge; 2012. Chapter 24, Chapter title; p. 32–36.
- Author AA, Author BB. Chapter title. In: Editor EE, editor. Book title. Abingdon: Taylor & Francis; 2012. p. 229–232.

Note that page numbers in the reference list are different to those in the text, with a space before the page number. In both cases NLM uses p. rather than pp.

### *Edited*

- Editor JJ, editor. Book title. Abingdon: Routledge; 2012.
- Editor JJ, Editor BB, editors. Book title. Abingdon: Routledge; 2012.

### *Edition*

- Author AA, Author BB, Author CC. This is a book title: and subtitle. 10th ed. Abingdon: Routledge; 2012.

### *Volume*

- Editor A, Editor BB, editors. Book title. Vol. 1, Series title. Abingdon: Routledge; 2012.
- Editor JH, Editor MJ, Editor DJ. Book title. 2nd ed. Vol. 1, Series title. Abingdon: Routledge; 2012.
- Editor SH, Editor MW, editors. Book title. 10th ed. Abingdon: Routledge; 2012. (Series editor's series title; vol. 7).

### *Translated*

- Khan L., translator. Book title: a translation of original. Abingdon: Routledge; 2012.
- Author AA. Book title. Khan L, translator; Editor BB, editor. Abingdon: Routledge; 2012.

### *Not in English*

- Piaget J, Inhelder B. La genèse de l'idée de hasard chez l'enfant [The origin of the idea of chance in the child]. Paris: Presses Universitaires de France; 1951.

### *Online*

- Author AA. Book title [Internet]. Version 2.0. Oxford: University of Oxford; c2000  
[revised 2001 Oct 1; cited 2006 Nov 1]. Available from:  
<http://www.oxford.edu/book/index.html>

### *Place of publication*

Always list the city, and include the two-letter state abbreviation for US publishers. Include the country name for other countries only to avoid ambiguity:

- Cambridge (MA)
- Cambridge (UK)

If more than one place of publication is found, use the place of publication and publisher likely to be most familiar to the audience of the reference list. For example, use the place of an American publisher for a US audience and a London publisher for a British one.

If no place of publication can be found but can be reasonably inferred, place the city in square brackets, such as [Chicago]. If no place of publication can be found or inferred, use [place unknown].

### *Publisher*

Abbreviate well-known publisher names, e.g. John Wiley & Sons, Ltd. may become simply Wiley. If no publisher can be determined, use the words “publisher unknown” placed in square brackets.

### *Journal*

Journal titles are abbreviated according to ISO 4. See

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7282/box/A33351/?report=objectonly>

Internet journal articles: the month is omitted if the journal is continuously paginated throughout the volume. Include any date of update/revision and a date of citation

in square brackets following the date of publication. Use the dates for the individual journal article being cited, not the dates of the journal issue as a whole unless no dates can be found for the individual item. When the location (pagination) of the article is not provided calculate the length of the article using the best means possible, e.g., in terms of print pages, screens or paragraphs. Provide the URL or other electronic address of the article.

*One author*

- Author AA. Title of article. Abbreviated Journal Title. 2012; 62: 112–116.
- Author B. Title of article. Journal of Publishing [Internet]. 2012 [cited 2012 Apr 8]; 8.  
Available from: <http://www.xxxxxxxxxx.html>

Two authors

- Author AA, Author BB. Title of article. Abbreviated Journal Title. 2012; 62:112–116.

*Three authors*

- Author AA, Author BB, Author CC. Title of article. Abbreviated Journal Title.  
2012;62:112–116.

*More authors*

- Author AA, Author BB, Author CC, et al. Title of article. Abbreviated Journal Title. 2012;62:112–116.

*Organization as author*

- American Diabetes Association. Diabetes update. Nursing. 2003;Suppl:19–20, 24.

*No author*

- Pelvic floor exercise can reduce stress incontinence. Health News. 2005;11:11.

*Not in English*

Translate non-English titles into English; place the translation in square brackets. When possible, place the original language title or romanized title before the translation. Capitalize only the first word of the title, proper nouns, proper adjectives, acronyms, and initialisms unless the conventions of a particular language require other capitalization. Indicate the language after the pagination:

- Berrino F, Gatta G, Crosignani P. [Case-control evaluation of screening efficacy]. Abbreviated Journal Title. 2004;28:354–359. Italian.

*Not the Version of Record*

- Author AA. Article title. Abbreviated Title of Journal. 2010;31:210–216. Epub 2012 Feb 20.

*Supplementary material*

If a journal article has supplemental material accompanying it in the form of a CD-ROM, DVD, or other medium, begin by citing the article. Add the phrase "Accompanied by:" followed by a description of the medium.

- Author AH. Article title. Abbreviated Journal Title. 1999;5:553–560. Accompanied by:  
Video on CD-ROM.

### *Other article types*

An article type alerts the user that the reference is to an abstract of an article or a letter to the editor, not a full article.

Place, e.g., [abstract], [book review] or [letter] after the article title:

- Author K. Article title [book review]. Abbreviated Journal Title. 2007;177:70.

### *Conference*

#### *Proceedings*

- Author DF, Author P. Title. In: Editor HD, Editor NL, editors. Title. Proceedings; 1996 Jul 1; London. Kew (UK): Royal Botanic Gardens; 1998.
- Paper Presenter AK. Title of paper. Paper presented at: Title of Meeting. 12th Annual Meeting; 2003 May 3–6; Oxford, UK.
- Poster Author A. Title of poster. Poster session presented at: Title of Meeting; 2005 Oct 7; New York, NY.

### *Thesis*

- Jones DL. The title of the dissertation [dissertation]. Pittsburgh (PA): University of Pittsburgh; 2001.

***Unpublished work***

*Forthcoming article*

Do not include as forthcoming any articles that have been submitted for publication but have not yet been accepted for publication.

- Author G, Author JB, Author DA. Article title. Abbreviated Journal Title. Forthcoming 2012.

*Forthcoming book*

Do not include as forthcoming any books that have been submitted for publication but have not yet been accepted for publication.

- Author MI, Author MK. Book title. Washington: American Psychological Association. Forthcoming 2014.

If no date is predicted, end with Forthcoming.

*Manuscript, e.g. submitted article not yet accepted*

- Author T. Title of manuscript. 2012. XX p. Located at: xxx.

*Internet*

- Website AMA: helping doctors help patients [Internet]. Chicago: American Medical Association; c1995–2007 [cited 2007 Feb 22]. Available from: <http://www.ama-assn.org/>.

- StatePublicHealth.org [Internet]. Washington: ASTHO; [cited 2007 Feb 23]. Available from: <http://statepublichealth.org/>.
- BIRDNET [Internet]. Washington: Ornithological Council; c1999–2006 [updated 2006 Dec 8; cited 2007 Feb 20]. Available from: <http://www.nmnh.si.edu/BIRDNET/>

### *Web page*

To cite only one component of a Web site, such as a specific page or pages, first determine whether or not the component can stand alone and be cited separately. Enter the title of the part as it appears on the Web site.

- AMA: helping doctors help patients [Internet]. Chicago: American Medical Association; c1995–2007. AMA launches exclusive partnership for medical professionals; 2007 Mar 26 [cited 2007 Mar 28]; [about 2 screens]. Available from: <http://www.ama-assn.org/ama/pub/category/17469.html>

### *Electronic mailing*

Like email, messages posted to discussion lists are a form list of personal communication and are not included in a reference list. Place within the running text only. The nature and source of the cited information should be identified by an appropriate statement. Place the source information in parentheses, using a term or terms to indicate that the citation is not represented in the reference list. For example:

- ...and many nurses involved with such cases (Mar 22, 2007 posting by RS Grant to the ANPACC Listserv; unreferenced, see "Notes") report...

### *Blog*

Messages posted to discussion lists like a blog are considered a form of personal communication and should not be included in a reference list. Place references to such communications within the running text only. The nature and source of the cited information should be identified by an appropriate statement. Place the source information in parentheses, using a term or terms to indicate that the citation is not represented in the reference list. For example:

- ...and many nurses involved with such cases (Mar 22, 2007 posting by RS Grant to Nurse Studio Blog; unreferenced, see "Notes") report...

### *Wiki*

- Wikipedia: the free encyclopedia [Internet]. St. Petersburg (FL): Wikimedia Foundation, Inc. 2001 – [cited 2007 May 5]. Available from: <http://en.wikipedia.org/>.
- WIKISURGERY [Internet]. London: Surgical Associates Ltd. 2006 Sep – [modified 2007 Jan 30; cited 2007 May 3]. Available from: <http://www.wikisurgery.com/>.

### *Newspaper or magazine*

- Author A. Article title. Washington Post. 2005 Jul 24; Sect. A:12 (col. 1).
- Author D. Article title. New York Times [Internet]. 2008 Apr 18 [cited 2008 Dec 19];Research:[about 4 screens]. Available from:  
<http://www.nytimes.com/2008/04/18/health/research>
- Woman in L.A. tests positive for plague. Richmond TimesDispatch.2006 Apr 20;Sect. A:7 (col. 6).

### ***Report***

- Author B, Author L. Report title. Sydney (Australia): University of New South Wales, National Drug and Alcohol Research Centre; 2003.
- National High Blood Pressure Education Program (US). The fourth report on the diagnosis of high blood pressure in children. Rev. ed. Bethesda (MD): National Heart, Lung, and Blood Institute (US); 2005. (NIH publication; no. 05- 5267).

### ***Personal communication***

Letter or email Place references to personal communications such as letters and conversations within the running text, not as formal end references. Include the nature and source of the cited information, using terms to indicate that no corresponding citation is in the reference list. Place the source information in parentheses. For example:

- ... and most of these proved to be fatal (2003 letter from RS Grant to me; unreferenced, see "Notes") ...

### ***Other reference types***

#### ***Patent***

- Inventor AA, inventor; Hospira, Inc., assignee. Needles for drug delivery. United States patent US 6,980,855. 2005 Dec 27.

#### **Map**

- Cartographer AA, cartographer. Street map, San Diego, southern area [map]. Oceanside (CA): Global Graphics; 2000. 1 sheet: 1:45,000; 89 x 68.5 cm.; color.

- Title of map [Southwestern United States] [map]. Washington: Department of Agriculture (US); 1997. 1sheet: 18 x 27 cm.; color.

#### *Audio and visual media*

- Baxley N, Dunaway C. Cognition, creativity, and behavior: the Columban simulations [motion picture]. Baxley N, editor and producer. Champaign (IL): Research Press Company; 1982. 1 reel: 30 min., sound, color, 16 mm.
- Collaborative research with communities: value added & challenges faced [videocassette]. Washington: Public Health Foundation; 2006. 1 videocassette: 103 min, sound, color, 1/2 in.
- Day J. Dying before their time: early death & AIDS [poster]. Farmington (CT): University of Connecticut School of Medicine, Section of Medical Arts & Letters;
- 1988. 1 poster: color, 14 x 21 in. Ridley W, engraver. Harvey [print]. London: [publisher unknown]; 1796 May 7. 1 print: black & white, 3 x 5 in.

#### *Database*

- Online Archive of American Folk Medicine [Internet]. Los Angeles: Regents of the University of California. 1996 – [cited 2007 Feb 1]. Available from: <http://www.folkmed.ucla.edu/>.
- Winter RM, Baraitser M. London dysmorphology database [CD-ROM]. IBM PC version 2.0. Oxford (UK): Oxford University Press; c1996. 2 CD-ROMs: 4 3/4 in.
- Dictionary of commonly cited compounds [CD-ROM]. CDROM ed. Boca Raton (FL): Chapman & Hall/CRC. 2001 – . CD-ROMs: 4 3/4 in.

- Genusys: database of herbal remedies, aromatherapy, essential oils, vitamins, amino acids, and more! [CDROM]. Version 1.4. Solebury (PA): Genusys Laboratories;
- 1996. 1 CD-ROM: sound, color, 4 3/4 in.

*Computer program*

- Author AA, Author HC. DiagnosisPro: the ultimate differential diagnosis assistant [CD-ROM]. Version 6.0. Los Angeles: MedTech USA; 2002. 1 CD-ROM: color, 4 3/4 in.
- Sport care [CD-ROM]. Release 1.0. Champaign (IL): Human Kinetics; c2001. 1 CD-ROM: sound, color, 4 3/4 in. Accompanied by: 1 user manual.

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN**

Yo, María Isabel Tamayo Gudiño, C. I.: 1003589353 autor del trabajo de graduación intitulado “Diversidad del género *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae), en la estación seca y lluviosa en el Bosque Protector Yanacocha (Quito, Ecuador)”, previa a la obtención del grado académico de LICENCIADA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales:

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENECYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2. Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

Quito, 30 de Octubre de 2015

Srita. María Isabel Tamayo Gudiño

C.I.: 1003589353