

**EFFECTO DE DENSIDAD POBLACIONAL DE HUEVOS
SOBRE VIABILIDAD Y TIEMPO DE DESARROLLO DE
Drosophila melanogaster (DROSOPHILIDAE)**

**Effect Of Eggs Population Density On Viability And Time Of
Development Of *Drosophila melanogaster* (Drosophilidae)**

CRISTIAN FONG¹, Estudiantes de pregrado en el Programa de Biología, FERNANDO DÍAZ¹, JULIO OSORIO¹, LINA CASTANO¹, FANNY GONZÁLEZ¹, LAURA JURADO¹, KATHERINE CASTILLO¹, HEIBER CÁRDENAS², Profesor asociado.

¹ Universidad del Valle e integrantes del Grupo de Estudio y Trabajo en Genética GETEG. Calle 13 No 100-00. E-mail: geteg@univalle.edu.co

² Sección de Genética del Departamento de Biología, Universidad del Valle. Colombia. Calle 13 No 100-00. PBX +572 321 21.

00 A.A. 25360. Cali - Colombia

Correspondencia: Heiber Cárdenas geteg@univalle.edu.co.

Presentado 22 de julio de 2007, aceptado 25 de enero de 2008, correcciones 2 de mayo de 2008.

RESUMEN

Para estimar el efecto de la densidad poblacional de huevos sobre la viabilidad huevo-adulto de *Drosophila melanogaster* se realizaron tres tratamientos en frascos con medio de cultivo agar-banano: a densidad de 10, 50 y 90 huevos. La variable de respuesta fue la proporción de individuos adultos emergidos desde la aparición del primer imago hasta 15 días después de la siembra. Las viabilidades huevo-adulto promedio fueron 0,320, 0,338 y 0,328 para las densidades de 10, 50 y 90 huevos respectivamente. No se evidenciaron diferencias significativas entre los tres tratamientos ($p > 0.05$). Por lo tanto, no se detectó en este estudio influencia de la densidad poblacional de huevos sobre la viabilidad huevo-adulto. Probablemente debido a que la proporción entre el número de huevos y la cantidad de medio fue suficientemente alta para no generar competencia en otros estadios del desarrollo huevo/adulto.

Palabras clave: densidad poblacional, *drosophila*, huevos, viabilidad.

ABSTRACT

For estimating the effect from population density of eggs over viability egg-adult in *Drosophila melanogaster*, it was made three treatments in flasks with agar-banana culture media: densities of 10, 50 and 90 eggs. The effect evaluated was the adult's proportion that emerged after 15 days of planting. The mean proportions of viability egg-adult were 0.32, 0.338 and 0.328 for the density of 10, 50 and 90 eggs respectively. Significant

differences in viability were not evident ($p > 0.05$). Consequently, it was not found effects from the eggs densities in the present study over egg-adult viability. These results probably were due to that the relation among number of eggs and quantity of culture media was not enough of a high for generate competition at another stadiums through the egg-adult development.

Key words: Density Population, *Drosophila*, Eggs, Viability.

INTRODUCCIÓN

D. melanogaster es un díptero con distribución cosmopolita y al ser holometábolo, presenta varios estadios dentro de su desarrollo ontogénico: huevo, larva, pupa, adulto (Ramos, 1993). Esto hace que para la producción de un buen número de individuos en condiciones de laboratorio se deba garantizar condiciones óptimas para el desarrollo de cada uno de los estadios. Muchos estudios con poblaciones experimentales en *Drosophila* han mostrado que la supervivencia y la fecundidad son dependientes de la densidad además, han sugerido que los efectos de la densidad pueden explicar la dinámica poblacional (Rodríguez, 1989). Por ejemplo, el mantenimiento de la viabilidad del estadio huevo dependerá de la tasa de incubación. Ésta a su vez define el número de larvas eclosionadas y a su vez la cantidad de adultos va a depender de la tasa de supervivencia de larva a adulto (Wasserrman, 1970).

Según Santos *et al.* (1997) existe una correlación entre el amontonamiento de la larva y el tamaño del adulto debido a cambios en la eficacia biológica. Esto está afectando directamente la supervivencia de la larva lo que sugiere que rasgos como la fertilidad de la hembra, capacidad del apareamiento del macho, longevidad, resistencia al hambre y el tamaño son dependientes del desarrollo ontogénico. Por otro lado, Miller (1964) encontró que cuando la densidad larval se incrementa el tiempo que toma completar el desarrollo aumenta. Esto es a causa de un efecto de selección en el cual las larvas con menor tamaño y mayor capacidad de forrajeo aprovechan eficientemente el medio. En contraste con esto, cuando no existe una alta densidad de larvas, el tiempo que le toma a la larva para convertirse en adulto es normal y a su vez no hay un efecto sobre el tamaño de las moscas adultas (Sameoto y Miller 1966).

Sin embargo, todos estos efectos de la densidad se han evaluado a nivel de larvas por lo tanto, sería pertinente conocer si la densidad obra de la misma manera en los huevos desde el momento que son colocados sobre el medio. Este trabajo pretendió evaluar este efecto usando como modelo a *D. melanogaster*.

MÉTODO

COLONIA FUENTE

Para el montaje del experimento se utilizaron moscas provenientes de la colonia de *Drosophila* del grupo de estudio GETEG ubicado en las instalaciones de la Universidad del Valle, Colombia, sede Meléndez.

Preparación del medio (Protocolo para diez frascos de 125 ml). Para la preparación del medio se esterilizaron los frascos, después se licuó 379 g de banano en 333 ml de

agua destilada. Simultáneamente en otro recipiente se diluyó 2,7 g de agar en 66 ml de agua destilada. El licuado se calentó en una estufa mezclando constantemente durante el proceso. Una vez hirvió se adicionó y se mezcló el agar diluido, luego la mezcla se retiró del calor y se dejó enfriar durante algunos minutos. Después se adicionó 1 ml de nistatina, 2,7 ml de ácido propiónico y 0,1 g de levadura mezclando durante el proceso. Finalmente, se sirvió el medio equitativamente entre diez frascos de 125 ml de capacidad. Por último, el montaje del experimento se realizó a temperatura ambiente en una cámara previamente estéril ubicada en el espacio del grupo de estudio GETEG.

OBTENCIÓN DE HUEVOS

Dentro de una caja de petri se colocó un fragmento de papel absorbente previamente sumergido en medio de agar-banano con cinco moscas hembras y dos machos de dos días de edad. Igualmente, sobre el papel se colocaron cuatro montones de levadura con un peso de 0,05 g cada uno (Cárdenas com. Pers). A los tres días se colectaron los huevos depositados en cada una de las cajas. Con un pincel No. 0.0 los huevos fueron trasladados a frascos de vidrio de 120 ml de capacidad con 30 ml de medio de agar-banano en las densidades de 10, 50 y 90 huevos.

TOMA DE DATOS

La toma de datos se inició ocho días después de la siembra de los huevos y terminó 15 días después de ésta. Los conteos de adultos por sexo se llevaron a cabo dos veces al día: 7:00 y 19:00 horas.

DISEÑO ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico de los datos se empleó un diseño completamente al azar (DCA). La variable de respuesta fue el número de individuos adultos que emergieron hasta 15 días después de la siembra. Se realizaron tres tratamientos con cinco repeticiones, cada uno de éstos correspondía a las densidades de 10, 50 y 90 huevos. Se evaluaron los supuestos de normalidad por medio de las pruebas Kolmogorov-Smirnov y de homogeneidad de Bartlett. Una vez confirmados estos supuestos se hizo un análisis de varianza (ANOVA) paramétrico con un $\alpha = 0,05$ usando los programas estadísticos STATISTICA® 6.0 (2003) y SPSS 11.5 para Windows (2002).

RESULTADOS

La viabilidad huevo-adulto promedio de cada uno de los tres tratamientos (densidades de 10, 50 y 90 huevos) no mostró diferencias significativas (Figura 1). Las proporciones promedio observadas para cada tratamiento fueron 0,32 para la densidad de 10, 0,33 para 50 y 0,32 para 90 huevos (Tabla 1). Las desviaciones estándar mostraron una dispersión en los datos de viabilidad muy similar para las densidades de 50 y 90 huevos/frasco, mientras que la variación fue muy alta en el caso de la densidad de 10 (Figura 1).

El Anova no mostró diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 2). Esto permitió concluir que en el rango de densidades poblacionales de huevos usados en

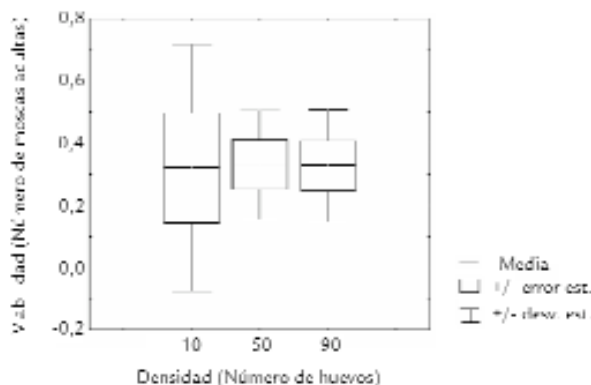


Figura 1. Diagrama de cajas de la viabilidad vs. La densidad poblacional de huevos. Los promedios de viabilidad fueron muy similares para la densidad de diez huevos 0.32 ± 0.39 , de 50 huevos 0.33 ± 0.17 y de 90 huevos 0.32 ± 0.18 .

	Repetición	No. de huevos		
		10	50	90
Viabilidad (Huevo-adulto)	1	0,100	0,260	0,489
	2	1,000	0,580	0,522
	3	0,200	0,340	0,189
	4	0,300	0,380	0,111
	5	0,000	0,100	0,333
Viabilidad H-A promedio		0,320	0,332	0,328
Desviación Estándar		0,396	0,175	0,180

Tabla 1. Viabilidad huevo-adulto (H-A) en tres densidades de huevos en tres densidades.

este estudio no se observó ningún efecto significativo de la densidad de huevos sobre la viabilidad huevo-adulto.

La gráfica que representa la emergencia de moscas promedio en el tiempo evidenció un comportamiento muy similar para cada una de las tres densidades de huevos evaluadas. De esta manera se evidencia en cada una de las curvas un aumento rápido del número de moscas emergidas hasta un punto máximo entre el segundo y tercer día y por último un decrecimiento un poco más lento hasta el quinto día. El tratamiento de 90 fue el único en el cual se observó la emergencia de individuos en el octavo día (Figura 2).

Origen de variación	gl	SC	CM	F	P
Entre tratamientos	2	0,000386	0,000193	0,00264	0,997379
Error	12	0,880868	0,073405		
Total	14	0,881254			

Tabla 2. Análisis de varianza de la viabilidad huevo-adulto para los tres tratamientos de huevos estudiados.

Para las densidades de 10, 50 y 90, respectivamente, el tiempo de desarrollo de huevo-adulto promedio mostró: 11,25, 11 y 10,8 días respectivamente (Tabla 3). La variación

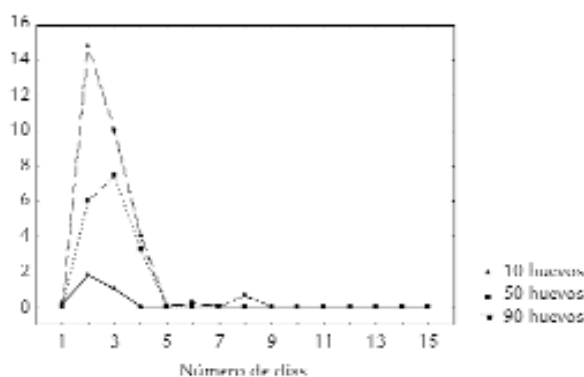


Figura 2. La productividad promedio diaria por densidad de huevos mostró un decaimiento similar de las densidades evaluadas, en las cuales todas presentaron una caída de producción después del día 5. Sólo la densidad de 10 y 90 huevos mostraron individuos después del quinto día.

Repetición	Densidad			
		10	50	90
	1	14	10	11
	2	10	10	11
	3	11	12	11
	4	10	11	11
	5	-*	12	10
Tiempo de desarrollo huevos-adulto promedio		11,25	11,00	10,80
Desviación Estándar		1,89	1,00	0,44

Tabla 3. Tiempos de desarrollo promedio huevos-adulto por densidad poblacional de huevos. Tiempo de desarrollo huevo- adulto (días). * Dato perdido.

de los datos para el tiempo de desarrollo presentó un patrón similar a lo obtenido a partir de la viabilidad. De este modo la densidad de 10 huevos mostró una variación muy alta en comparación con 50 y 90 huevos, siendo menor la variación en la densidad de 90 (Figura 3).

Al igual que lo obtenido a partir de los datos de viabilidad, para los tiempos de desarrollo huevo-adulto el ANOVA no mostró diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 2).

El análisis de correlación entre el tiempo de desarrollo y la viabilidad promedio mostró que estas dos variables no manifiestan una relación lineal ($R^2=0,1957$) o exponencial ($R^2=0,2931$) entre sí.

DISCUSIÓN

La viabilidad huevo-adulto, se puede entender como el producto de cada una de las viabilidades dadas en el paso de un estadio al siguiente durante todo el desarrollo ontogénico de *D. melanogaster*. De esta manera, en este organismo se pueden presentar tres tipos básicos de viabilidad: huevo-larva, larva-pupa y pupa-imago. Éstas se ven afectadas por diversos factores comunes o específicos de cada estadio.

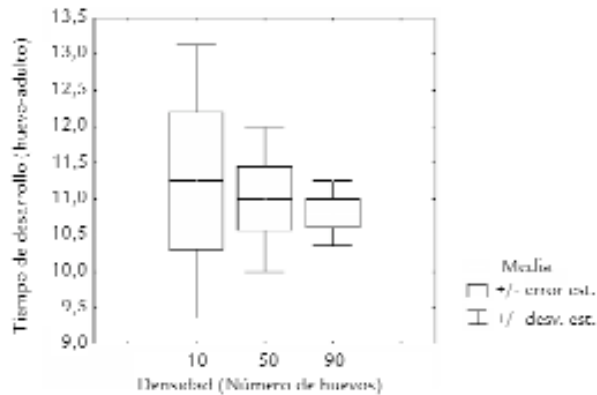


Figura 3. El tiempo de desarrollo huevo-adulto promedio para cada densidad poblacional de huevos (10 huevos $11,25 \pm 1,89$, 50 huevos $11,00 \pm 1,00$ y 90 huevos $10,80 \pm 0,44$) no mostró diferencias significativas, lo cual señala que no hubo ningún efecto por parte de la densidad sobre el desarrollo de los huevos.

De esta manera bajo condiciones controladas se consideró a la densidad poblacional de huevos como el único factor que generaría diferencias en la viabilidad huevo adulto. Sin embargo, la eclosión es un evento independiente de la densidad poblacional de huevos, así el hecho de que un huevo no eclosione no es causado por el éxito o el fallo en la eclosión de otros huevos sino debido a la dependencia del genotipo o algún otro factor (Lewontin, 1955). No obstante, podrían presentarse diferencias si existe contacto entre los huevos o diferencias en términos de factores ambientales. Teniendo en cuenta que los huevos se encontraban alejados uno del otro y que las unidades experimentales estaban expuestas a las mismas condiciones ambientales, se puede determinar que la viabilidad huevo-larva no fue afectada por las densidades poblacionales de huevos evaluadas. Así, la densidad poblacional de larvas debió constituir el principal factor que podría haber influenciado la viabilidad huevo adulto. De acuerdo a Kojima y Huang (1972), el incremento en la densidad poblacional afecta negativamente la viabilidad larva-pupa de un genotipo dado. Por lo tanto la viabilidad de un genotipo depende de la densidad de la población. Esto sucede ya que a altas densidades de larvas algunos recursos como alimento, humedad o espacio se vuelven insuficientes (Lewontin, 1955).

Otro aspecto que afecta la viabilidad larva-pupa es el comportamiento locomotor de las larvas. Así, según Sameoto y Miller (1966), altas densidades de larvas de *D. melanogaster* producen un decaimiento en el porcentaje de pupación. Esto es debido a que aquellas pupas que se encuentran sobre el medio son sepultadas y mueren por asfixia, puesto que el sustrato al encontrarse en condiciones de una alta cantidad de larvas toma una textura de natilla. Esto se debe a la actividad alimentaria por parte de las larvas las cuales crean túneles y galerías al alimentarse del medio, a la vez que segregan sustancias para degradar el sustrato (Godoy-Herrera, 2001).

Altas densidades poblacionales de larvas también generan un marcado incremento en la distancia de pupación de éstas respecto al medio. Por esta razón Joshi y Mueller (1993) postulan que la densidad poblacional de larvas afecta también la viabilidad

pupa-imago. Esto se debe a que en *D. melanogaster* la mortalidad de las pupas disminuye a 0% cuando la altura de pupación se da en un intervalo de 31 a 40 mm sobre el medio y aumenta por fuera de éste.

Debido a lo enunciado anteriormente para la viabilidad larva-pupa y pupa-adulto era de esperarse una disminución de la viabilidad huevo-adulto en conjunto con el incremento de la densidad. Sin embargo, no se detectó este efecto bajo las densidades poblacionales de huevos del experimento. Esto se debió probablemente a que estos efectos se dan solo cuando la densidad poblacional sobrepasa la capacidad de carga del sistema y por lo tanto se presenta presión de selección sobre los individuos. De este modo es muy probable que las larvas contaran con suficientes recursos que permitieron un desarrollo pleno sin competencia entre individuos. Un ejemplo de esto es la cantidad de alimento, el cual era suficiente para mantener el número total de larvas que podrían haber eclosionado, ya que una sola de éstas requiere una cantidad de alimento de alrededor de 0,3 a 0,6 mg de levadura para su completo desarrollo (Wasserman, 1970). La ausencia del efecto de la densidad de huevos sobre viabilidad huevo-adulto se confirma con la no diferencia significativa entre los tiempos de desarrollo de los tres tratamientos. Por lo anterior, el comportamiento presentado por las densidades poblacionales en términos de la emergencia de adultos a través del tiempo de muestreo no puede ser explicado por la densidad poblacional de los huevos ni de las larvas. Por lo tanto, la caída en la producción de moscas en los ensayos pudo ser causada por las condiciones ambientales presentes en relación con el genotipo de los individuos. De esta manera, el hecho de que en el quinto día las tres densidades hayan disminuido sus producciones hasta cero individuos significa un cambio en las condiciones físicas del medio. Esto puede relacionarse con lo planteado por Ramos *et al.*, (1993), que los huevos de *D. melanogaster* requieren de condiciones óptimas de temperatura (25 °C) y humedad (60%) para la incubación. Igualmente, factores como la humedad, la luz, la textura y la consistencia del sustrato afectan el tiempo en el cual las larvas entran en pupación (Godoy-Herrera, 2001).

A pesar de no existir un efecto de la densidad de individuos y huevos sobre la viabilidad huevo-adulto el porcentaje de emergencia de individuos adultos es inferior a los reportados en otros trabajos en donde ésta se calcula en un rango entre 80 y 90% (Guzman *et al.*, 1989; Budnik y Brncic, 1974). Esta baja productividad pudo haber sido causada por las condiciones ambientales (temperatura, humedad, etc.) iniciales de los huevos durante el traslado de éstos a los medios en donde se desarrollaron y/o a la misma manipulación de los huevos en el traslado. Otra causa que pudo afectar la viabilidad de los huevos fue la pérdida de humedad del medio, fue quizás ésta la razón por la cual en las tres densidades la producción de individuos se detuvo y generó los promedios de viabilidad tan bajos observados en todos los tratamientos. Se conoce que el medio agar-banano puede perder agua por evaporación esto se ha cuantificado de tal manera que se observó una pérdida de 4,4% de humedad en 5 cc de medio de agar-banano no perturbado en 48 horas y 23,4% después de 240 horas (Sameoto y Miller, 1966). Aunque se debe señalar que esta tasa de pérdida no fue igual para la cantidad de medio que se utilizó en el ensayo.

La pérdida de humedad del medio produjo unas condiciones que no fueron óptimas (como las señaladas arriba), para la incubación de los huevos y quizás algunos geno-

tipos entraron en un período de diapausa o esta condición pudo haber prolongado el ciclo de vida de los individuos. El último aspecto quizás sea la razón por la cual después del quinto día en el cual la producción de los tratamientos cae a cero se produjeron algunos individuos en los días sexto y octavo en la densidad de noventa. El surgimiento de estos individuos se pudo facilitar por el hecho de que las larvas de *D. melanogaster* prefieren sustratos secos para pasar al estado de pupa (Godoy-Herrera, 2001). Por último, la viabilidad y el tiempo de desarrollo no señalaron alguna relación significativa. Ésto podría indicar que estas dos características presentan componentes genéticos independientes sin interacción entre sí, a su vez éstos podrían relacionarse con el ambiente de manera diferente.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a nuestros compañeros del Grupo de Estudio y Trabajo en Genética - GETEG- por su enorme colaboración especialmente a Carlos Ávila. También a profesores y estudiantes que se interesaron en nuestro proyecto y aportaron con su colaboración. A los técnicos del laboratorio de Biología por su paciencia y disposición a la hora de facilitarnos reactivos y en general al Departamento de Biología y a la Universidad del Valle por su continuo apoyo especialmente a la sección de entomología.

BIBLIOGRAFÍA

- BUDNIK M, BRNCIC D. Preadult competition between *Drosophila pavani* and *Drosophila melanogaster*, *Drosophila simulans*, *Drosophila willistoni*. Ecology. 1974;55(3):657-661.
- GODOY-HERRERA R. La conducta de la larva de *Drosophila* (Díptera; Drosophilidae): su etología, desarrollo, genética y evolución. Rev. chil. hist. nat. 2001;74(1):55-64.
- GUZMAN J, LEVINE L, OLVERA O, ROCKWELL R, DELA ROSA M. Species abundante, viability, desiccation resistance and dispersal of sibling *Drosophila* species from Laguna Verde, Veracruz, México. Am. Midl. Nat. 1989;122(2):249-254.
- JOSHI A, MUELLER L. Directional and stabilizing density-dependent natural selection for pupation height in *Drosophila melanogaster*. Evolution. 1993;47(1):176-184.
- KOJIMA K, HUANG S. Effects of Population Density on the Frequency-Dependent Selection in the Esterase-6 Locus of *Drosophila melanogaster*. Evolution. 1972;26(3):313-321.
- LEWONTIN R. The effects of population Density and Composition on Viability in *Drosophila melanogaster*. Evolution 1955;9(1):27-41.
- MILLER R. Larval competition in *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. Ecology. 1964;45(3):132-147.
- RAMOS P. Manual de genética para *Drosophila melanogaster*. Primera edición. Ciudad de México Editorial McGraw-Hill. 1993.
- RODRÍGUEZ D. A model of population dynamics for the fruit fly *Drosophila melanogaster* with density dependence in more than one life stage and delayed density effects, the journal of animal ecology. 1989;58(2):349-365.

SANTOS, M, BORASH D, JOSHI A, BOUNLUTAY N, MUELLER L. Density-Dependent natural selection in *Drosophila*: Evolution of growth rate and body size: Evolution. 1997;51(2):420-432.

SAMEOTO D, MILLER R. Factors controlling the productivity of *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans*. Ecology. 1966;47(5):695-704.

WASSERMAN, M. Egg-to-adult survival: an invalid measurement for determining preadult viability. Am. Nat. 1970;104(938):404-407.

