



Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias
Escuela de Ciencias

PROFESOR PATROCINANTE:

Dra. Gladys Ruíz D.
Instituto de Ecología y Evolución
Universidad Austral de Chile

PROFESOR CO-PATROCINANTE:

Dr. Raúl Godoy H.
Facultad de Medicina
Universidad de Chile.

**PATRONES DE DISPERSIÓN Y VIABILIDAD DE LARVAS DE DOS ESPECIES DE
DROSOPHILA QUE SE CRÍAN EN LA NATURALEZA EN SUBSTRATOS MUY
DIFERENTES.**

Tesis de grado presentada como parte
de los requisitos para optar al grado
de Licenciado en Ciencias Biológicas

**MARÍA VERÓNICA ZULETA SAAVEDRA
VALDIVIA – CHILE
2005**

DEDICATORIA

A *Dios*: creo que no son necesarias las palabras para decirte que he sentido tu apoyo durante toda esta etapa. Cuando las cosas se veían sin salida, supiste comunicarte conmigo, en las cosas, en las personas... Una vez más, llegamos juntos al final de una etapa.

Este logro está dedicado a todas aquellas personas, que de una u otra forma estuvieron presentes y me ayudaron a terminar LA TESIS. Perdonen, si alguno queda fuera de las palabras, están siempre en mi corazón.

A mis padres, por el apoyo incondicional, por las llamadas de consuelo y de ánimo... a pesar de los kilómetros, siempre han estado muy cerca. Infinitas gracias, los amo con todo mi corazón.

A Helton, mi pequeño gran hermano. Muchas gracias por tus palabras de aliento, por tener fe en mí, por escucharme y consolarme cuando necesité apoyo, comprensión o un cable a tierra.

A la Cata y Martin: tal vez se sientan un poco ajenos a todo esto, son varios los años que nos separan (aparte de los kilómetros), pero están presentes cada día en mis pensamientos. Sé que cuento con ustedes, sepan que siempre pueden contar conmigo.

A mi querida Inés Paula, me faltan palabras para decirte cuanto te quiero. Todas las cosas que pasamos juntas estarán siempre en mis recuerdos. Gracias por el apoyo, las eternas conversaciones junto a “una taza de té”, por tu amistad y porque has sido una hermana para mí.

A Daniel, gracias por el apoyo, la palabra precisa, el abrazo acogedor, por dejarme ser, por darme ánimo, incluso por el soporte técnico, que ha sido fundamental en el escrito de esta tesis. Por la complicidad y amistad que ha caracterizado nuestra relación y por que sé que a pesar de todo, puedo contar contigo.

A Oliver: mil gracias por el socorro estadístico, por las charlas, la amistad... por compartir esta etapa de la tesis, lejos de los amigos.

A mis inseparables de Valdivia: especialmente a Susana, Feña, Karin, Andrea, Felipe y Pedro. Gracias por el apoyo a la distancia, por las palabras de ánimo y las buenas vibras.

A los amigos en Santiago: Miguel y Jaime, gracias por el apoyo, la preocupación y el consuelo. A Carolina, por la felicidad del re-encuentro de una amistad eterna, gracias por el apoyo en todo!!!

A mis nuevas compañeras de casa: Paulina y Mary, muchísimas gracias por todo, por escucharme y por lo que me han ayudado, especialmente en los momentos de crisis. En poco tiempo, han ganado un espacio en mi corazón.

Finalmente, quiero agradecer a dos personas fundamentales en este proceso, mis profesores, Dra. Gladys Ruiz y Dr. Godoy:

Dire: mil gracias por haber sido, un ejemplo de profesora y una madre, durante toda mi estadía en Valdivia, incluso ahora. Gracias por la confianza y la paciencia con esta tesista.

Profe Raúl: muchas gracias por la paciencia, por la confianza y por el optimismo que me ha transmitido durante el transcurso de esta tesis. Por tener fe en mí y en mi trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Tengo palabras especiales de agradecimiento para el Laboratorio “Drosophila” del Instituto de Ecología y Evolución de la Universidad Austral de Chile, en cuyas dependencias se llevó a cabo la parte experimental de esta tesis. Gracias también, al equipo de trabajo dirigido por la Dra. Ruiz y por el apoyo financiero de esta tesis a través del proyecto DID S- 2003-25.

También agradezco al laboratorio y equipo de trabajo dirigido por el Dr. Godoy, en la Universidad de Chile, donde se realizó el proceso de escritura. Agradezco también el financiamiento de esta tesis con el proyecto Fondecyt 1020130, del cual es responsable el doctor Godoy.

INDICE.

	Página
1. RESUMEN	1
1.1. Abstract	3
2. INTRODUCCIÓN	5
3. MATERIALES Y MÉTODOS	9
3.1. Material Biológico	9
3.2. Crianza	10
3.2.1. Medio de cultivo	10
3.2.2. Preparación del medio de cultivo	11
3.3. Obtención de larvas	11
3.4. Procedimiento experimental	12
3.4.1. Dispersión y selección en cuatro substratos	12
3.4.2. Dispersión y selección en dos substratos	13
3.4.3. Excavación	14
3.4.4. Viabilidad	15
3.5. Análisis estadísticos	15
3.5.1. Utilización de programas estadísticos	16
3.5.2. Prueba de Chi-cuadrado	16
3.5.3. Prueba G de independencia	16
3.5.4. Prueba de <i>t</i> de Student	17

4. RESULTADOS	18
4.1. Dispersión y selección en cuatro substratos	18
4.1.1. Ceba Til-Til	18
4.1.2. Ceba Chillán	21
4.2. Número de larvas por substrato en diferentes tiempos de observación	24
4.3. Dispersión y selección en dos substratos	27
4.3.1. Ceba Til-Til	27
4.3.2. Ceba Chillán	30
4.4. Excavación	33
4.4.1. Fenotipos conductuales	34
4.4.2. Profundidad de excavación	37
4.4.3. Viabilidad	39
5. DISCUSIÓN	41
5.1. Dispersión y selección en cuatro substratos	41
5.2. Dispersión y selección en dos substratos	42
5.3. Conducta excavatoria	42
5.4. Viabilidad	44
5.5. Conclusiones	44
5.6. Proyección del trabajo	45
6. LITERATURA CITADA	47

INDICE DE FIGURAS

	Página
Dispersión y selección en cuatro sustratos	
1: Dispersión de larvas de primer estadio de la cepa Til-Til (<i>D. sp.</i>)	19
2: Dispersión de larvas de segundo estadio de la cepa Til-Til (<i>D. sp.</i>)	20
3: Dispersión de larvas de tercer estadio de la cepa Til-Til (<i>D. sp.</i>)	21
4: Dispersión de larvas de primer estadio de la cepa Chillán (<i>D. pavani</i>)	22
5: Dispersión de larvas de segundo estadio de la cepa Chillán (<i>D. pavani</i>)	23
6: Dispersión de larvas de tercer estadio de la cepa Chillán (<i>D. pavani</i>)	24
Número de larvas por sustrato en diferentes tiempos de observación	
7: Porcentaje de larvas de primer, segundo y tercer estadio que prefieren dispersar en manzana, zapallo, pera o plátano	25
Dispersión y selección en dos sustratos	
8: Dispersión de larvas de primer estadio de la cepa Til-Til (<i>D. sp.</i>)	27
9: Dispersión de larvas de segundo estadio de la cepa Til-Til (<i>D. sp.</i>)	28
10: Dispersión de larvas de tercer estadio de la cepa Til-Til (<i>D. sp.</i>)	29
11: Dispersión de larvas de primer estadio de la cepa Chillán (<i>D. pavani</i>)	30
12: Dispersión de larvas de segundo estadio de la cepa Chillán (<i>D. pavani</i>)	31
13: Dispersión de larvas de tercer estadio de la cepa Chillán (<i>D. pavani</i>)	32

Excavación

Fenotipos conductuales

- 14:** Porcentaje de larvas de primer, segundo y tercer estadio que excavan en la papilla nutritiva 34
- 15:** Porcentaje de larvas de primer, segundo y tercer estadio que excavan entre el substrato y la pared del tubo de vidrio 35
- 16:** Porcentaje de larvas de primer, segundo y tercer estadio que permanecen en la papilla nutritiva 36

Profundidad de excavación

- 17:** Profundidad promedio (en mm) a la que excavan larvas de primer, segundo y tercer estadio 37
- 18:** Rangos de profundidad de excavación (en mm) de larvas de primer, segundo y tercer estadio de ambas cepas 38

INDICE DE TABLA

	Página
Tabla 1: Viabilidades de las cepas Til-Til y Chillán, criadas en medio nutritivo (control) y suplementado con pulpa de cactus y de manzana. La viabilidad se estimó por el número de adultos emergidos.	40

1. RESUMEN.

Para determinar si la selección de substratos para dispersar, de larvas de *Drosophila*, depende de la historia evolutiva de cada especie, se comparó la conducta dispersiva de larvas de dos cepas, cada una perteneciente a diferentes especies del género *Drosophila*. La primera cepa, se originó a partir de individuos de *D. pavani* emergidos de tejido de manzanas en descomposición, colectadas en un huerto frutal en Chillán. La segunda cepa, corresponde a individuos de *D. sp.*, especie hermana de *D. funebris*, emergidos de tejido necrosado del cactus columnar *Echinopsis chilensis*, colectado en la localidad de Til-Til.

Si la dispersión y la exploración de ambientes están sometidas a presiones de evolución, larvas de diferentes especies de *Drosophila*, con ecología diferente, deberían mostrar patrones de dispersión y exploración distintos frente a ambientes diferentes.

Las respuestas obtenidas indican que las dos cepas tienen una amplia norma de reacción y preferencias similares por substratos para dispersar. La magnitud de las preferencias es relativa al estadio de desarrollo larval. La conducta que se refiere a la distribución de las larvas en sus sitios de cría, difiere para cada cepa; por ejemplo, el número de larvas de la cepa Chillán que excavan el substrato es mayor que el de la cepa Til-Til. Además, las larvas de la cepa Chillán alcanzan mayor profundidad en el substrato que las de la cepa Til-Til. La conducta excavatoria de la cepa Chillán, aumenta a medida que avanza el desarrollo larval, en cambio, la excavación del

substrato por las larvas de la cepa Til-Til tiende a mantenerse constante a lo largo del desarrollo larval. Por último, la viabilidad huevo-adulto de la cepa Til-Til es más afectada, por el substrato de crianza, que la de las larvas de la cepa Chillán.

1.1. ABSTRACT

To understand if the manner how *Drosophila* larvae choose substrates to dispersal, depend on evolution history from each species, the dispersal behaviour was compare in two strain, each stock referring to a different specie of *Drosophila* genus. The first strain was originated as of individual of *D. pavani* grow up of tissue of overripe apples, collected in a fruit orchard in Chillán. The second strain correspond to individual of *D. sp.*, sibling specie of *D. funebris*, grow up of necrotic tissue from columnar cactus *Echinopsis chilensis*, collected in Til-Til place.

If the dispersion and environment's exploration, are subjected to pressures of evolution, differents species of *Drosophila* larvae, each species of different ecology, should show dispersal patterns and exploration of different environments.

The results obtained indicate that two strains have an extensive norm of reaction and similar preferences for substrates to dispersal. The magnitude of the preferences is relative to development of larval stage. The behaviour that are relate to the distribution of larvae in their breeding sites, defer for each strain. For example, the number of larvae of Chillán strain that dig the substrate is more than Til-Til strain. Also, the larvae of Chillán strain reach more deep in the substrate than in the Til-Til strain. The digging behaviour in Chillán strain increase as the development process, on the other hand, the dig of substrate for the larvae of Til-Til strain tend to keep constant along of larvae

development. Finally, the viability egg-adult of the Til-Til strain is more affected than the larvae of Chillán strain due to the breeding substrate.

2. INTRODUCCIÓN.

La dispersión es un rasgo de historia de vida que afecta la distribución y abundancia de las especies, con consecuencias para la estructura de comunidades (Fleury *et al.*, 2004). La dispersión también puede reducir la competencia por alimento y espacio entre y dentro de una especie (Shorrocks y Bingley, 1994). Es difícil imaginar algún problema ecológico o evolutivo que no esté afectado por la dispersión. Desde una perspectiva ecológica, la dispersión influencia el crecimiento y persistencia en el tiempo de las poblaciones, así como la distribución y abundancia de las especies. Desde una perspectiva evolutiva, la dispersión también afecta el flujo génico entre poblaciones y afecta procesos como adaptación a ambientes locales, especiación y evolución de rasgos de historia de vida (Dieckmann *et al.*, 1999).

Por otra parte, la adecuación biológica de un animal es relativa a la calidad y cantidad del alimento consumido, como también al lugar que ocupa en el espacio. Por lo tanto, investigaciones relacionadas con dispersión de grupos de animales durante las actividades de forrajeo, son esenciales para entender la dinámica de las poblaciones. Para algunos animales, la energía que proporciona el forrajeo puede depender de la abundancia en que se encuentren uno o más nutrientes (Tuck y Hassall, 2004). Consecuentemente, es de importancia relacionar la distribución de recursos ecológicos con los patrones de dispersión, ubicación y consumo de esos recursos. La conducta de forrajeo de diversas especies de animales ha atraído la atención de ecólogos conductuales; sin embargo, se conoce poco acerca de las bases hereditarias de este

rasgo y bajo qué condiciones, diferencias individuales en conducta de forrajeo se relacionan con diferencias en adecuación biológica (Sokolowski *et al.* 1997). Es posible que investigaciones relacionadas con las bases conductuales de la dispersión, permitan relacionar ubicación, consumo y utilización del alimento y espacio, con la ecología de las especies animales. Esto podría llevar a entender el papel de la dispersión y forrajeo con la coexistencia de especies en los ambientes naturales en los cuales ellas viven (Nunney, 1990). También, podrían ser de importancia para entender cómo gremios locales, que comparten recursos comunes, pueden coexistir y persistir en el tiempo (Medina-Muñoz y Godoy-Herrera, 2005).

En *Drosophila*, los patrones de movimiento de las larvas son importantes para comprender estrategias de alimentación y uso del espacio (Revisión en Singh y Pandey, 1993). Este tipo de conducta merece una atención especial, debido a la importancia de los factores tróficos que actúan a nivel de los estados preadultos. De hecho, se considera que, en el género *Drosophila*, el nicho de una especie es definido, en gran parte, por el sitio donde se crían las larvas, más que por la conducta de alimentación de los adultos y sitios de apareamiento (Godoy-Herrera *et al.*, 2004).

La presente tesis corresponde a un estudio de la dispersión de las larvas de dos especies de *Drosophila* en ambientes heterogéneos. Esta conducta larval, incluye diferentes actividades coordinadas (Green *et al.*, 1983). Entre estas, se pueden mencionar: alimentación (ingesta de alimento), locomoción (contracciones musculares

que llevan al individuo de un lugar a otro) y giros (cambios de dirección durante la locomoción). Estos componentes conductuales se han estudiado con algún detalle (revisión en Godoy-Herrera *et al.*, 2004, 2005; Sokolowski *et al.*, 1997; Riedl *et al.*, 2005). Menos comprendida, es la forma en que las larvas perciben las señales del ambiente que les ayudan a seleccionar substratos para dispersar y alimentarse y para iniciar actividades de excavación. La presente tesis se centra en investigar este último tipo de problema.

En larvas de *Drosophila*, la percepción y selección de substratos para dispersar tiene consecuencias para la selección de items alimentarios y para la selección de sitios de pupación. Es decir, estas actividades se relacionan con la adecuación biológica, ya que la adquisición de alimento y el uso del espacio tienen consecuencias para el desarrollo de las larvas, la duración de los estadios larvales, la viabilidad, la fecundidad y la capacidad larval para competir por alimento (Jones y Widemo, 2005; Rohlf y Hoffmeister, 2005).

En esta tesis, se propone que la selección de substratos para dispersar depende de la historia evolutiva de las especies. Para probar esta hipótesis, se compararon los patrones de dispersión de larvas de *Drosophila pavani* (especie endémica de Chile) y de larvas de otra especie, hermana de la especie cosmopolita *Drosophila funebris*. Esta última, se cría en tejido necrosado del cactus *Echinopsis chilensis*. Además, se estudió

si las preferencias de las larvas de estas dos especies por substratos para dispersar, afectan la viabilidad huevo-adulto.

A partir de la hipótesis anteriormente planteada, el Objetivo general fue:

Describir los patrones de dispersión de larvas de *Drosophila* en ambientes heterogéneos y relacionarlos con un componente de la adecuación biológica como es la viabilidad.

Los Objetivos específicos que se desprenden del objetivo general fueron:

1. Describir las preferencias de substratos para dispersar, de larvas de diferentes edades.
2. Comparar la dispersión de larvas de dos cepas de diferentes especies, cuyos ancestros provenían de substratos de crianza naturales muy diferentes.
3. Evaluar las relaciones entre conducta dispersiva de las larvas y viabilidad huevo-adulto.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Material Biológico.

En este trabajo se utilizó la cepa Chillán de *Drosophila pavani* (subgénero *Drosophila*, grupo *mesophragmatica*), la que se formó con adultos emergidos de manzanas en descomposición, (variedad Red Delicious) provenientes de un huerto frutal de Chillán, a 420 km al sur de Santiago. En este huerto se cultivan también ciruelos, duraznos, cerezos y parras viníferas, cuyos frutos fermentados sirven como sitio de crianza para Drosophílidos. Además, en el huerto crecían plantas ornamentales y vegetación nativa (Medina-Muñoz y Godoy-Herrera, 2005). La pluviosidad promedio en el área es de 600 mm anuales.

Se utilizó además, la cepa Til-Til de *Drosophila sp*, cuyos ancestros emergieron de tejido de cactus (*Echinopsis chilensis*) en descomposición. Estas plantas crecen en la zona de Til-Til, a 80 km al noroeste de Santiago; en esta localidad semi desértica, las plantaciones frutales están constituidas por tunas y olivos. En los cerros de la Cordillera de la Costa que rodean Til-Til crecen en abundancia plantas de *E. chilensis*. La pluviosidad promedio de este sector no supera los 180 mm anuales. La cepa Til-Til resultó ser una nueva especie de *Drosophila*, perteneciente al grupo *funnebris* (Flores *et al.*, 2001; 2003 y Flores 2004).

Las dos cepas se mantienen en el cepario de *Drosophila* del Programa de Genética Humana, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. De estas, se formaron

sub-cepas que se mantienen en el cepario del Laboratorio de *Drosophila*, del Instituto de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias de la Universidad Austral de Chile, donde se realizó el presente trabajo.

3.2. Crianza.

En el cepario las moscas se mantuvieron a 22 ± 1 °C, 60% de humedad relativa y fotociclos de luz-oscuridad de 12-12 horas, en botellas de vidrio estériles que contenían aproximadamente 50 ml de medio de cultivo y taponadas con algodón y gasa.

3.2.1. Medio de cultivo.

El medio de cultivo empleado corresponde al medio Burdick (1954). Los materiales y las cantidades requeridas para preparar 500 cc de medio de cultivo son los siguientes:

-	Agua	-	500 cc
-	Agar	-	9 gr
-	Sémola	-	31.25 gr
-	Azúcar	-	18.7 gr
-	Levadura	-	5 gr
-	Mezcla ácida	-	5.4 cc
-	“Tegosept M”	-	6 cc

La mezcla ácida está compuesta por dos soluciones, cada una de ellas contiene:

Solución 1:	ácido propiónico	418 cc
	agua destilada	82 cc
Solución 2:	ácido ortofosfórico	41 cc
	agua destilada	459 cc

El "Tegosept M" tiene una concentración de 12.5%, preparado en alcohol al 70%. El ácido propiónico y el "Tegosept M" inhiben el desarrollo de bacterias y hongos que pudiesen contaminar los cultivos, pero sin afectar el desarrollo de las especies de *Drosophila* (Brncic, .1957).

3.2.2. Preparación del medio de cultivo.

Se disuelve el agar en agua caliente, se agrega la sémola y la mezcla ácida y se hierve durante 5 minutos, al cabo de los cuales se agregan el ácido propiónico y la solución de "Tegosept M".

3.3. Obtención de Larvas.

Hembras de 8 días de edad, fecundadas por machos de las correspondientes cepas, se dejaron ovipositar por 4 horas en una placa Petri de 35 x 10 mm (diámetro x altura) conteniendo medio de cultivo. Este substrato se tapizó con una delgada capa de levadura de panificación suspendida en agua destilada, cuya función es estimular la

oviposición (Godoy-Herrera, 1986). Se rotuló cada placa Petri, para identificar la cepa a la que pertenecían los huevos y la fecha de oviposición. Se incubaron a $19 \pm 1^\circ\text{C}$.

La eclosión de las larvas se produjo 48 horas después de la oviposición. Una vez nacidas, 24 horas post eclosión, se colectaron al azar veinte larvas de 24 a 28 horas de desarrollo. Veinticuatro horas más tarde, se colectaron otras veinte larvas de 48 a 52 horas de edad. El procedimiento se repitió cada 24 horas para obtener grupos de larvas de 72-76, 96-100, 120-124, 144-148 y 168-172 horas de desarrollo larval.

Una vez registrada la conducta de las larvas colectadas (ver más adelante), éstas se eliminaron para evitar que la experiencia de las larvas en las placas Petri de observación, introdujera un error adicional en las mediciones realizadas.

3.4. Procedimiento Experimental.

3.4.1. Dispersión y selección en cuatro substratos.

Se emplearon placas Petri de 90 x 15 mm (diámetro x altura). Cada placa se llenó con agar hasta una altura de 3 mm, aproximadamente. Esta base de agar se dividió en cuatro superficies de igual tamaño, utilizando láminas de mica de aproximadamente 4 mm de alto. Cada uno de los cuatro compartimentos se cubrió con una fina capa de papilla nutritiva, preparada con fruta en descomposición; ya sea, manzana, zapallo, pera o plátano, mezclada con levadura al 48%. Así, cada uno de los cuatro sectores en que se dividió el agar de cada placa, contenía un tipo de substrato diferente.

Grupos de 20 larvas, de la misma cepa y de la misma edad, se depositaron en el centro de la correspondiente placa Petri. Con ayuda de una lupa estereoscópica y a intervalos de 2 minutos, dentro de un periodo total de observación de 30 minutos, se registró el número de larvas presentes en cada sustrato.

Para cada cepa y edad larval se realizaron 10 réplicas.

3.4.2. Dispersión y selección en dos sustratos.

Se utilizaron las mismas placas Petri ya descritas más arriba, pero esta vez la superficie del agar se dividió en sólo dos compartimentos y cada uno cubierto con una fina capa de manzana o cactus en descomposición. Se emplearon estos sustratos, puesto que son los que están presentes en los lugares de colecta de los individuos que originaron las cepas en estudio.

Grupos de 20 larvas, de la misma cepa y edad, se colocaron en el centro de una placa Petri; luego, cada un minuto, hasta un total de 5, se registró el número de larvas en cada sustrato. Para contabilizar el número de larvas en cada sustrato se utilizó una lupa estereoscópica.

Para cada cepa y edad larval se realizaron diez réplicas.

3.4.3. Excavación.

En esta serie de experimentos se emplearon pipetas Pasteur, de 12.5 cm, con el extremo inferior sellado. Cada pipeta se llenó con una suspensión de agar, azúcar y levadura, la que se preparó en las siguientes proporciones:

- 400 cc de agua
- 9.6 gr de agar
- 7.0 gr de azúcar
- 2.0 gr de levadura

Una vez llenadas las pipetas, se depositó en su extremo superior, una larva de la cepa en estudio y de edad conocida (24-28, 48-52, 72-76, 96-100, 120-124, 144-148 y 168-172 horas de desarrollo larval). A continuación, cada pipeta se cerró con un tapón de algodón. Posteriormente, las pipetas se colocaron en posición vertical sobre una base de plumavit y se mantuvieron a temperatura ambiente (19 ± 1 °C) por 8 horas. Una vez transcurrido ese tiempo, se registró la profundidad a la que se encontraba la larva. Con este fin, y con la ayuda de una regla milimetrada, se midió la distancia desde la superficie del medio hasta el lugar en que se encontraba la larva.

Se realizaron 15 réplicas para cada cepa y edad larval.

3.4.4. Viabilidad.

Se emplearon tubos de vidrio de 2.5 cm de alto por 2.0 cm de diámetro, llenos de medio de cultivo (aproximadamente 10 ml) adicionado con pulpa de manzana o de cactus, en la proporción de 1:5. Otro grupo de tubos se llenó sólo con medio de cultivo, a modo de controles para los otros dos substratos.

Un grupo de 10 tubos por cada tipo de substrato, se sembraron individualmente, con 20 huevos de la cepa en estudio, cuidando de no dañarlos y evitando romper la superficie del medio de cultivo con la aguja. Luego estos tubos se incubaron a 19 ± 1 °C, hasta la eclosión de los adultos.

3.5. Análisis Estadísticos.

Los datos se analizaron agrupándolos por estadio larval y por cepa. La duración de cada estadio se determinó midiendo el largo y ancho de las mandíbulas y contando el número de dientes, en larvas de 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 y 192 horas de desarrollo (Godoy-Herrera, comunicación personal). De esta forma se determinó que, para ambas cepas, el primer estadio larval abarca desde las 24 a las 72 horas de desarrollo; el segundo, desde las 96 a las 144 horas y el tercero desde las 168 a las 192 horas.

3.5.1 Utilización de programas estadísticos.

Se empleó el programa computacional SPSS para Windows, para analizar estadísticamente la dispersión y preferencias de las larvas por los substratos utilizados, específicamente, se aplicó un análisis de la varianza para mediciones repetidas.

Para conocer la contribución a la varianza de las preferencias de las larvas por los substratos utilizados, se realizó un análisis *a posteriori* (prueba de Tukey).

Para estimar los patrones de distribución de larvas durante el proceso de dispersión, se aplicó una prueba de contraste intra-sujetos, que permite conocer la ecuación que describe el patrón de dispersión en el tiempo. Con la ayuda del programa SYSTAT, se realizaron pruebas de hipótesis, para identificar en qué momento se estabilizan las preferencias de las larvas por alguno de los substratos utilizados.

3.5.2. Prueba de Chi-cuadrado.

En los experimentos de viabilidad en diferentes substratos, se aplicó una prueba de Chi-cuadrado, para estimar la significancia estadística de las diferencias en viabilidad de las larvas criadas en diferentes substratos.

3.5.3. Prueba G de independencia.

En los experimentos de dispersión y preferencias por cuatro substratos, se cuantificó el número de veces que cada substrato registró el mayor número de larvas en cada uno de los controles realizados. Posteriormente, se estimó si estas preferencias, eran estadísticamente significativas.

Para estimar la significancia estadística de la conducta de excavación de larvas de igual estadio de las cepas Til-Til y Chillán, se aplicó una prueba G de independencia (Sokal y Rohlf, 1995).

3.5.4. Prueba de t de Student.

La prueba *t* de Student, (Sokal y Rohlf, 1995) se utilizó para probar la existencia de diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la profundidad a la que excavan las larvas de las cepas Til-Til y Chillán.

4. RESULTADOS.

4.1. Dispersión y selección en cuatro substratos.

Las Figuras 1 a la 3 muestran los patrones de dispersión de larvas de primer, segundo y tercer estadio de la cepa Til-Til (*D. sp.*); mientras que las Figuras 4 a la 6 muestran la dispersión de larvas de esos mismos estadios de la cepa Chillán (*D. pavani*). La dispersión se midió por el número de larvas en cada substrato. Las larvas de ambas cepas podían dispersar por manzana, zapallo, pera o plátano. Alrededor del cien por ciento de las larvas dispersan por los substratos.

4.1.1. Cepa Til-Til.

La Figura 1 muestra que larvas de primer estadio de la cepa Til-Til (*D. sp.*) tienden a dispersar por plátano. Un número importante de estos preadultos también dispersan por zapallo y manzana. En contraste, un número menor de larvas prefiere dispersar por pera ($F_{14, 1624} = 31.01$; $P < 0.05$). Estas preferencias se estabilizan a los 8 min de iniciado el experimento (las diferencias entre controles no son significativas después de este tiempo) ($F_{1, 116} = 3.88$; $P > 0.05$). La interacción tiempo-substrato es significativa ($F_{42, 1624} = 4.17$; $P < 0.05$). La principal contribución a la varianza está dada por el número de larvas que dispersan en pera y en los otros tres substratos (Prueba de Tukey $_{\text{pera-plátano}}$, $U = 3.10 \pm 0.62$; $P = 0.000$, Prueba de Tukey $_{\text{pera-zapallo}}$, $U = 2.46 \pm 0.62$; $P = 0.001$ y Prueba de Tukey $_{\text{pera-manzana}}$, $U = 2.03 \pm 0.62$; $P = 0.007$). Además, el patrón de dispersión es principalmente lineal (62.59% de la dispersión de larvas Til-Til de primer estadio, se ajusta a una ecuación de primer grado ($F_{1, 116} = 37.34$; $P < 0.05$)).

Alrededor de un 29.55% del patrón de dispersión es descrito por una ecuación de segundo grado ($F_{1, 116} = 55.25$; $P < 0.05$) y un 6.74% sigue una ecuación cúbica ($F_{1, 116} = 22.63$; $P < 0.05$).

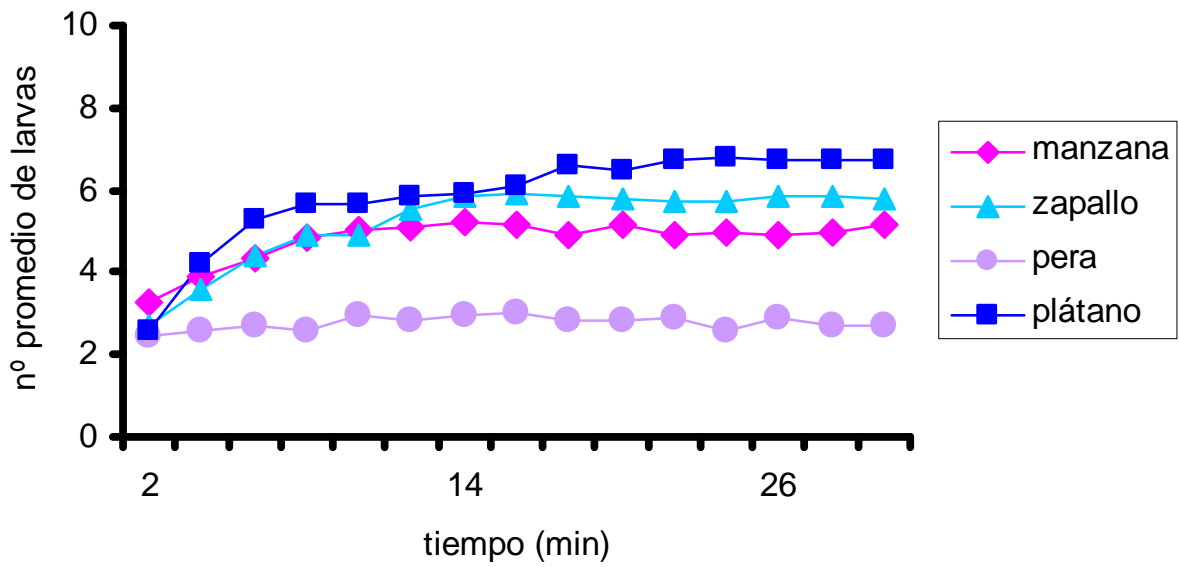


Figura 1: Dispersión de larvas de primer estadio de la cepa Til-Til (*D. sp.*).

La conducta dispersiva por manzana, zapallo, pera y plátano de las larvas de segundo estadio (Figura 2), es comparable con la de las larvas de primer estadio; es decir, la mayor parte de las larvas dispersan por plátano, zapallo y manzana ($F_{14, 1624} = 15.6$; $P < 0.05$). A diferencia de las larvas de primer estadio, las preferencias por los substratos se expresan después de 12 min de iniciado el experimento ($F_{1, 116} = 2.46$; $P > 0.05$). También la interacción tiempo-substrato es significativa ($F_{42, 1624} = 3.14$; $P < 0.05$). La principal contribución a la varianza está dada por las diferencias en el número de larvas encontradas en zapallo y pera (Prueba de Tukey, $U = 2.33 \pm 0.79$; $P = 0.020$).

El patrón de dispersión es principalmente lineal (49.71% de la dispersión de las larvas Til-Til de segundo estadio sigue una ecuación de primer grado ($F_{1, 116} = 15.71$; $P < 0.05$)). Un 32.02% de la dispersión se ajusta a una ecuación de segundo grado ($F_{1, 116} = 29.50$; $P < 0.05$) y un 12.55% se explica por una ecuación cúbica ($F_{1, 116} = 22.28$; $P < 0.05$).

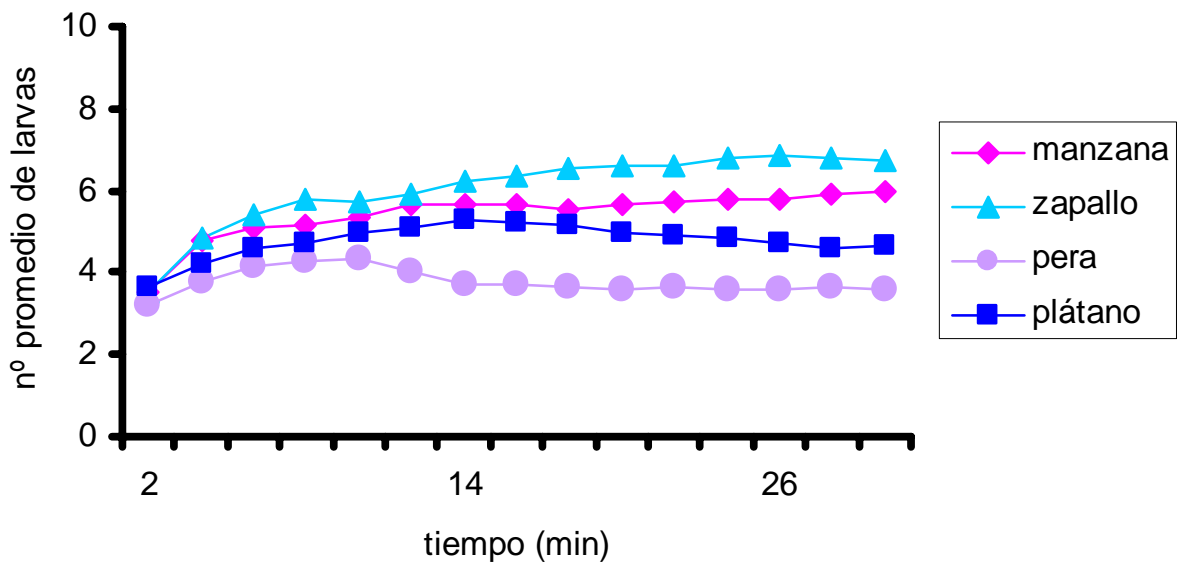


Figura 2: Dispersión de larvas de segundo estadio de la cepa Til-Til (*D. sp.*).

Las larvas de tercer estadio (Figura 3) prefieren dispersar en plátano ($F_{14, 504} = 1.98$; $P < 0.05$), pero esta preferencia no se estabiliza durante el período de observación (13 de las 14 comparaciones arrojaron valores de F mayores que el valor crítico ($F_{1, 36} = 1.78$; $P = 0.05$)). La prueba *a posteriori* de Tukey indica que la mayor contribución a la varianza está dada por el número de larvas de tercer estadio que dispersan en pera versus plátano (Prueba de Tukey, $U = 3.26 \pm 1.01$; $P = 0.014$). La

interacción tiempo-substrato es estadísticamente importante ($F_{42, 504} = 1.95$; $P < 0.05$). El patrón de dispersión es principalmente lineal (48.92% de ella, sigue una ecuación de primer grado ($F_{1, 36} = 3.82$; $P < 0.05$)). Un 28.72% del patrón de dispersión se ajusta a una ecuación de segundo grado ($F_{1, 36} = 4.84$; $P < 0.05$).

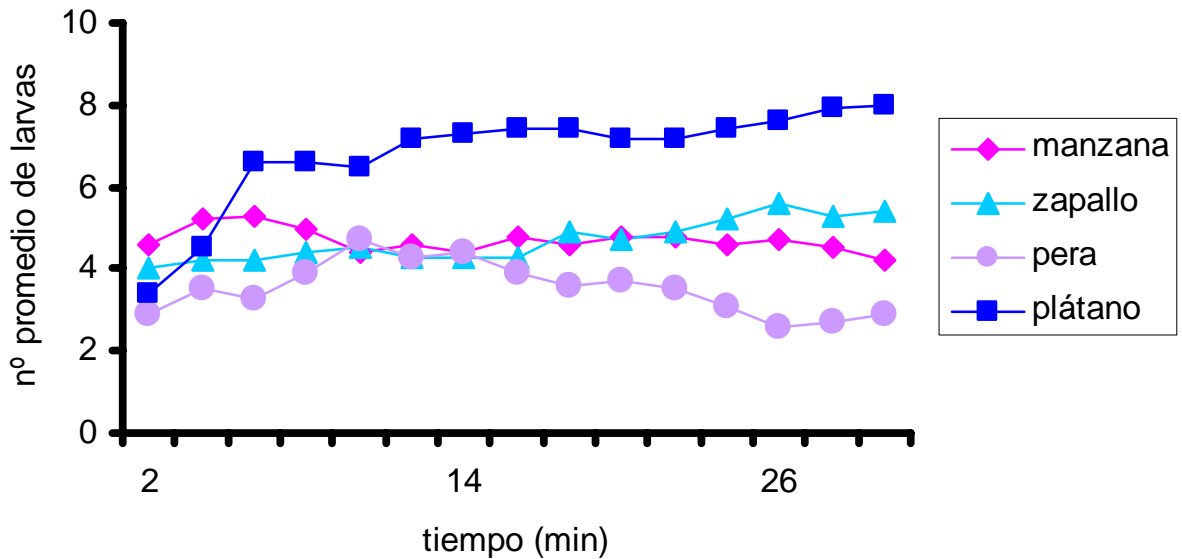


Figura 3: Dispersión de larvas de tercer estadio de la cepa Til-Til (*D. sp.*).

4.1.2. Cepa Chillán.

La Figura 4 muestra que larvas de primer estadio de la cepa Chillán (*D. pavani*), prefieren dispersar por plátano (ANDEVA para mediciones repetidas, $F_{14, 1624} = 11.57$; $P < 0.05$). Estas preferencias se estabilizan después de 8 min de iniciado el experimento ($F_{1, 116} = 2.56$; $P > 0.05$). Además, la interacción tiempo-substrato es significativa ($F_{42, 1624} = 2.99$; $P < 0.05$). La prueba *a posteriori* de Tukey indica que las diferencias de números de larvas en plátano y los otros tres sustratos, hacen la

principal contribución a la varianza (Prueba de Tukey $_{\text{plátano-pera}}$, $U = 3.96 \pm 0.68$; $P = 0.000$, Prueba de Tukey $_{\text{plátano-manzana}}$, $U = 3.06 \pm 0.68$; $P = 0.000$ y Prueba de Tukey $_{\text{plátano-zapallo}}$, $U = 2.49 \pm 0.68$; $P = 0.002$). La dispersión es principalmente lineal (57.45% de la dispersión de las larvas se ajusta a una ecuación de primer grado ($F_{1, 116} = 14.96$; $P < 0.05$)). Un 28.96% de la dispersión de las larvas sigue una ecuación de segundo grado ($F_{1, 116} = 19.83$; $P < 0.05$) y un 10.79% se ajusta a una ecuación cúbica ($F_{1, 116} = 22.01$; $P < 0.05$).

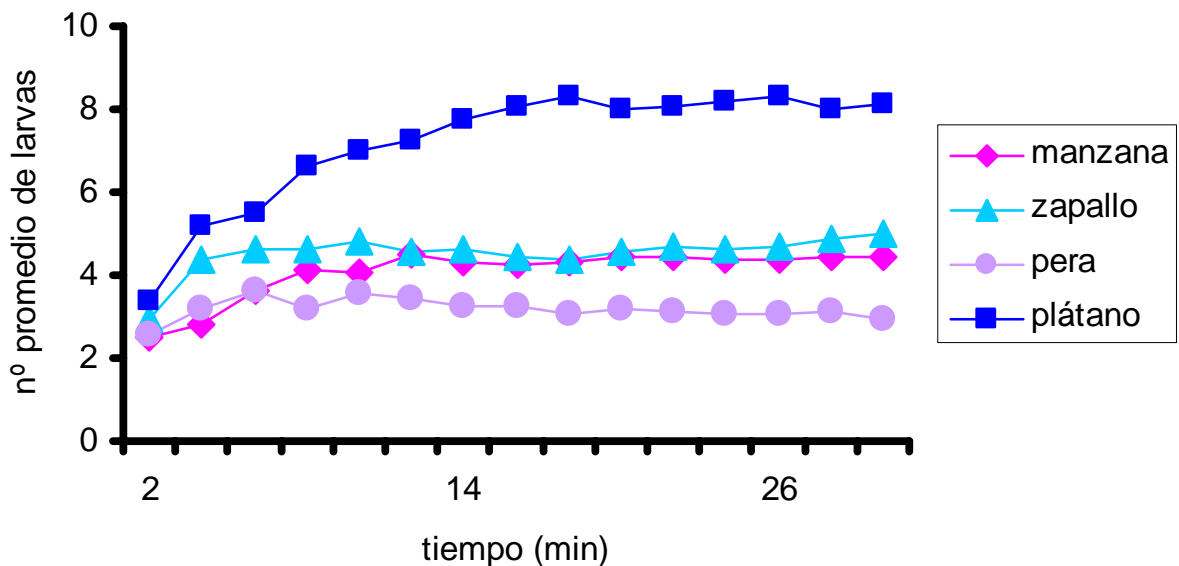


Figura 4: Dispersión de larvas de primer estadio de la cepa Chillán (*D. pavani*).

Durante el segundo estadio larval (Figura 5) las larvas muestran preferencia a dispersar por zapallo. Estas preferencias no cambian en el tiempo ($F_{14, 1624} = 0.16$; $P > 0.05$). La interacción tiempo-substrato tampoco es significativa ($F_{42, 1624} = 0.98$; $P > 0.05$). La principal contribución a la varianza está dada por las diferencias entre el

número de larvas observadas en zapallo y manzana (Prueba de Tukey, $U = 2.27 \pm 0.58$; $P = 0.001$) y en zapallo y pera (Prueba de Tukey, $U = 1.89 \pm 0.58$; $P = 0.008$). El patrón de dispersión de las larvas de segundo estadio de la cepa Chillán no pudo describirse por una ecuación determinada.

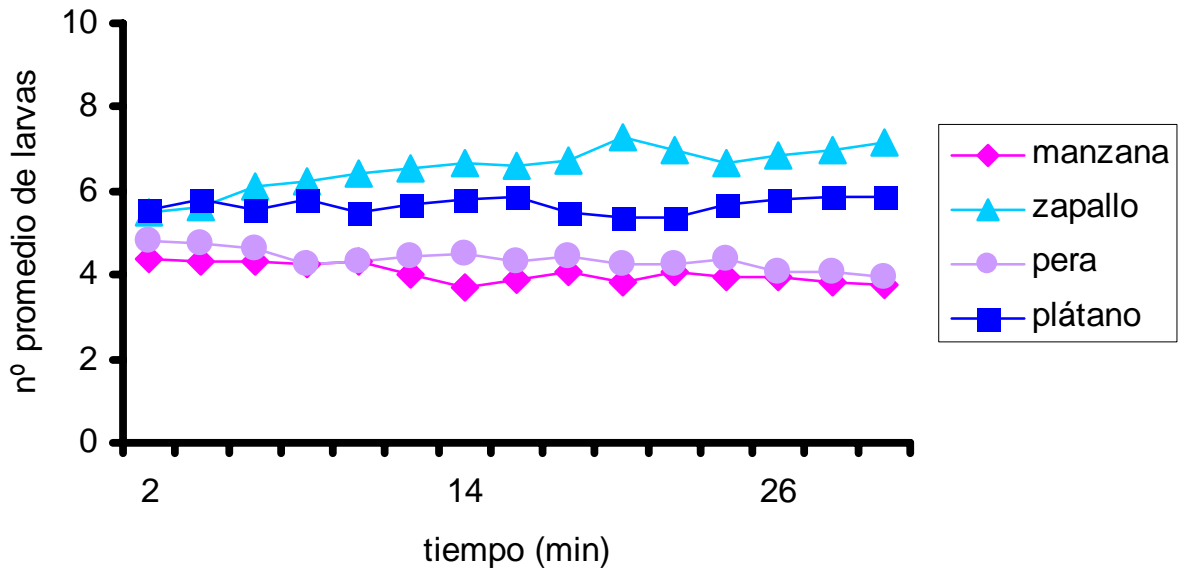


Figura 5: Dispersión de larvas de segundo estadio de la cepa Chillán (*D. pavani*).

Cuando las larvas de *D. pavani* alcanzan el tercer estadio larval (Figura 6) no exhiben preferencias por algún sustrato (manzana, zapallo, pera o plátano) para dispersar, pero el número de larvas que dispersan por estos sustratos cambia en el tiempo ($F_{14, 504} = 2.94$; $P < 0.05$). La interacción tiempo-sustrato es estadísticamente significativa ($F_{42, 504} = 3.03$; $P < 0.05$). Las comparaciones entre controles son estadísticamente diferentes después de los 16 min de iniciadas las observaciones ($F_{1, 36} = 2.50$; $P > 0.05$). La prueba *a posteriori* de Tukey no muestra

diferencias en el número de larvas que dispersan por los substratos utilizados, sugiriendo que éstas no discriminan entre ellos (Prueba de Tukey $_{\text{manzana-zapallo}}$, $U = 2.49 \pm 10.4$; $P = 0.096$). Al igual que con larvas de segundo estadio, no se encontró una ecuación que se ajuste al modelo de dispersión de larvas de tercer estadio de la cepa Chillán (*D. pavani*).

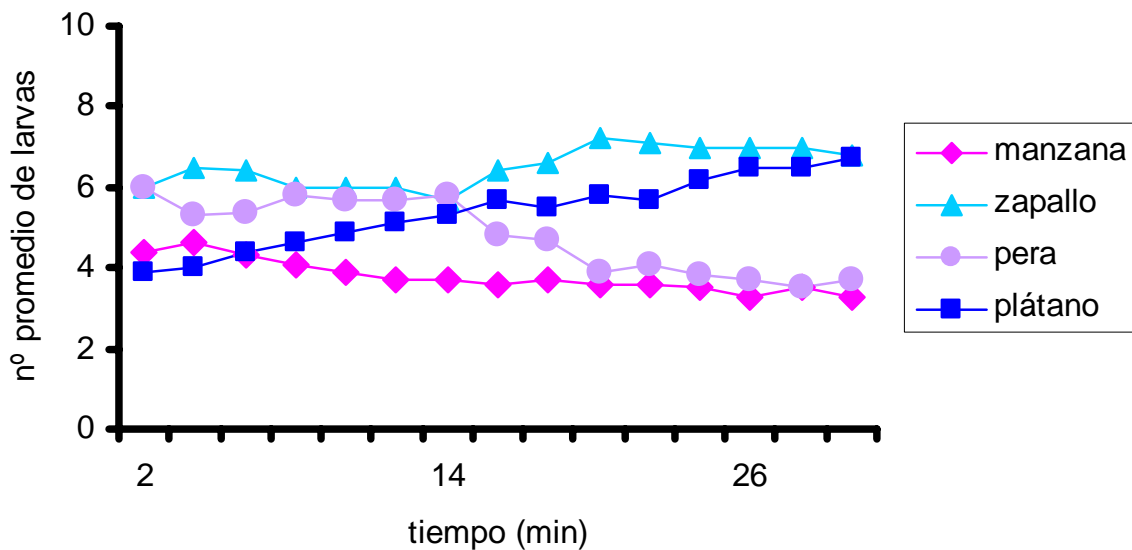


Figura 6: Dispersión de larvas de tercer estadio de la cepa Chillán (*D. pavani*).

4.2. Número de larvas por substrato en diferentes tiempos de observación.

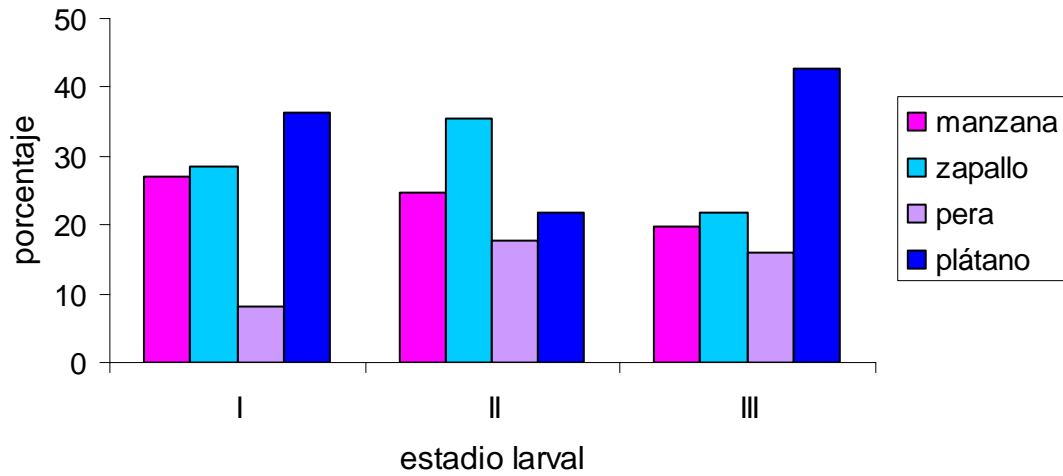
Para confirmar las preferencias de las larvas por uno u otro substrato, se registró el número de veces que cada uno (manzana, zapallo, pera y plátano), contenía el mayor número de larvas en cada uno de los controles realizados. Así, en cada uno de los quince controles realizados, se anotó el substrato que contenía el mayor número de

larvas; cuando en dos substratos se registraba un número igual de larvas, se consideraron ambos.

La Figura 7a resume los resultados para la cepa Til-Til (*D. sp.*). Más de un 35% de los números mayores de larvas de primer estadio de esta cepa, se detectaron en plátano (Prueba G de independencia, $\chi^2 = 109.76$; gl = 3; $P < 0.05$). En el caso de larvas de segundo estadio de esta misma cepa, el substrato preferido para dispersar fue zapallo (Prueba G de independencia, $\chi^2 = 33.68$; gl = 3; $P < 0.05$). En tanto, en el tercer estadio, el mayor número de larvas se encuentra en plátano (Prueba G de independencia, $\chi^2 = 27.86$; gl = 3; $P < 0.05$).

La Figura 7b muestra que larvas de primer estadio de la cepa Chillán (*D. pavani*) prefieren dispersar mayoritariamente por plátano (Prueba G de independencia, $\chi^2 = 149.08$; gl = 3; $P < 0.05$). Sin embargo, larvas de segundo y tercer estadio, se encuentran mayoritariamente sobre zapallo (Prueba G de independencia segundo estadio, $G = 141.66$, tercer estadio $G = 19.26$; gl = 3; $P < 0.05$). Al igual que en la cepa Til-Til, pocas larvas de primer, segundo y tercer estadio dispersan en pera.

a)



b)

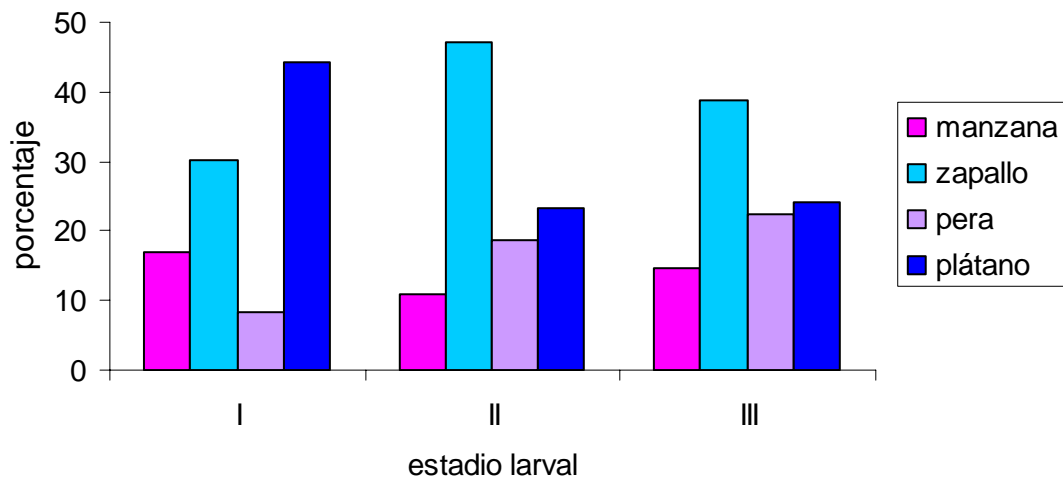


Figura 7: Porcentaje de larvas de primer, segundo y tercer estadio de: **a)** *D. sp.*, cepa Til-Til y **b)** *D. pavani*, cepa Chillán que prefieren dispersar en manzana, zapallo, pera o plátano. La preferencia se estimó como el substrato en que se registró el mayor número de larvas en cada uno de los quince controles.

4.3. Dispersión y selección en 2 sustratos.

Las Figuras 8 a la 10 muestran la dispersión de larvas de primer, segundo y tercer estadio de la cepa Til-Til (*D. sp.*), mientras las Figuras 11 a la 13 muestran la dispersión de larvas de los mismos estadios de la cepa Chillán (*D. pavani*), en sustratos de manzana o cactus.

4.3.1. Cepa Til-Til.

La Figura 8 muestra que las larvas de la cepa Til-Til (*D. sp.*) de primer estadio dispersan por igual en manzana y cactus. Esta ausencia de preferencias se expresan durante todo el tiempo de observación ($F_{1, 58} = 2.19$; $P > 0.05$). El patrón de dispersión se puede explicar en un 92.50% por una ecuación de tipo lineal ($F_{1, 58} = 6.10$; $P < 0.05$). La interacción tiempo-sustrato no fue estadísticamente importante ($F_{4, 232} = 0.61$; $P > 0.05$).

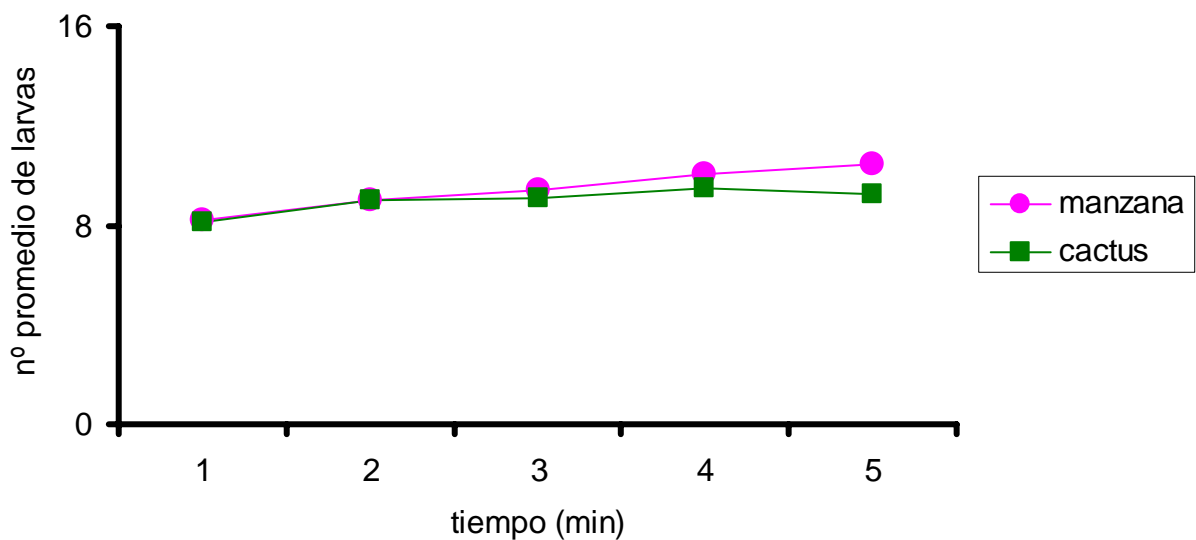


Figura 8: Dispersión de larvas de primer estadio de la cepa Til-Til (*D. sp.*).

Las larvas de segundo estadio, de la cepa Til-Til (Figura 9), tienen una conducta dispersiva muy parecida a las larvas de primer estadio, es decir, no tienen preferencias claras por dispersar en manzana o cactus ($F_{4, 232} = 1.21$; $P > 0.05$) y esta situación se mantiene en el tiempo ($F_{4, 232} = 1.10$; $P > 0.05$). El número de larvas en cada sustrato al inicio y al final del experimento no difieren estadísticamente ($F_{1, 58}$ siempre tuvo un $P > 0.05$). No fue posible identificar una ecuación que se ajustara al modelo de dispersión de las larvas de este estadio.

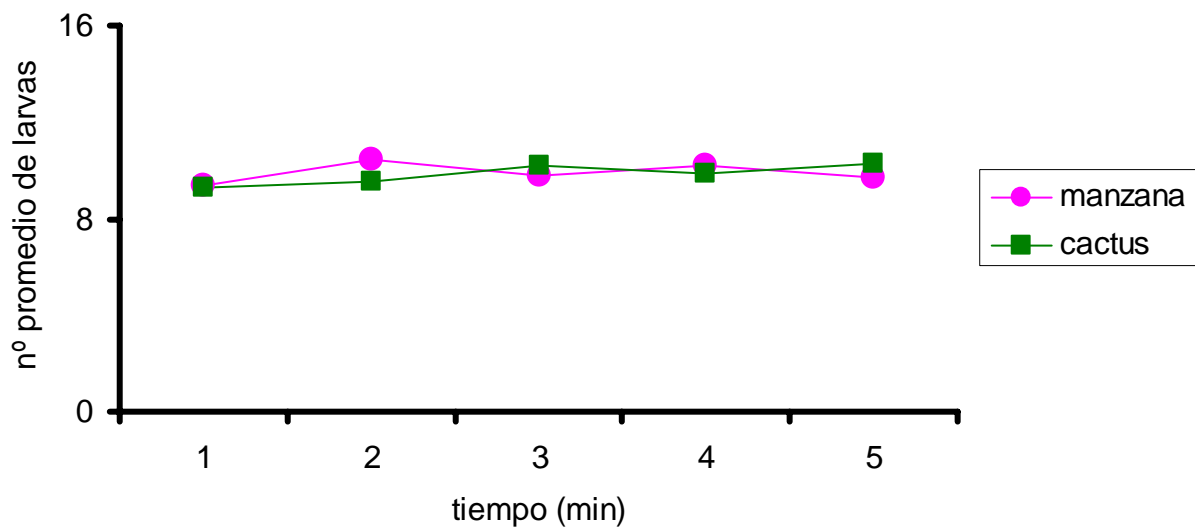


Figura 9: Dispersión de larvas de segundo estadio de la cepa Til-Til (*D. sp.*).

En contraste con las larvas de primer y segundo estadio, se observa que las larvas de tercer estadio de la cepa Til-Til (Figura 10), tienen preferencias claras por dispersar por cactus ($F_{4,72} = 9.48$; $P < 0.05$). Estas preferencias no cambian durante el tiempo de observación, ($F_{4,72} = 0.09$; $P > 0.05$), ya que ellas se establecen después de 3 min de iniciado el experimento ($F_{1,18} = 0.99$; $P > 0.05$). El patrón de dispersión de estas larvas se explica en un 86.28% por una ecuación lineal ($F_{1,18} = 10.92$; $P < 0.05$).

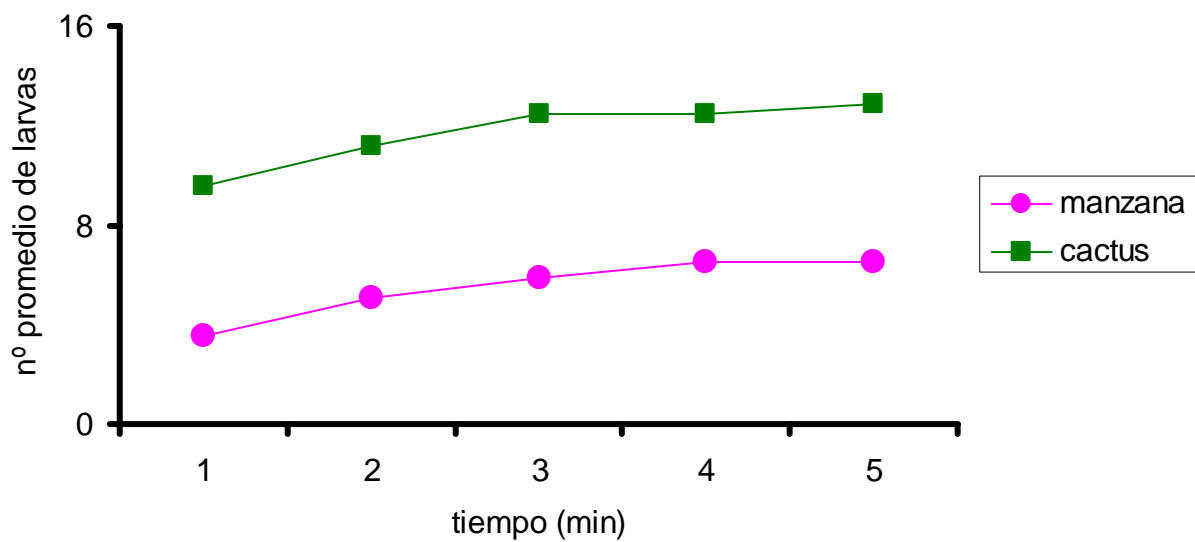


Figura 10: Dispersión de larvas de tercer estadio de la cepa Til-Til (*D. sp.*).

4.3.2. Cepa Chillán.

La Figura 11 muestra que larvas de la cepa Chillán de primer estadio prefieren dispersar en manzana (interacción tiempo-substrato $F_{4, 232} = 4.03$; $P < 0.05$) No se pudo encontrar una ecuación que defina el modelo de dispersión de las larvas de este estadio.

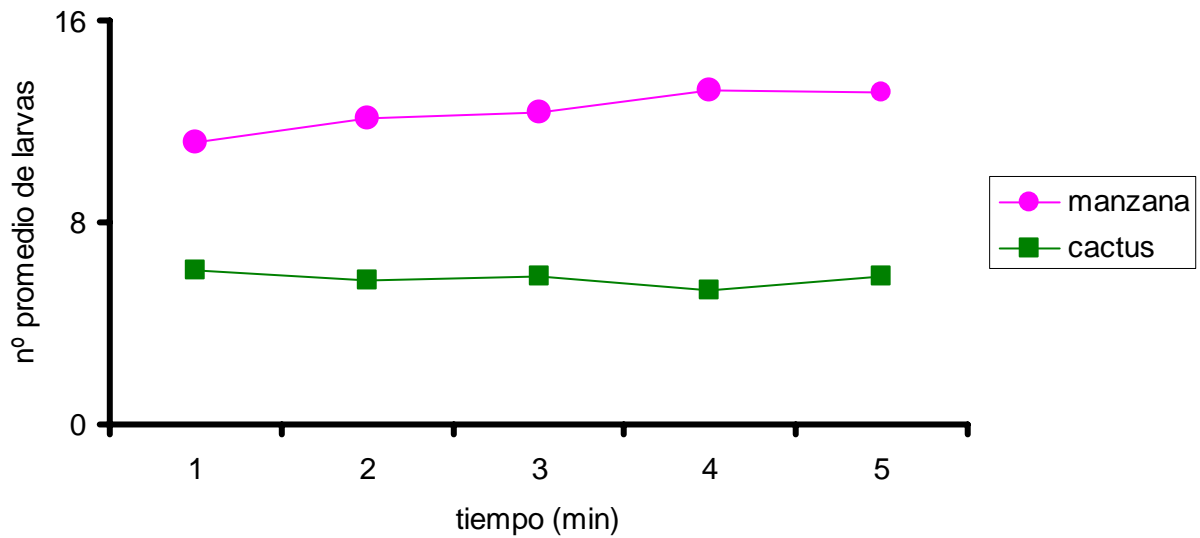


Figura 11: Dispersión de larvas de primer estadio de la cepa Chillán (*D. pavaní*).

En la Figura 12, se observa que larvas de segundo estadio (cepa Chillán) no tienen preferencias por dispersar por cactus o manzana (interacción tiempo-substrato $F_{4, 232} = 1.33$; $P > 0.05$). No se logró obtener una ecuación que de cuenta del patrón de dispersión de las larvas de este estadio.

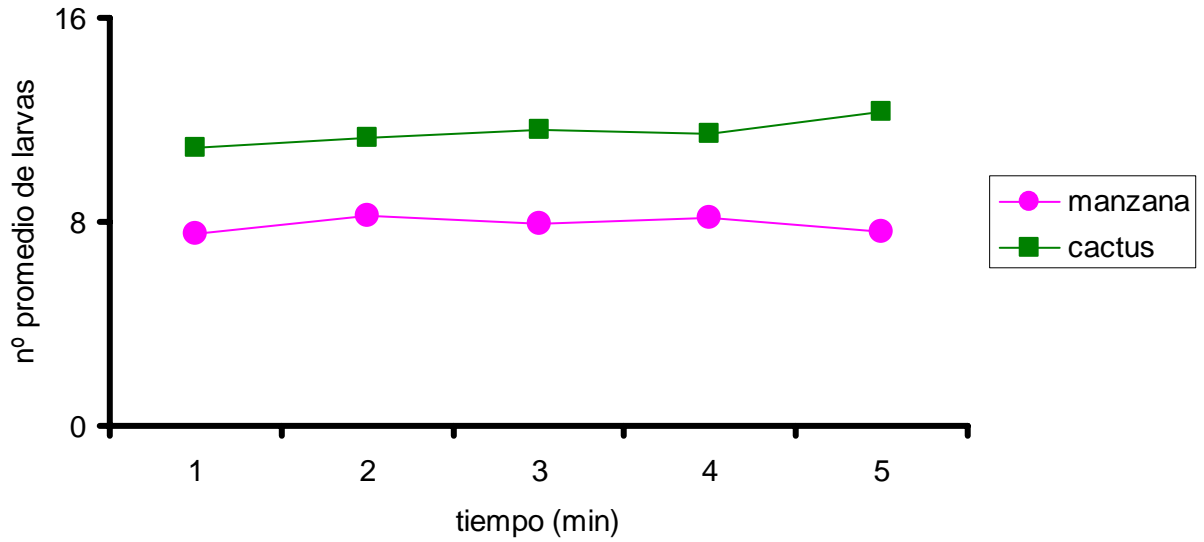


Figura 12: Dispersión de larvas de segundo estadio de la cepa Chillán (*D. pavan*).

Las larvas de tercer estadio de la cepa Chillán (Figura 13), prefieren dispersar por manzana ($F_{4, 72} = 6.90$; $P < 0.05$). Estas preferencias tienden a mantenerse en el tiempo ($F_{4, 72} = 1.53$; $P > 0.05$). El patrón de dispersión larval está descrito en un 65.55% por una ecuación lineal ($F_{1, 18} = 6.72$; $P < 0.05$), mientras que un 29.87% se ajusta a una ecuación de segundo grado ($F_{1, 18} = 0.64$; $P < 0.05$).

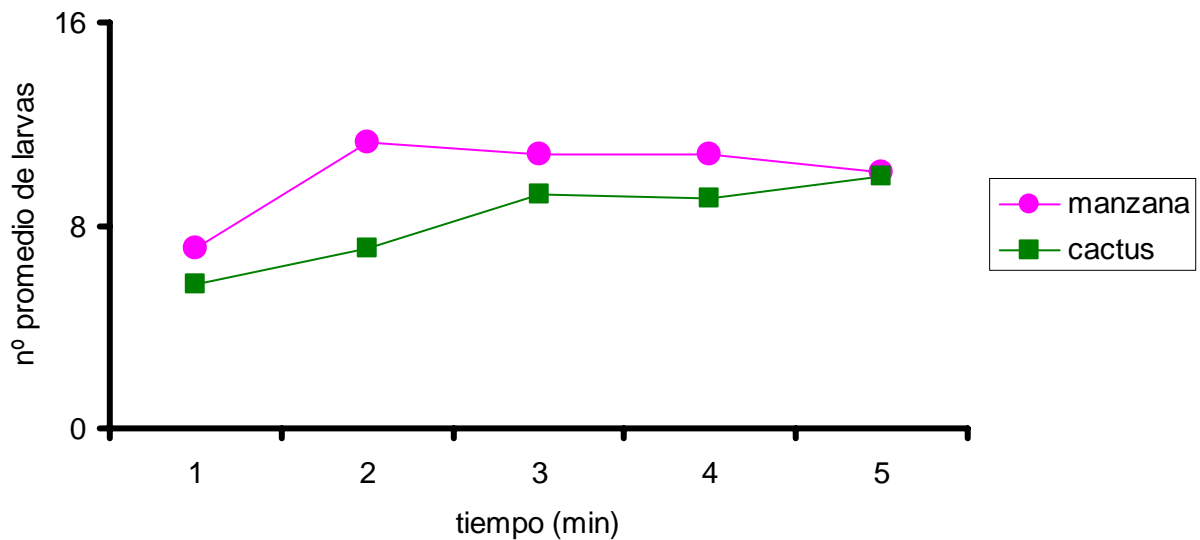


Figura 13: Dispersión de larvas de tercer estadio de la cepa Chillán (*D. pavanii*).

4.4. Excavación.

4.4.1. Fenotipos conductuales.

La observación por transparencia de los tubos Pasteur, llenados con agar y con una larva por tubo, permitió observar la conducta de excavación de las larvas. De acuerdo con las observaciones, se identificaron los siguientes fenotipos conductuales:

- Larvas no excavadoras: preadultos que no penetran en el substrato y se detectaron en la superficie de la papilla y en la pared de la pipeta.
- Larvas excavadoras: larvas que horadan el substrato y se encuentran entre el medio nutritivo y la pared de la pipeta. Otras larvas excavadoras horadan el substrato en su parte central.

La Figura 14, muestra el porcentaje de larvas excavadoras de las cepas Til-Til y Chillán de primer, segundo y tercer estadio. Se observa que, independiente del estadio, más de un 50% de las larvas Chillán excavan, mientras que menos de un 50% de las larvas Til-Til exhiben esta conducta. Estas diferencias son significativas para larvas de primer y segundo estadio de ambas cepas. ($G = 31.33$ y $G = 12.92$, respectivamente; $gl = 1$; $P < 0.05$).

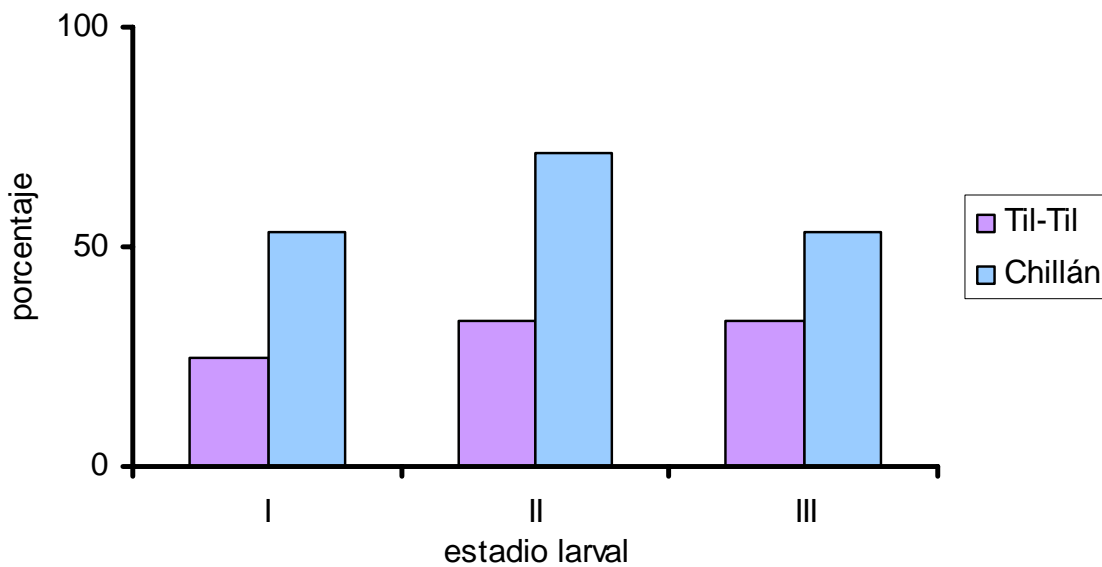


Figura 14: Porcentaje de larvas de primer, segundo y tercer estadio de la cepa Til-Til (*D. sp.*) y la cepa Chillán (*D. pavani*) que excavan en la papilla nutritiva.

La Figura 15, muestra que el porcentaje de larvas de las cepas Til-Til y Chillán de primer, segundo y tercer estadio que excavan entre el substrato y la pared de la pipeta Pasteur, es similar ($G = 0.34, 3.01$ y 1.30 para larvas de primer, segundo y tercer estadio, respectivamente; $gl = 1; P > 0.05$).

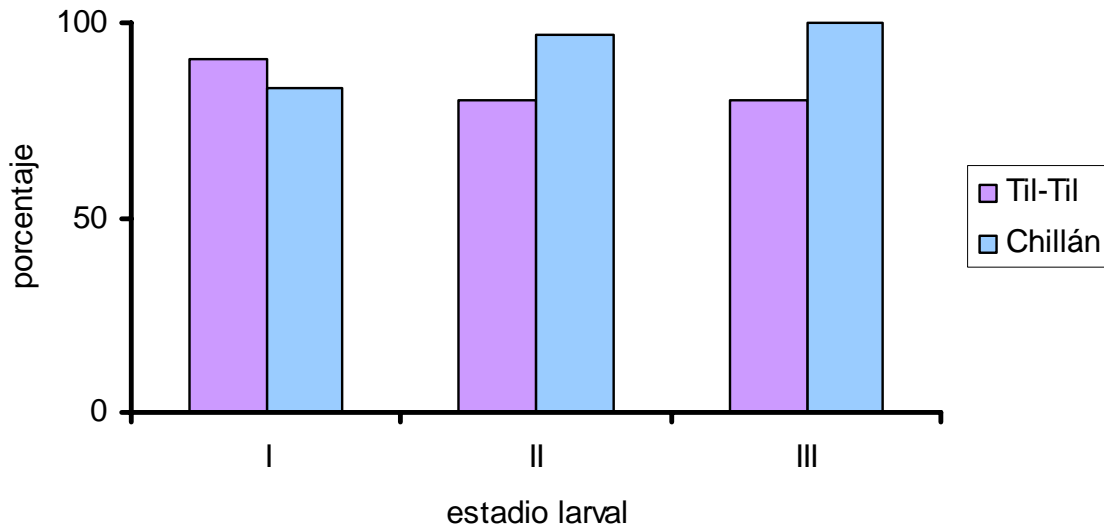


Figura 15: Porcentaje de larvas de primer, segundo y tercer estadio de la cepa Til-Til (*D. sp.*) y la cepa Chillán (*D. pavani*), que excavan entre el substrato y la pared de la pipeta.

La Figura 16, muestra el porcentaje de larvas Til-Til y Chillán, de primer, segundo y tercer estadio que permanecen en el substrato hasta el final del periodo de observación de 8 horas. Las diferencias entre las cepas son estadísticamente significativas para larvas de primer estadio. Es decir, larvas Chillán de primer estadio tienden a permanecer en el substrato, mientras que las larvas Til-Til de la misma edad, tienden a abandonarlo ($G = 41.35$; $gl = 1$; $P < 0.05$).

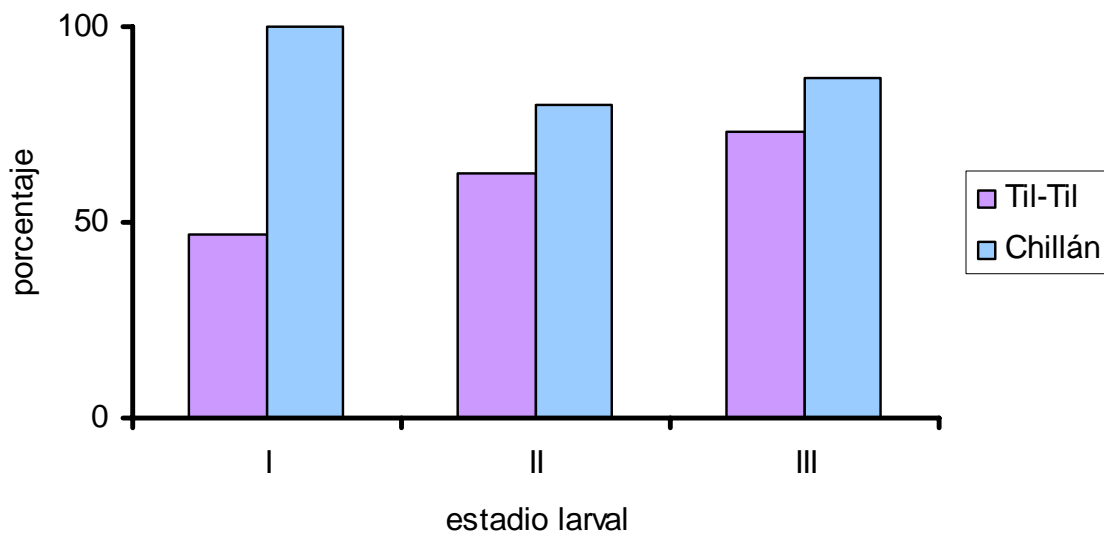


Figura 16: Porcentaje de larvas de primer, segundo y tercer estadio de la cepa Til-Til (*D. sp.*) y la cepa Chillán (*D. pavan*) que permanecen en la papilla nutritiva.

4.4.2. Profundidad de excavación.

La Figura 17 compara la profundidad de excavación (mm) de larvas de primer, segundo y tercer estadio de las cepas Til-Til (*D. sp.*) y Chillán (*D. pavani*). Las diferencias entre las cepas para larvas de igual estadio, no son significativas (prueba de Student (*i*) primer estadio: $t_{28} = 0.95$; $P > 0.05$, *ii*) segundo estadio: $t_{41} = 0.57$; $P > 0.05$, *iii*) tercer estadio: $t_{10} = 0.75$; $P > 0.05$).

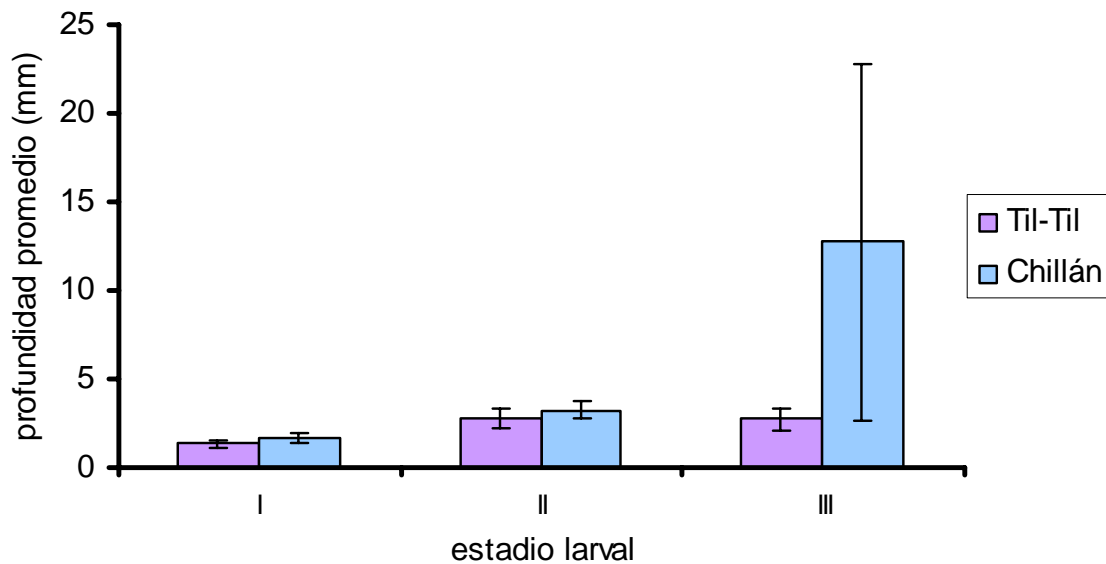


Figura 17: Profundidad promedio y error standard (en mm) a la que excavan larvas de primer, segundo y tercer estadio de la cepa Til-Til (*D. sp.*) y la cepa Chillán (*D. pavani*).

La Figura 18 muestra la frecuencia de larvas de primer, segundo y tercer estadio de las cepas Til-Til y Chillán, observadas a diferentes profundidades en agar adicionado con sémola y azúcar. En la Figura 18a se observa que larvas de ambas cepas, de primer estadio, excavan el agar hasta los 3 mm de profundidad. Las larvas Til-Til de segundo excavan hasta 9 mm y las Chillán hasta los 13 mm (Figura 18b). Las larvas Til-Til de tercer estadio excavan hasta 7 mm, mientras las de Chillán logran alcanzar los 83 mm de profundidad (Figura 18c).

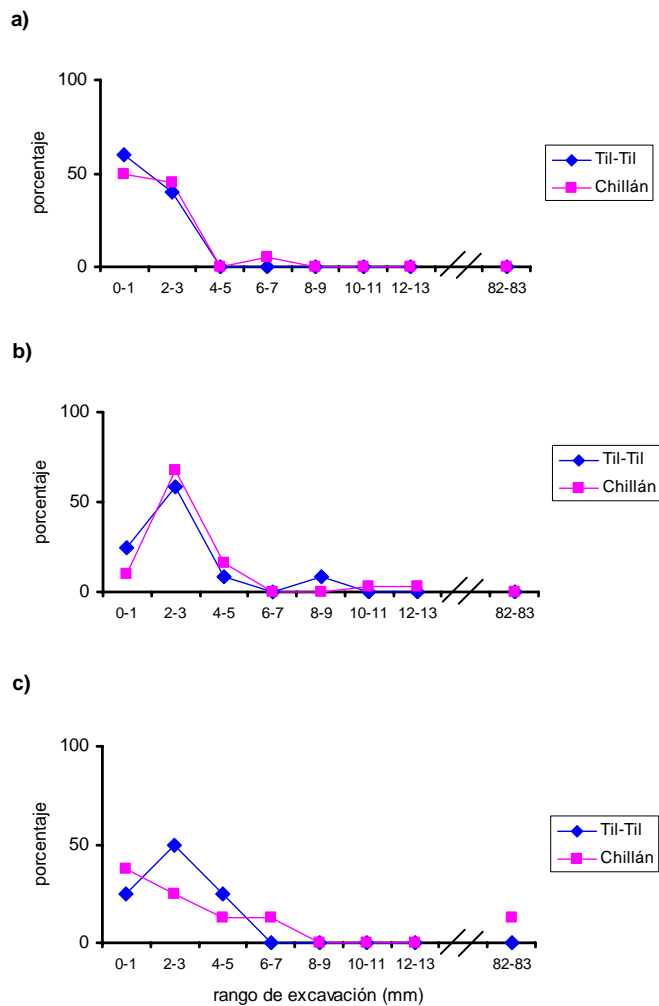


Figura 18: Rangos de profundidad de excavación (en mm) de larvas de: **a)** primer, **b)** segundo y **c)** tercer estadio de las cepas Til-Til (*D. sp.*) y Chillán (*D. pavani*).

4.5. Viabilidad.

La Tabla 1 muestra las viabilidades relativas de las cepas Til-Til y Chillán, criadas en medio nutritivo suplementado con pulpa de cactus o de manzana, así como la Control.

De las dos cepas, Til-Til fue la que presentó una mayor viabilidad relativa, independiente del sustrato (92.50% - 67.50%). La viabilidad mayor se obtuvo en medio de cultivo (Burdick, 1954) (92.50%), seguido por medio adicionado con cactus (70.50%). La viabilidad en medio de cultivo suplementado con manzana fue parecida a la obtenida en cactus (67.50%). Estas diferencias de viabilidad entre el medio control y los suplementados con manzana y cactus son significativas (Prueba G de independencia, i) control versus manzana, $\chi^2 = 7.92$; gl = 1; $P < 0.05$, ii) control versus cactus, $\chi^2 = 5.94$; gl = 1; $P < 0.05$). Consecuentemente, la viabilidad de las larvas Til-Til es relativa al tipo de sustrato en el cual se crían estos preadultos.

Por contraste con la cepa Til-Til, la viabilidad de las larvas Chillán disminuye en los tres tipos de medio (ver Tabla 1), es decir, la viabilidad no es afectada por el medio de crianza (Prueba G de independencia, i) control versus manzana, $\chi^2 = 0.66$; gl = 1; $P > 0.05$, ii) control versus cactus, $\chi^2 = 0.08$; gl = 1; $P > 0.05$)

Tabla 1: Viabilidades de las cepas Til-Til y Chillán, criadas en medio nutritivo (control) y suplementado con pulpa de cactus o de manzana. La viabilidad se estimó por el número de adultos emergidos.

Cepa	Medio de Cultivo (Controles)			Medio de Cultivo adicionado con Cactus			Medio de Cultivo adicionado con Manzana		
	Nº de huevos sembrados	Adultos emergidos		Nº de huevos sembrados	Adultos emergidos		Nº de huevos sembrados	Adultos emergidos	
		N	%		N	%		N	%
Til-Til	200	185	92.50	200	141	70.50	200	135	67.50
Chillán	200	115	57.50	200	119	59.50	240	103	42.92

5. DISCUSIÓN.

5.1. Dispersión y selección en cuatro substratos.

Las larvas de las cepas Til-Til (*D. sp.*) y Chillán (*D. pavani*), parecen dispersar bien por los cuatro substratos utilizados (manzana, zapallo, pera y plátano) independiente del estadio de desarrollo larval (Figuras 1 a la 7). Sin embargo, estos preadultos mostraron preferencias por alguno de estos substratos; por ejemplo, las larvas Til-Til y Chillán escogieron plátano y zapallo para dispersar. La magnitud de estas preferencias es relativa al estadio larval. Es así como las larvas Chillán de *D. pavani* de primer estadio prefieren plátano para dispersar, pero las de segundo y tercer estadio de esta misma cepa, tienen preferencias menos marcadas por este substrato. Algo similar ocurre con las larvas de primer, segundo y tercer estadio de la cepa Til-Til.

Estos hallazgos sugieren flexibilidad y plasticidad para la conducta de dispersión de las larvas de estas dos cepas. La importancia de estas características, se puede comprender mejor si se recuerda que las hembras de *Drosophila* depositan huevos en una diversidad de sitios de cría que difieren en textura y humedad, entre otros factores (Powell, 1997; Rohlf y Hoffmeister, 2005). Además, las larvas de varias especies de *Drosophila*, se crían en ambientes cuyas condiciones microecológicas cambian en un periodo de tiempo relativamente breve (Atkinson y Shorrocks, 1984). Así, los presentes resultados respecto a conducta dispersiva y preferencias por substratos para dispersar de las larvas de las cepas Til-Til y Chillán, sugieren que estas conductas se caracterizan por poseer una amplia norma de reacción. (Figuras 1 a la 7).

5.2. Dispersión y selección en dos sustratos.

Los resultados discutidos en la sección anterior también concuerdan con los datos relativos a dispersión en dos sustratos (Figuras 8 a la 13). Es así como las larvas Til-Til y Chillán dispersan por igual en manzana y cactus, y solo las larvas de primer estadio de la de la cepa Chillán exhiben una tendencia a dispersar por manzana. Este sustrato corresponde al sitio de crianza de donde emergieron los adultos que constituyeron esta cepa. Por otra parte, es interesante constatar que las larvas Til-Til de primer, segundo y tercer estadio dispersan igualmente por manzana y por tejido de *E. chilensis*. Estos hallazgos sugieren nuevamente flexibilidad y plasticidad en las preferencias de las larvas de estas dos cepas para dispersar por diferentes sustratos.

Por otra parte, la distribución en el tiempo de los grupos de larvas utilizadas en el presente estudio, parece ser principalmente radial; es decir, las larvas tienden a distribuirse en todas direcciones con respecto al centro de la placa Petri, lugar que corresponde al punto donde se depositaron las larvas cuando se iniciaron los registros. Esta distribución radial de las larvas se expresa en una ecuación lineal, la que describe en más de un 60% los patrones de distribución de las larvas de cada cepa y estadio en los sustratos utilizados.

5.3. Conducta excavatoria.

La excavación de sustratos por las larvas Til-Til y Chillán, representa un mecanismo para dispersar (Medina-Muñoz y Godoy-Herrera, 2005). Los resultados de

esta tesis indican que las larvas de las cepas estudiadas exhiben una diversidad de fenotipos excavadores. Por ejemplo, algunas larvas permanecen en la superficie del substrato de crianza, mientras otras lo horadan dispersando a través de él. Las cepas Til-Til y Chillán se pueden distinguir por el porcentaje de larvas que horadan el substrato; es así como en las larvas Chillán, más de un 50% dispersan en el substrato excavándolo, independiente del estadio de desarrollo larval. Estos hallazgos sugieren que las larvas de igual edad de estas dos cepas, exhiben diferentes estrategias para dispersar. Sin embargo, las larvas Til-Til y Chillán, muestran preferencias similares por los substratos utilizados en la presente tesis; consecuentemente, las cepas son diferentes en cuanto a excavación pero similares en cuanto a preferencia por los substratos utilizados para estudiar su dispersión (manzana, zapallo, pera y plátano). Esta diferencia en excavación podría ser crucial, si hembras de dos o más especies de *Drosophila* ovipositan en el mismo sitio de crianza. La conducta excavatoria podría ser un mecanismo de distribución en el espacio de las larvas de especies de *Drosophila* que se crían en un mismo lugar, permitiendo la coexistencia de especies que tienen necesidades nutricionales similares (Orr, 2005).

En relación con la excavación, es también importante señalar que la profundidad a la cual acceden en el substrato larvas de las cepas Til-Til y Chillán de primer, segundo y tercer estadio es similar, aunque algunas larvas Chillán profundizan más que las Til-Til. Sin embargo, cabe precisar que estos estudios se refieren a un solo individuo que se depositó en un tubo Pasteur. Podrían haberse obtenido otros resultados si en esos tubos se hubiesen depositado grupos de larvas de cada cepa.

5.4. Viabilidad.

Para comprender los efectos de la dispersión en diferentes sustratos y su relación con la viabilidad huevo-adulto, se registró el número de adultos que emergían del medio de cultivo (controles), de medio adicionado con pulpa de cactus y de medio adicionado con pulpa de manzana. Es interesante observar que las larvas Til-Til que viven en cactus, disminuyeron su viabilidad en menor proporción que la de las larvas Chillán; es decir, el número de individuos Til-Til emergido de los tres sustratos, es mayor que el número de individuos de la cepa Chillán emergidos de esos mismos medios de crianza. Estas diferencias de viabilidad entre las cepas, sugieren que las condiciones de crianza y los tipos de sustratos empleados para estudiar la dispersión de las larvas son relativos a la cepa de donde provienen las larvas

Es interesante constatar que las larvas Til-Til de primer, segundo y tercer estadio del desarrollo no exhiben preferencias estadísticamente significativas por sustratos, pero las larvas de primer y segundo estadio de la cepa Chillán prefieren para dispersar plátano y zapallo, pero evitan manzana. Así, parece existir una correlación entre preferencias por dispersar en un determinado sustrato y su relación con la viabilidad, un componente importante de la adecuación biológica (Powell, 1997).

5.5. Conclusiones

- Tanto larvas de la cepa Til-Til, como de la cepa Chillán, exhiben plasticidad en la preferencia de sustratos para dispersar, sugiriendo una amplia norma

de reacción para esta conducta. Además, la dispersión radial de las larvas en torno al centro de las placas de observación, indica que ellas exploran la totalidad del ambiente al que son expuestas, aún cuando los parches alimenticios que se les ofreció fueran de naturaleza tan diferente.

- Aún cuando se observan similares preferencias por los substratos ofrecidos para dispersar, la diversidad de fenotipos de excavación observados sugieren diferentes estrategias de dispersión de las cepas Til-Til y Chillán. Esto permitiría que las larvas de cada cepa estudiada se distribuyan en el substrato y exploten eficazmente los recursos de espacio y alimento, evitando la competencia intra e inter específica en los sitios de crianza.

- La viabilidad relativa de la cepa Til-Til es afectada por el substrato de crianza, por contraste, en la cepa Chillán se observa que los tres substratos afectan de forma similar el desarrollo de los preadultos. En los estudios de preferencia de substrato, las larvas de la cepa Chillán evitaron manzana, siendo este substrato el que registra la viabilidad más baja para la cepa.

5.6. Proyecciones del trabajo.

Los resultados del presente estudio sugieren que en el futuro se deberían incorporar investigaciones de campo, particularmente observaciones sobre la conducta de las larvas en sus sitios naturales de crianza, con el fin de entender mejor el papel de

los patrones de dispersión de estos preadultos en relación con el crecimiento y dinámica de sus poblaciones. Estos estudios permitirían integrar la conducta de las larvas con la genética de poblaciones y la ecología de sus sitios de crianza y así, comprender mejor la historia evolutiva de las especies del género.

6. LITERATURA CITADA.

Atkinson, W. D. y Shorrocks, B. (1984) Aggregation of larval *Diptera* over discrete and ephemeral breeding sites: the implications for coexistence. *Am. Nat.*, 124, 336-351.

Brncic, D. (1957) Las especies Chilenas de Drosophilidae. Monografías Biológicas, Universidad de Chile. Imprenta Stanley, Santiago. 136 páginas.

Burdick, A. B. (1954) New medium of reproductivity quality stable at room temperature. *Dros. Inf. Serv.*, 28, 170.

Dieckmann, U., O'Hara, B. y Welsser, W. (1999) The evolutionary ecology of dispersal. *TREE*, 14, 88-90

Diekötter, T., Csencsics, D., Rothenbühler, C., Billeter, R. y Edwards, P. J. (2005) Movement and dispersal patterns in the bush cricket *Pholidoptera griseoptera*: the role of developmental stage and sex. *Ecol. Ent.*, 30, 419-427.

Fleury, F., Ris, N., Allemand, R., Fouillet, P., Carton, Y., y Boulétreau, M. (2004) Ecological and genetic interactions in *Drosophila*-parasitoids communities: a case study with *D. melanogaster*, *D. simulans* and their common *Leptopilina* parasitoids in south-eastern France. *Genetica*, 120, 181-194.

Flores, S. (2004) Biología Evolutiva de especies Chilenas de *Drosophila* con descripción de una nueva especie del género. Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, 89 pp.

Flores, S. V., Iturra, P. y Godoy-Herrera, R. (2001) Genetic differentiation between three populations of *Drosophila pavani* that live in different breeding sites in nature. *Dros. Inf. Serv.*, 84, 67-70.

Flores, S., Flores, L. y Godoy-Herrera, R. (2003) Molecular phylogeny of the mesophragmatica species group inferred from cytochrome Oxidase II sequence. *Dros. Inf. Serv.*, 85, 76-78.

Godoy-Herrera, R. (1986) The development and genetics of digging behaviour in *Drosophila* larvae. *Heredity*, 56, 33-43.

Godoy-Herrera, R., Burnet, B. y Connolly, K. (2004) Conservation and divergence of the genetic structure of larval foraging behaviour in two species of the *Drosophila simulans* clade. *Heredity*, 92, 14-19.

Godoy-Herrera, R., Burnet, B. y Connolly, K. (2005) Hybrid disadvantage in the larval foraging behaviour of the two neotropical species of *Drosophila pavani* and *Drosophila gaucha*. *Genetica*, 124, 33-40.

Green, C. H., Burnet, B. y Connolly, K. (1983) Organization and patterns of inter- and intraspecific variation in the behaviour of *Drosophila melanogaster* larvae. *Anim. Behav.*, 31, 289-291.

Jones, T. M. y Widemo, F. (2005) Survival and reproduction when food is scarce: implications for a lekking Hawaiian *Drosophila*. *Ecol. Ent.*, 30, 397-405.

Medina-Muñoz, M. y Godoy-Herrera, R., (2005) Dispersal and prepupation behavior of Chilean sympatric *Drosophila* species that breed in the same site in nature. *Behav. Ecol.*, 16, 316-322.

Nunney, L. (1990) *Drosophila* on oranges: colonization competition, and coexistence. *Ecology*, 71, 1904-1915.

Orr, H. A. (2005). Theories of adaptation: what they do and don't say. *Genetica* 123, 3-13.

Powell, J. R., (1997) Progress and Prospects in Evolutionary Biology. The *Drosophila* Model, Oxford University Press, Oxford. 562 pp.

Riedl, C. A. L., Neal, S. J., Robichon, A., Westwood, J. T. y Sokolowski M. B. (2005) *Drosophila* soluble guanylyl cyclase mutants exhibit increased foraging locomotion: behavioral and genomic investigations. *Behav. Genet.*, 231-244.

Rohlf, M. y Hoffmeister, T. S. (2005) Maternal effects increase survival probability in *Drosophila subobscura* larvae. *Ent. Exp. Appli.*, 117, 51-58.

Shorrocks, B. y Bingley, M. (1994) Priority effects and species coexistence: experiments with fungal-breeding *Drosophila*. *J. Anim. Ecol.*, 63, 799-806.

Singh, B. N. y Pandey, M. B. (1993) Selection for high and low pupation height in *Drosophila ananassae*. *Behav. Genet.*, 23, 239-243.

Sokal, R. R. y Rohlf, F. J., (1995) Biometry. 3ª Ed. W. H. Freeman and Company, New York. 887 pp.

Sokolowski, M.B., Pereira, H.S. And Hughes, K. (1997) Evolution of foraging behavior in *Drosophila* by density-dependent selection. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 94, 7373–7377.

SPSS para Windows. Versión 10.0.6. Copyright © SPSS Inc., 1989-1999

SYSTAT for Windows. Versión No 11.00.01. Copyright © SYSTAT Software, Inc. 2004.

Tuck, J. M. y Hassall, M. (2004) Foraging behaviour of *Armadillidium vulgare* (Isopoda: oniscidea) in heterogeneous environments. *Behaviour*. 141, 233-244.