

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Departamento de Genética



TESIS DOCTORAL

Respuestas larvarias adaptativas de *Drosophila* Hidey en condiciones de saturación de medio alimenticio : aspectos fisiológicos, genéticos y ecológicos

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Juan Manuel Pérez Tomé

Madrid, 2015

TP
1984
164

Juan Manuel Pérez Tomé



x-53-010577-1

RESPUESTAS LARVIARIAS ADAPTATIVAS DE DROSOPHILA HYDEI EN CONDICIONES DE SATURACION
DE MEDIO ALIMENTICIO: ASPECTOS FISIOLÓGICOS, GENÉTICOS Y ECOLÓGICOS

Departamento de Genética
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Complutense de Madrid
1984



BIBLIOTECA

Colección Tesis Doctorales. Nº 164/84

© Juan Manuel Pérez Lomá

Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1984

Xerox 9200 XB 480

Depósito Legal: B-20765-1984

RESPUESTAS LARVIARIAS ADAPTATIVAS DE DROSOPHILA HYDEI
EN CONDICIONES DE SATURACION DEL MEDIO ALIMENTICIO :
ASPECTOS FISIOLÓGICOS, GENÉTICOS Y ECOLÓGICOS

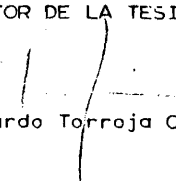
JUAN MANUEL PEREZ TOME

Trabajo presentado para optar al
Grado de Doctor en Ciencias Bio-
lógicas por la Universidad Com-
plutense de Madrid por Juan Ma-
nuel Perez Tomé.

Madrid, 1980

Vº Bº

EL DIRECTOR DE LA TESIS


Fdo. Eduardo Torroja Cavanillas

INDICE

Página

<u>INTRODUCCION</u>	1
<u>MATERIAL Y METODOS</u>	6
MATERIAL	6
METODOS	8
Obtención de larvas recién emergidas	8
Desarrollo larvario en diferentes condi- ciones de competición	9
Extracción y medida de la población lar- varia.....	10
<u>RESULTADOS</u>	14
I.- Desarrollo larvario en poblaciones na - turales y experimentales	14
II.- Efecto de la densidad sobre el desarro- llo larvario	24
III.- Crecimiento larvario en ausencia de - competición	34
IV.- Crecimiento larvario en competición	39
V.- Agentes que modifican el desarrollo larvario	57
VI.- Pupación y emergencia de adultos en competición	69

	Página
VII.- Competición en cultivos larvarios mixtos entre las poblaciones Dh 73 y BI	80
VIII.- Base genética del desarrollo larvario bi modal	90
<u>DISCUSION</u>	111
<u>RESUMEN Y CONCLUSIONES</u>	140
<u>AGRADECIMIENTOS</u>	143
<u>BIBLIOGRAFIA</u>	144

INTRODUCCION

La competición según Birch (1957), se produce cuando un de terminado número de animales (de la misma o de diferente especie) u tilizan recursos comunes, cuya cantidad es limitada; o si estos recursos no son limitados, la competición tiene lugar cuando los animales se perjudican mutuamente en el proceso de su utilización. Así la competición puede establecerse entre individuos de diferentes es pecies (competición interespecífica), o entre organismos pertenecientes a una misma especie (competición intraespecífica).

En la naturaleza ambos tipos de competición se producen si simultaneamente, originando complejas interacciones intra e interespecíficas, difíciles de abordar experimentalmente, por lo que general mente el estudio de las mismas se realiza en situaciones simplifica das, analizando diversos componentes de una u otra.

Son numerosos los trabajos dedicados al estudio de la competición interespecífica, con diferentes enfoques experimentales, co mo los de Park (1948 y 1954) con Tribolium confusum y T. castaneum, Ayala (1970) con Drosophila nebulosa, D. serrata y D. pseudoobscura o Goodman (1979) analizando las relaciones de la habilidad competitiva entre 16 especies de Drosophila.

De la propia definición de competición se deduce que esta será tanto más intensa cuanto más semejantes entre sí sean los orga nismos que compiten, ya que la coincidencia de los recursos preci sos para su normal desarrollo será mayor. Debe pues esperarse que - la competición sea máxima entre individuos de la misma especie y - que entre especies sea de menor intensidad (Parsons, 1973). Diferen

tes aspectos de la competición interespecífica han sido también objeto de numerosos estudios por parte de diversos investigadores, - Dobzhansky (1948, 1950, 1951) y Dobzhansky et al. (1961, 1964) analizan la habilidad competitiva en poblaciones de Drosophila pseudo-obscura portadoras de diversos polimorfismos cromosómicos de inversión. Ayala (1966) estudia la influencia de factores genéticos y ambientales en el tamaño de población, biomasa y peso de adultos - en la especie D. serrata.

En general todos estos trabajos analizan el efecto de la competición sobre la estructura de la población mediante la estimación de parámetros obtenidos de la población adulta. Ahora bien, en Drosophila, al igual que en todos los insectos holometábolos, el ciclo vital comprende dos fases claramente diferenciadas: la larvaria, altamente especializada para la alimentación, y la de adulto, especializada en la reproducción (Judi, 1974), siendo además la movilidad durante el desarrollo larvario muy inferior a la del adulto. - Por todo ello la competición se manifiesta con mucha mayor intensidad durante el desarrollo larvario. Pero las dificultades técnicas que conlleva su estudio ha determinado una menor información sobre las modificaciones provocadas por la competición en el desarrollo, y sobre las adaptaciones surgidas en las poblaciones larvarias como respuesta a la misma.

A partir de los trabajos de Sang (1956) y Bakker (1961) - que analizan la influencia de diversos componentes de la dieta y - de las condiciones de los cultivos sobre el desarrollo de Drosophila melanogaster, se sucedieron una extensa serie de publicaciones de Robertson (1960a, 1960b, 1960c, 1961, 1963, 1964 y 1966) y Church

y Robertson (1966) que tratan de las relaciones entre genotipo, componentes de la dieta y diversos caracteres relacionados con el valor adaptativo, como tiempo de desarrollo, tamaño corporal y habilidad competitiva. Se ha prestado asimismo atención, por parte de diferentes autores a la influencia que sobre el desarrollo larvario tienen los metabolitos excretados al medio por las propias larvas en cultivos densificados (Weisbrot, 1966; Dawood y Strickberger, 1966; Brncic y Budnik, 1976 y Budnik y Brncic, 1976) así como a variaciones en el comportamiento relacionado con la alimentación (Sewell et al., 1975 y Burnet et al., 1976). También se han analizado las relaciones entre el crecimiento y la presencia de levaduras, utilizando mutaciones que afectan a la síntesis de esteroides (Bos et al., 1976, 1977 y Bos, 1979).

Estos trabajos aportan datos sobre la influencia de diversos factores fisiológicos, ecológicos y genéticos en el desarrollo larvario, considerado a nivel individual, sin abordar las modificaciones producidas por la competición en la estructura de las poblaciones larvarias. Se creyó pues de interés iniciar su estudio, eligiendo para ello una especie, Drosophila hydei, que en trabajos previos había manifestado una alta capacidad competitiva, tanto intra como interespecífica.

D. hydei es una especie colonizadora, que en la población natural analizada coexiste con D. melanogaster, D. simulans y D. buzzatii, alcanzando durante el Otoño tamaños de población muy elevados.

Las poblaciones naturales o experimentales en el equilibrio determinado por la densidad de saturación, frecuentemente sobrepasan

las capacidades de soporte del medio alimenticio, provocando una drástica reducción del mismo con el consiguiente deterioro de la población (Shorrocks, 1970; Nogués, 1977). En especies como D. hydei que producen altas densidades poblacionales, cabe esperar la existencia de mecanismos adaptativos que permitiendo obtener un aprovechamiento óptimo del alimento a su vez eviten las consecuencias de la sobresaturación.

Para llevar a cabo el estudio del desarrollo de poblaciones larvarias se ha puesto a punto una técnica sencilla, que permite la extracción, fijación y medida de los individuos que las componen estimándose por medio de sus tamaños las modificaciones experimentadas en el desarrollo como respuesta a la competición.

Los primeros análisis llevados a cabo en D. hydei mostraron la existencia, no esperada, de distribuciones bimodales de tamaños que producían una gran varianza para dicho carácter. Este tipo de respuesta ante situaciones de alta densidad se manifestó en diversas poblaciones naturales, suficientemente alejadas entre sí, como para considerarlas independientes. La generalidad con que apareció dicho modelo de comportamiento sugirió la existencia de ventajas adaptativas del mismo (Bakker, 1961; Belvetzen, 1963). El análisis de diversas poblaciones experimentales, mantenidas durante varios años en el laboratorio reveló la existencia en una de ellas de un modelo de respuesta diferente, presentando distribuciones de tamaños larvarios unimodales. La existencia de esta población permitió disponer de un término de comparación para el estudio de las posibles ventajas adaptativas de las poblaciones con respuesta bimodal.

Mediante el empleo de técnicas adecuadas, se han tratado

de determinar las modificaciones producidas por la competición en poblaciones larvarias con ambos tipos de comportamiento, así como la base genética que los determina, analizando los posibles mecanismos fisiológicos que intervienen en su regulación y las ventajas ecológicas que pueden representar.

MATERIAL

El presente trabajo se ha efectuado con poblaciones de Drosophila hydei (Dip. Drosophilidae), procedentes de una población natural localizada en las proximidades de Carboneras (Almería), en terrenos semidesérticos cercanos al mar, donde coexisten con otras especies, principalmente D. melanogaster, D. simulans y D. buzzatii. Estas especies utilizan los frutos de Opuntia, que se encuentran caídos en el suelo en proceso de putrefacción, como sustrato alimenticio de larvas y adultos, pudiendo ser recolectados directamente de los mismos con la ayuda de un aspirador.

A partir de una captura realizada en Octubre de 1973, se aislaron en viales independientes unas 500 hembras fecundadas en la naturaleza, con cuya descendencia se crearon dos cajas de poblaciones denominadas Dh 73 y Dh 73a. En Octubre de 1974 se efectuó otra captura y por un proceso similar se creó una nueva caja de poblaciones, Dh 74.

Cada año y a partir de 1976 se realizaron capturas durante el otoño en la misma localidad de Carboneras, aislándose cada vez 100 hembras fecundadas, manteniendo su descendencia en líneas independientes durante un año. Con este procedimiento se preserva en lo posible la variabilidad genética presente en la muestra capturada y se minimizan los efectos de la selección en el ambiente experimental.

De la descendencia de una de las hembras de la recolección de 1976 se aisló un mutante recesivo denominado "guinda" por la coloración que toman los ojos del homocigótico. Su viabilidad y tiempo de desarrollo son semejantes a los de los individuos normales. Este mutante se utilizó para marcar fenotípicamente la población Dh 76. Para ello se cruzaron mutantes "guinda" con individuos normales procedentes de la misma captura,

recuperándose en la 2ª generación los homocigóticos "guinda". Este procedimiento se repitió una segunda vez para incorporar la máxima variabilidad genética de la población Dh 76 y se creó la población marcada "Guinda".

En 1977 se crearon 20 líneas a partir de individuos procedentes de la caja de población Dh 73, y otras 20 a partir de la recolección efectuada ese mismo año en Carboneras. Estas líneas se han mantenido por cruzamientos entre hermanos completos, para obtener altos coeficientes de en dogamia.

También se han analizado poblaciones de D. hydei procedentes de los siguientes orígenes,

Azores.-

Captura de 138 hembras en la localidad de Pico da Pedra, Isla de San Miguel de las Azores, por el Dr. Martínez Cabrera.

Vendrell.-

Procedente de una captura efectuada en una bodega de la localidad, facilitada por el Dr. Prevosti Pelegrín.

Vallecas.-

Captura de más de 200 hembras realizada en Junio de 1979, en una población natural a 5 Kms. del pueblo de Vallecas por el Dr. Torroja.

Las poblaciones se mantienen en cajas de material plástico de 30 x 18 x 10 cms., provistas de 15 orificios en su base donde se acoplan los tubos conteniendo el alimento. Cada dos días un nuevo tubo con alimento es colocado en la caja, retirándose el más antiguo, por tanto los tubos permanecen un mes. Tres veces al año se pasa la población a una caja limpia para evitar la acumulación de residuos en la misma. Los tubos con

tienen 50 c.c. de medio de cultivo.

Para el mantenimiento de las poblaciones en líneas se usan viales conteniendo 15 c.c. de medio de cultivo. En cada generación todos los individuos procedentes de cada línea son transferidos a un nuevo vial conteniendo alimento fresco.

MÉTODOS

Obtención de larvas recién emergidas

Para homogeneizar las condiciones de obtención de larvas y asegurar un gran número de ellas, necesarias para los distintos experimentos sin agotar excesivamente las poblaciones, se formaron a partir de las cajas Dh 73 y "Guinda" poblaciones paralelas en series de cuatro botellas con 35 c.c. de medio de cultivo. Las poblaciones mantenidas en cada serie son transferidas tres veces por semana a nuevas botellas, efectuándose renovaciones periódicas mediante la incorporación de individuos procedentes de las cajas originales.

De manera similar y a partir de individuos extraídos de todas las líneas formadas de la recolección de 1976, se creó una población paralela en series de cuatro botellas que se mantienen con renovaciones periódicas durante un año. Cada otoño la población es reemplazada por individuos procedentes de una nueva captura efectuada en Carboneras. A esta población, mantenida en el laboratorio de tal manera que conserve al máximo la variación genética contenida en la población natural, la denominamos BI.

En las poblaciones paralelas el desarrollo se realiza en botellas, con alimento abundante y a densidades larvarias medias, con lo que

se obtienen gran número de adultos con una alta fertilidad. Cada dos días se extraen todos los adultos emergidos de las botellas aislándolos por se xo.

Para la obtención de gran número de huevos en un momento dado, se colocan grupos de unos 25 machos y hembras, previamente aislados y sexualmente maduros, en tubos abiertos por ambos extremos. En un extremo se acopla una plaquita de plástico, con 1,5 c.c. de medio de cultivo ennegrecido con carbón vegetal en polvo, para posteriormente facilitar la extra cción y recuento de las larvas. El otro extremo se cierra con un tapón de algodón. Al día siguiente, las plaquitas son retiradas y sustituidas por otras con alimento nuevo. Pasadas 24 horas de incubación la mayoría de los huevos eclosionan y las larvas recién emergidas son extraídas con la ayuda de una aguja enmangada y se depositan, en números determinados, en viales para el posterior estudio de su desarrollo.

Desarrollo larvario en diferentes condiciones de competición

Para el estudio del desarrollo en ausencia de competición y en condiciones óptimas, se colocan larvas recién emergidas en plaquitas iguales a las utilizadas para la oviposición pero conteniendo medio de cultivo enriquecido con levadura viva. Cada doce horas las larvas se transfieren a nuevas plaquitas para evitar que la desecación o un excesivo crecimiento de la levadura puedan alterar el desarrollo larvario.

El estudio del desarrollo en competición, producida por altas densidades larvarias, se ha llevado a cabo en dos tipos de viales: uno de 17 mm. de diámetro por 61 mm. de altura, conteniendo 2 c.c. de medio de cultivo, el otro de 10 y 45 mm. respectivamente con 0,4; 0,3 ó 0,2 c.c. de alimento, según los casos. El medio de cultivo se sirve con la ayuda

de una pipeta automática regulable. Cuando se utilizan los viales pequeños, y para evitar la desecación de la pequeña cantidad de medio de cultivo, se mantienen en una atmosfera saturada de humedad.

Extracción y medición de la población larvaria

Las larvas que se desarrollan a determinadas densidades en el medio de cultivo, pueden ser extraídas de él para su medida y recuento en cualquier momento de su desarrollo. Mediante chorros de agua a presión impulsados por una pipeta se disuelve el medio de cultivo liberando las larvas. Después de varios lavados éstas son fijadas en Carnoy (etanol - ácido acético, 3:1), quedando las larvas en un estado de distensión semejante al que presentan en vivo y rectas, lo que facilita su medida.

Los tamaños y pesos larvarios se han estimado a partir de la longitud, para cuya medición se ha acoplado al ocular del estereomicroscopio una escala graduada en 20 unidades. Con los diez aumentos usados, cada unidad de la escala corresponde a una longitud de 0,4 mm. En la Tabla 1ª se encuentran las equivalencias entre clases (unidades de la escala) y longitudes en milímetros.

Las viabilidades se calculan en cada caso como el porcentaje de larvas supervivientes tras el periodo de desarrollo en estudio.

Para estimar el peso de las larvas correspondientes a cada clase (unidades de la escala) y así poder determinar su biomasa se tomaron grupos de larvas de un tamaño semejante, cubriendo todo el rango de tamaños desde los recién emergidos hasta los más grandes preparados para pupar. Cada grupo se pesó en vivo en una balanza de precisión, a continuación se fijaron las larvas y se midieron. Por tanto de cada grupo se obtiene una longitud media así como un peso medio por larva. En la figura

Unidades (Clases)	Escala	Longitud (mm.)	Peso (mgr.)
20		7,8	4,96
19		7,4	4,26
18		7,0	3,62
17		6,6	3,06
16		6,2	2,55
15		5,8	2,10
14		5,4	1,71
13		5,0	1,37
12		4,6	1,08
11		4,2	0,84
10		3,8	0,63
9		3,4	0,46
8		3,0	0,32
7		2,6	0,22
6		2,2	0,14
5		1,8	0,08
4		1,4	0,04
3		1,0	0,02
2		0,6	0,01
1		0,2	-

Tabla 1.- Equivalencia entre unidades de la escala (Clases), longitudes y pesos larvarios.

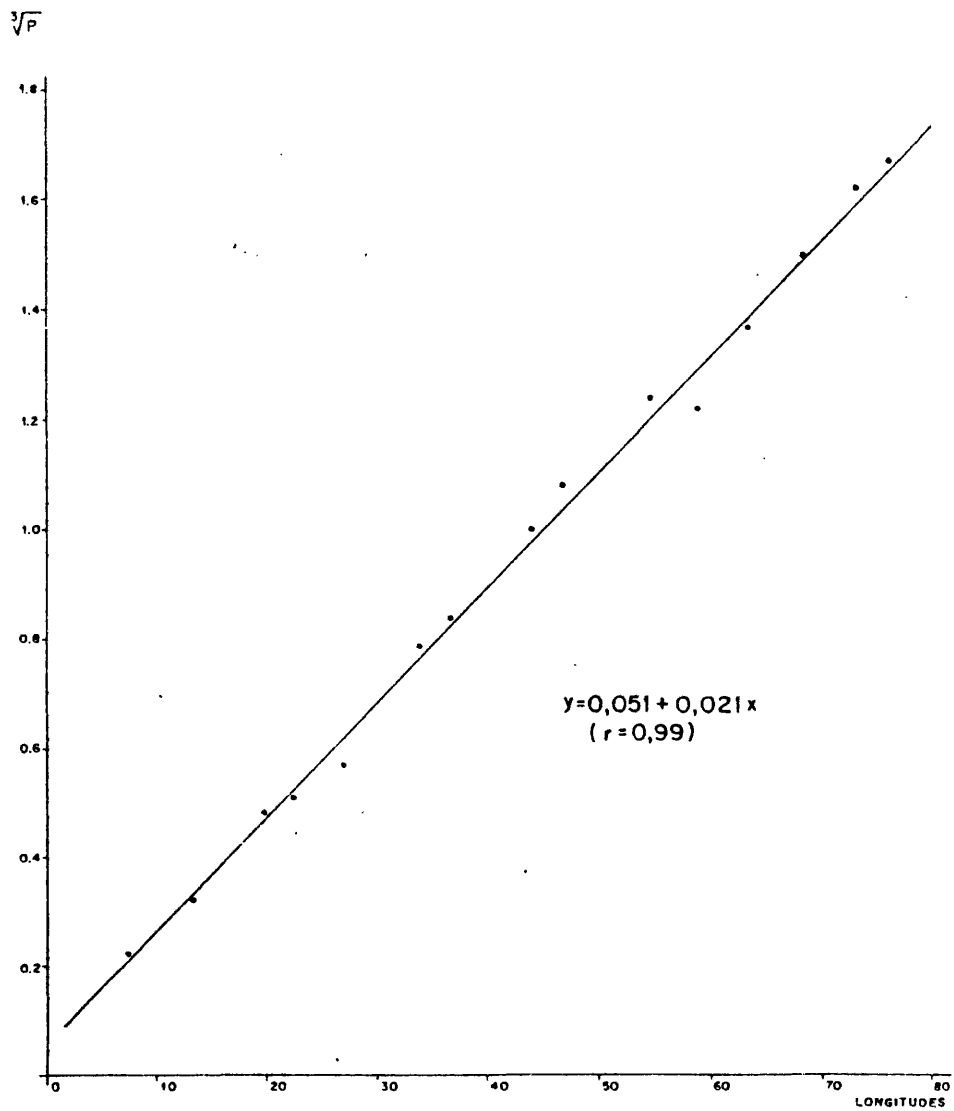


FIG. 1 RECTA DE REGRESION DE LA RAIZ CUBICA DE LOS PESOS SOBRE LAS LONGITUDES LARVIARIAS

1ª están representadas, en ordenadas las longitudes larvarias y en abscisas las raíces cúbicas de los pesos, observándose una clara relación lineal. La recta de regresión de la raíz cúbica de los pesos sobre las longitudes es:

$$y = 0,051 + 0,021X \quad (r = 0,99)$$

Mediante esta ecuación se estimaron los pesos medios de las larvas de cada clase. Las longitudes en milímetros y los pesos medios en miligramos correspondientes a cada clase se encuentran en la Tabla 1ª.

El medio de cultivo donde se produce el desarrollo larvario, y el utilizado para mantener las poblaciones tiene la siguiente composición

Levadura de panificación	100 grs.
Azúcar (Sacarosa)	100 grs.
Cloruro sódico	4 grs.
Agar - agar	11 grs.
Agua	1.000 c.c.

Los componentes se diluyen en el agua y se hierve la mezcla durante 30 minutos para asegurar que no quede levadura viva. Después de enfriar el medio hasta 60°C se añaden 5 c.c. de ácido propiónico por litro, para inhibir el crecimiento de mohos, y a continuación se sirve en botellas y viales.

Tanto las poblaciones como los cultivos larvarios se mantienen en una cámara con iluminación artificial permanente, a una temperatura de 24±1°C.

RESULTADOS

I.- Desarrollo larvario en poblaciones naturales y experimentales

En estudios anteriores encaminados a explicar como se alcanzan los niveles de equilibrio intra e interespecífico en cajas de población con diferentes especies de Drosophila, se observó que cuando los cultivos se densifican por un gran número de huevos puestos, la viabilidad huevo adulto se reduce, siendo acompañada por un incremento en el tiempo de desarrollo. La producción media por tubo en el equilibrio es un valor con amplias oscilaciones dependiendo de causas externas y de la dinámica interna de crecimiento y saturación de la población (Lewontin, 1955; Ohnishi, 1976; Nogués, 1977).

No se conocen, si embargo, estudios sobre las condiciones internas en el tubo donde se produce la competición larvaria, cuando aparece la mortalidad y como se desarrolla en conjunto la población larvaria ó densidades de saturación. El modelo experimental diseñado para analizar estos aspectos, consiste en sembrar 200 larvas recién emergidas en viales con 2 c.c. de medio de cultivo (densidad considerada media y semejante a la que se produce en las cajas de población), donde se desarrollan durante siete días, periodo tras el que, aparecen las primeras pupas. En este día se extraen las larvas, se fijan y se mide su longitud. Con ello se pretende determinar la mortalidad larvaria y el estado de desarrollo de la población.

El resultado de la primera población natural de Drosophila hydei estudiada mostró una distribución de los tamaños de la población larvaria claramente bimodal a los siete días de desarrollo.

Las larvas del cultivo aparecían escindidas en dos grupos, uno

de larvas grandes próximas a la pupación, y otro de larvas pequeñas, no encontrándose apenas larvas de tamaños intermedios. El significado biológico de esta distribución bimodal originada en cultivos altamente densificados de D. hydei parece tener ventajas ecológicas, por lo que se procedió a analizar detenidamente este comportamiento larvario.

Para mostrar la generalidad de este comportamiento se analizaron por el procedimiento anteriormente descrito, cuatro poblaciones naturales de D. hydei: Carboneras BI, Azores, Vendrell y Vallecas, así como tres poblaciones experimentales mantenidas en el laboratorio durante más de dos años en cajas de poblaciones: Dh 73, Dh 73a y Dh 74. De cada una se analizaron tres réplicas de 200 larvas.

En la Tabla 2 se encuentran para las siete poblaciones estudiadas las distribuciones medias de los tamaños larvarios obtenidos de las tres réplicas, y en las Figuras 2 a la 8 los polígonos de frecuencias correspondientes. Para la población natural BI y la experimental Dh 73 se realizaron en años sucesivos análisis de la misma naturaleza con tres réplicas. Por tanto para estas poblaciones aparecen tres distribuciones, analizadas en momentos diferentes, espaciadas más o menos un año.

Dos tipos de polígonos de frecuencias aparecen en las Figuras 2 a la 8. En la población experimental Dh 73 (Fig. 2) las formas de los polígonos son aproximadamente normales, unimodales, con un ligero sesgo hacia la frecuencia de larvas pequeñas. El resto de las poblaciones presentan polígonos de frecuencias de longitudes larvarias claramente bimodales con dos máximos, uno alrededor de las clases 8 ó 9 (larvas pequeñas) y otro sobre las clases 15 ó 16 (larvas grandes), y un mínimo que se sitúa en las clases 10, 11 y 12. La distinción entre distribuciones unimodal y bimodal es siempre clara, pero la forma de las curvas puede variar entre

POBLACIONES

Longitud Larvaria	Dh 73			Dh 74			BI			Azores	Vendrell	Vallecas
	76	77	78	76	77	78	76	77	78			
Pupas	-	-	-	-	-	-	5,33	0,33	-	-	-	
20	-	1,67	1,67	-	-	-	1,00	1,00	-	0,67	-	
19	-	5,67	6,33	0,33	-	-	1,67	2,00	0,33	1,67	0,67	
18	4,33	12,33	14,67	2,00	1,00	2,00	7,33	12,33	2,00	11,67	2,33	
17	21,00	15,33	20,00	8,00	5,00	4,67	14,67	18,00	11,67	23,00	10,67	
16	29,67	22,33	23,33	8,00	14,00	8,00	12,00	23,33	22,67	27,33	21,33	
15	18,33	16,67	21,33	12,00	28,00	19,00	3,00	18,00	18,67	21,00	21,00	
14	25,33	16,33	23,67	7,67	26,00	18,67	4,33	10,67	12,33	18,33	8,00	
13	16,67	8,00	15,33	2,33	21,67	9,67	4,67	8,67	6,67	8,00	1,67	
12	16,33	9,67	14,00	1,00	11,00	5,33	3,67	6,33	4,00	6,67	2,00	
11	12,00	6,00	9,33	3,67	7,00	4,33	4,67	3,33	3,00	2,67	1,00	
10	5,67	5,00	6,33	13,00	8,00	9,67	6,67	8,67	2,33	2,00	2,67	
9	6,67	2,33	8,00	28,67	11,33	21,67	15,00	11,00	10,67	8,00	3,67	
8	4,67	2,00	8,67	25,33	10,33	19,33	18,00	12,00	14,67	5,67	9,00	
7	3,67	1,67	5,00	18,67	7,67	19,00	15,67	9,67	9,33	6,67	9,67	
6	0,33	1,33	3,00	3,00	1,00	8,00	4,67	3,00	6,33	6,00	5,57	
5	0,33	-	2,67	1,33	0,67	2,33	2,67	1,33	2,00	4,00	2,67	
4	-	-	0,67	0,00	0,33	0,33	1,67	-	0,67	0,33	1,67	
3	-	-	-	0,33	-	-	-	-	-	-	-	
Total	165,00	126,33	184,00	165,00	153,00	152,00	121,33	149,33	127,33	153,67	103,67	

Tabla 2.- Distribuciones de frecuencias de las longitudes larvarias, obtenidas a los siete días de desarrollo en cultivos de 200 larvas por vial, de poblaciones naturales y experimentales de Drosophila hydei.

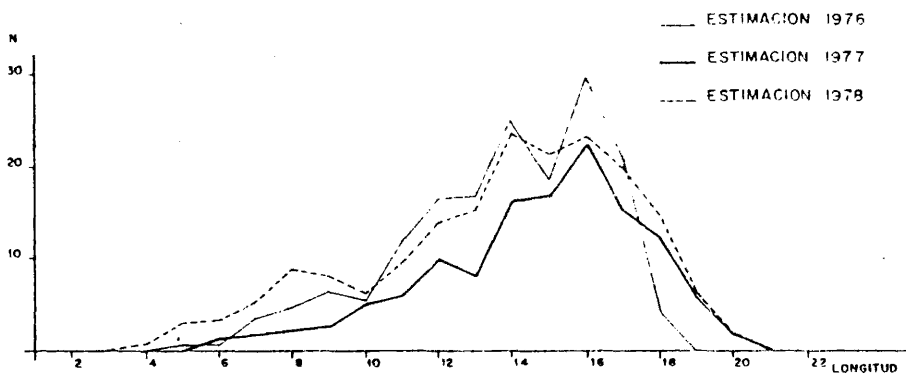


FIG. 2 DISTRIBUCIONES DE LAS LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 A LOS SIETE DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

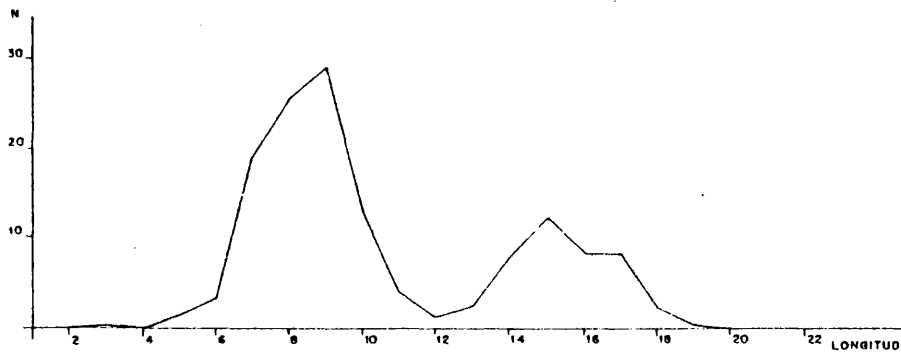


FIG. 3 DISTRIBUCIONES DE LAS LONGITUDES LARVIARIAS DE LA POBLACION Dh 73 α A LOS SIETE DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

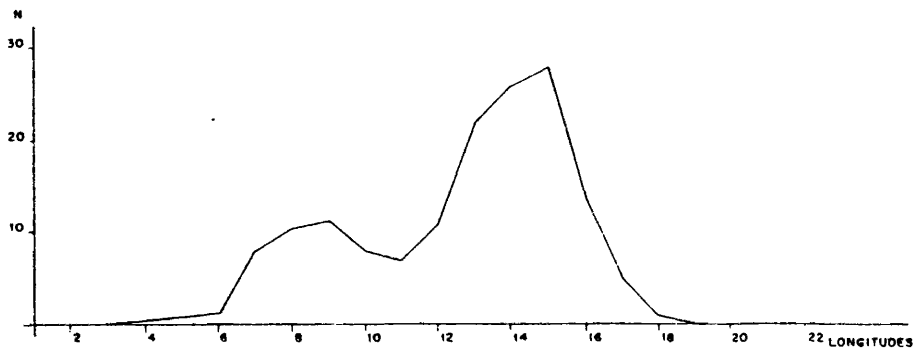


FIG. 4 DISTRIBUCION DE LAS LONGITUDES LARVIARIAS DE LA POBLACION Dh 74 A LOS SIETE DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

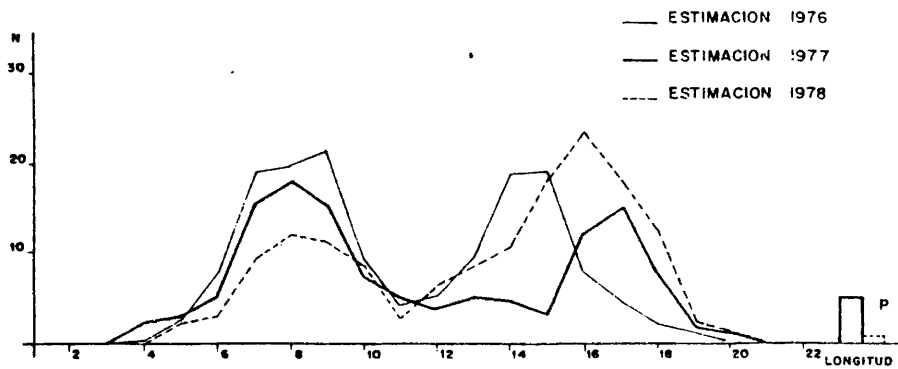


FIG. 5 DISTRIBUCION DE LAS LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS POBLACIONES B I A LOS SIETE DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

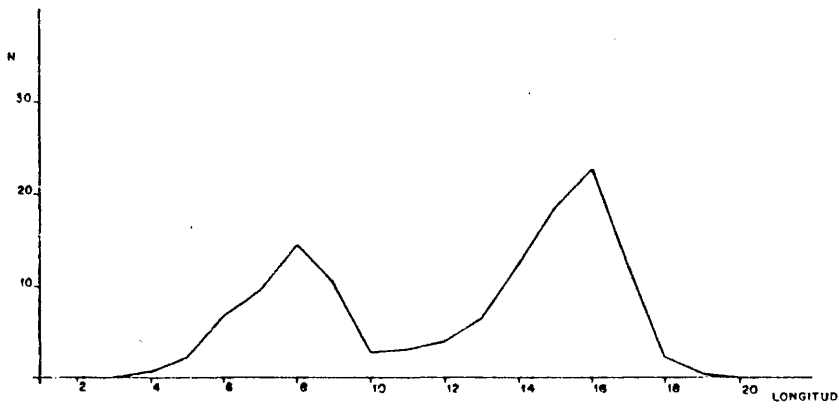


FIG. 6 DISTRIBUCION DE LAS LONGITUDES LARVIARIAS DE LA POBLACION AZORES A LOS SIETE DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

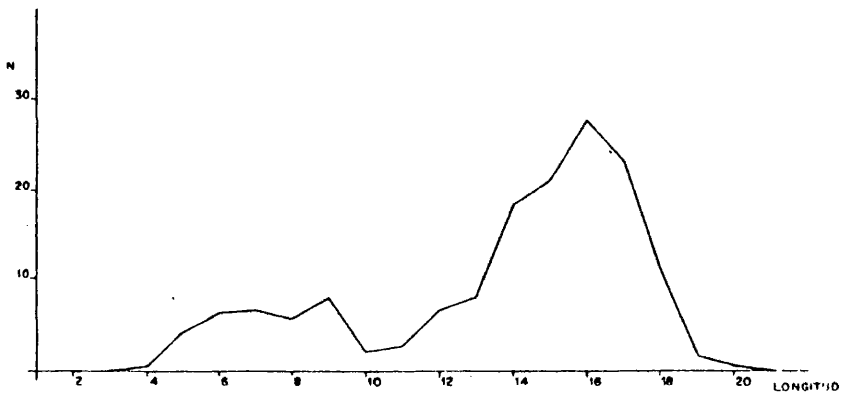


FIG. 7 DISTRIBUCION DE LAS LONGITUDES LARVIARIAS DE LA POBLACION VENDRELL A LOS SIETE DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

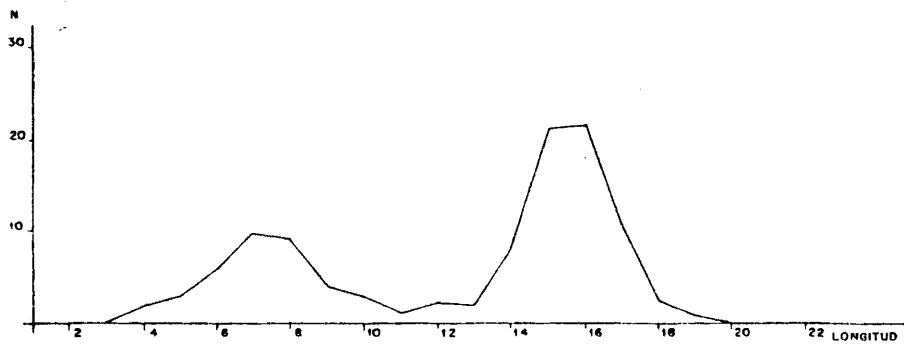


FIG. 8 DISTRIBUCION DE LAS LONGITUDES LARVIARIAS DE LA POBLACION VALLECAS A LOS SIETE DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

poblaciones y dentro de cada población en estimaciones realizadas en distintos momentos. El número de larvas recuperadas, indicador de la mortalidad larvaria, también varía entre poblaciones y dentro de ellas en estimaciones sucesivas. Sin embargo, las tres réplicas simultáneas de cada estimación muestran valores muy similares.

En la Tabla 3 están recogidos los tamaños medios larvarios para cada una de las tres réplicas de cada población analizada, así como la media de las tres réplicas. La homogeneidad entre réplicas es muy grande y el análisis de la varianza muestra que el componente interno, 0,19, es siete veces inferior a la varianza externa 1,22. Las diferencias no sólo se dan entre poblaciones, sino dentro de una misma población en estimaciones realizadas en diferentes momentos. Parece pues que existen variables no controladas experimentalmente que modifican la viabilidad y el desarrollo larvario cuando las estimaciones no son sincrónicas, sin llegar a afectar al tipo de distribución, uni ó bimodal.

En la Tabla 4 está recogido un análisis de la varianza similar al de la Tabla 3, pero calculado sobre el número de larvas recogidas por vial a los siete días de desarrollo. De nuevo el componente entre réplicas de la varianza 97,5 es más pequeño que el componente entre poblaciones 292,5; indicando una homogeneidad de condiciones en cultivos sincrónicos que no se repite en las estimaciones asincrónicas. Las causas experimentales que pueden modificar tanto el tamaño larvario como su viabilidad no parece en ningún sentido asociar estos dos parámetros, ya que la correlación entre ellos, para los 24 pares de valores recogidos en las Tablas 3 y 4, de un valor de $r = 0,03$.

El trabajo experimental envuelto en el recuento de las larvas recién emergidas y posteriormente en su extracción, fijación y medida no

	l_1	l_2	l_3	\bar{l}
Dh 73a	10,52	10,36	10,15	10,34
Dh 74	12,24	12,97	12,69	12,63
BI	76	11,00	10,70	10,99
	77	11,72	11,76	11,87
	78	13,11	13,26	13,38
Azores	12,04	13,23	11,90	12,39
Vendrell	13,15	14,39	13,70	13,75
Vallecas	12,88	12,19	12,93	12,67

F. de variación	g.l.	S.C.	C.M.	F
Externa	7	26,93	3,85	20,21***
Interna	16	3,05	0,19	
TOTAL	23	29,98		

Tabla 3.- Valores medios de las longitudes larvarias, obtenidas a los siete días de desarrollo en cultivos de 200 larvas por vial, en cada una de las tres réplicas analizadas de cada población y análisis de la varianza.

	N ₁	N ₂	N ₃	\bar{N}
Dh 73a	151	137	149	145,67
Dh 74	165	150	144	153,00
BI	76	143	160	152,00
	77	130	118	126,67
	78	142	157	149,67
Azores	148	122	112	127,33
Vendrell	165	149	151	153,67
Vallecas	102	99	110	103,67

F. de variación	g.l.	S.C.	C.M.	F
Externa	7	6,824,96	974,99	10,00* * *
Interna	16	1,500,00	97,50	
TOTAL	23	8,384,96		

Tabla 4.- Número total de larvas recuperadas a los siete días de desarrollo en cultivos de 200 larvas por vial, en cada una de las tres réplicas analizadas de cada población y análisis de varianza.

hacen posible el análisis sincrónico, necesario por las causas anteriormente expuestas, de gran número de poblaciones, densidades larvarias y réplicas. Dado que la varianza dentro de réplicas es pequeña, basta un reducido número de ellas, de 3 a 5 por estimación, para obtener una media fiable con un error pequeño. Un especial empeño se ha puesto, siempre que ha sido posible, en realizar sincrónicamente las estimaciones que se deseaban comparar para evitar el efecto de las causas ambientales no controlables experimentalmente.

II.- Efecto de la densidad sobre el desarrollo larvario

Para estudiar las alteraciones en el desarrollo larvario producidas por la competición se escogieron dos poblaciones: Dh 73 y BI. La primera, cuando se analiza en la densidad de 200 larvas por tubo, produce una distribución de frecuencias de los tamaños larvarios claramente unimodal, mientras que la población BI responde dando origen a una distribución bimodal. Por tanto se consideran las poblaciones Dh 73 y BI como poblaciones tipo de respuesta unimodal y bimodal.

La duración del desarrollo larvario, la viabilidad y el peso de los adultos depende de la densidad de larvas en los cultivos. Para estudiar de una manera precisa el efecto de la densidad sobre las larvas en su desarrollo, se sembraron viales conteniendo 2 c.c. de medio de cultivo con 25, 50, 100, 200, 400 y 600 larvas recién emergidas. Tras siete días de desarrollo las poblaciones larvarias contenidas en cada vial se fijan y se miden para determinar sus tamaños.

Para evitar las posibles diferencias en las variables ambientales, las dos poblaciones Dh 73 y BI se analizaron sincrónicamente, en los seis niveles de densidad citados, realizándose cuatro réplicas para cada

población y densidad. En las Tablas 5 y 6 se encuentran las distribuciones de frecuencias correspondientes a Dh 73 y BI respectivamente, obtenidas como media de las cuatro réplicas.

La viabilidad, calculada como el porcentaje de larvas recuperadas vivas a los siete días respecto al número de larvas sembradas en el vial, disminuye progresivamente con la densidad en las dos poblaciones analizadas. A baja densidad, 25 larvas por vial, la viabilidad es semejante en las dos poblaciones con una pérdida por mortalidad del 16 al 17%. Si consideramos esta densidad óptima, en donde la competición larvaria es mínima, esta mortalidad se debería más bien a causas genéticas o a causas ambientales no derivadas de la presencia de otras larvas en el cultivo.

El descenso en la viabilidad al aumentar la densidad es más acusado en la población BI que en Dh 73, si bien en ambas se presentan las mismas características. Un incremento de la densidad de 25 a 100 larvas por cultivo produce un descenso en la viabilidad del 36 y 22% respectivamente, mientras que un posterior incremento de la densidad de 100 a 600 larvas por cultivo sólo produce un 16 y 21% de descenso en este parámetro.

La longitud media de las larvas recuperadas a los siete días, en la densidad de 25 larvas por vial, es igual para las dos poblaciones Dh 73 y BI. Este valor permanece constante, al incrementar la densidad hasta 100 larvas en la población Dh 73, si bien como anteriormente se cita la viabilidad desciende significativamente. En la población BI la longitud media de las larvas se reduce con la densidad a lo largo del rango de densidades estudiadas.

A los siete días de desarrollo larvario una pequeña proporción de larvas han pupado y por tanto no es posible determinar su tamaño larva

Longitudes Larvarias	DENSIDADES					
	25	50	100	200	400	600
PUPAS	0,50	-	-	-	-	-
22	-	-	0,75	-	-	-
21	1,00	1,25	3,00	0,50	-	-
20	1,75	5,50	14,00	6,50	-	0,25
19	7,00	9,75	13,00	12,00	3,50	2,25
18	5,50	8,25	14,50	16,50	9,25	9,00
17	3,75	6,50	9,75	17,00	14,50	10,00
16	0,50	5,35	5,75	14,50	19,00	14,75
15	-	1,25	0,75	11,00	17,25	14,00
14	-	-	0,75	9,50	20,00	25,50
13	0,25	-	0,50	8,50	21,25	25,25
12	-	-	0,50	10,25	25,50	19,25
11	-	-	0,50	4,75	14,50	22,00
10	-	-	0,25	4,75	24,50	42,00
9	-	-	0,50	3,00	25,25	54,75
8	-	-	0,25	3,25	20,00	39,00
7	-	-	-	1,00	14,00	16,25
6	-	-	-	0,50	7,00	9,00
5	-	-	-	-	4,00	1,00
4	-	-	-	-	0,75	-
3	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
Viabilidad	83,00	75,50	64,75	65,75	59,06	50,88
Longitud media	18,46	18,10	18,13	15,23	11,90	11,12
Varianza	1,64	2,13	4,58	10,50	12,46	9,99

Tabla 5.- Distribuciones de frecuencias de las longitudes larvarias obtenidas a los siete días de desarrollo en cultivos de 25, 50, 100, 200, 400 y 600 larvas por vial, de la población Dh 73.

Longitudes Larvarias	DENSIDADES					
	25	50	100	200	400	600
PUPAS	5,25	3,50	3,50	1,00	0,50	0,50
22	-	-	-	-	-	-
21	-	0,25	-	0,25	0,25	-
20	0,50	0,25	2,00	0,50	2,00	2,00
19	4,50	7,50	8,00	3,50	6,00	7,25
18	7,25	9,75	9,25	8,25	13,50	19,25
17	2,25	8,00	6,75	18,50	15,00	13,75
16	0,50	1,00	2,25	14,25	19,00	16,75
15	-	0,50	1,75	4,50	12,50	8,75
14	0,25	1,00	1,50	1,25	3,75	10,75
13	-	1,25	0,75	-	3,75	9,75
12	0,25	-	1,75	0,75	1,75	5,00
11	0,25	0,50	1,00	2,00	4,75	10,00
10	-	0,50	2,75	5,75	8,25	16,00
9	-	1,25	6,00	11,75	20,75	38,75
8	-	0,50	3,50	12,00	29,00	43,25
7	-	-	1,00	7,00	14,25	30,50
6	-	-	0,75	4,50	13,75	19,50
5	-	-	0,25	1,75	6,25	13,00
4	-	-	0,25	1,00	3,25	6,50
3	-	-	-	-	1,75	1,75
2	-	-	-	-	-	0,25
Viabilidad	84,00	71,50	54,00	49,25	45,13	45,54
Longitud media	18,65	17,27	14,91	12,77	11,51	10,00
Varianza	3,72	8,07	20,61	21,16	21,81	19,18

Tabla, 6.- Distribuciones de frecuencias de las longitudes larvarias obtenidas a los siete días de desarrollo en cultivos de 25, 50, 100, 200, 400, y 600 larvas por vial, de la población BI.

rio alcanzado. Para el cálculo de las longitudes medias se las considera con un tamaño de 21 unidades, es decir en el límite del rango de longitudes.

En la población Dh 73 (Tabla 5) sólo se recuperan pupas en la densidad de 25 larvas por vial, mientras que en la población BI (Tabla 6) se encuentran pupas en todas las densidades, si bien su número decrece claramente con el número de larvas que se desarrollan en cada vial.

Más interesante que el análisis de las longitudes medias de la población de larvas que se desarrollan en cada vial es la distribución de los tamaños. En las figuras 9 a 14 se encuentran los polígonos de frecuencias de ambas poblaciones correspondientes a cada una de las densidades larvarias, representando las columnas situadas en el extremo del eje de abscisas las frecuencias de pupas observadas.

En las densidades de 25 y 50 larvas por vial las gráficas correspondientes a las dos poblaciones son similares, si bien en la densidad de 50 (Figura 10) ya se aprecia en la población BI una cola a la izquierda correspondiendo a larvas de pequeños tamaños. A partir de la densidad 100 la forma de los polígonos de frecuencias de las dos poblaciones son muy diferentes. Las distribuciones de la población Dh 73 son unimodales, moviéndose la moda desde tamaños grandes hacia pequeños al incrementar la densidad larvaria. La varianza aumenta progresivamente a la vez que se reduce la media, manteniendo el rango de tamaños casi constante. En todas las densidades, hasta las más elevadas, siempre se encuentran larvas con el tamaño máximo de 20 a 21 unidades.

Por el contrario la población BI a partir de la densidad 100 larvas por vial presenta unos polígonos de frecuencias marcadamente bimodales en las que los incrementos de densidad no modifican la posición de

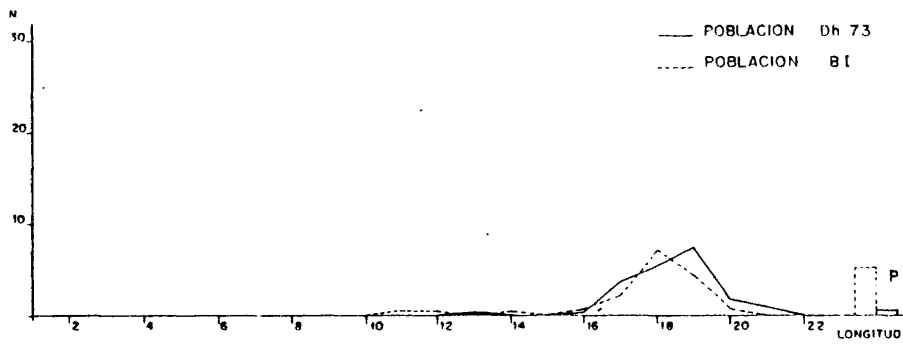


FIG. 9 DISTRIBUCION DE LAS LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y B1 A LOS SIETE DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 25 LARVAS POR VIAL.

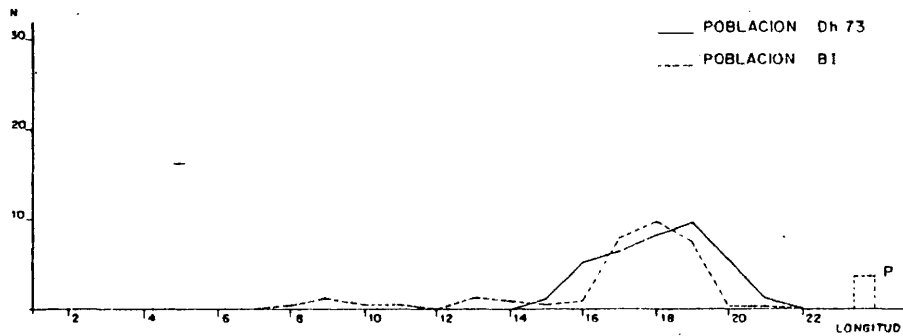


FIG. 10 DISTRIBUCION DE LAS LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y B1 A LOS SIETE DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 50 LARVAS POR VIAL.

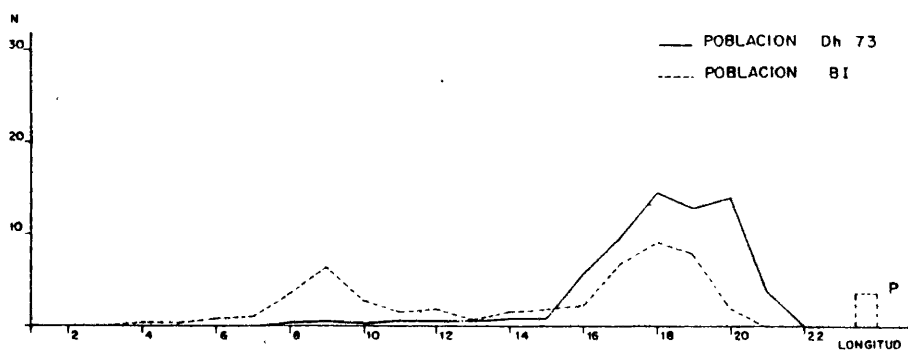


FIG. 11 DISTRIBUCION DE LAS LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y BI A LOS SIETE DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 100 LARVAS POR VIAL.

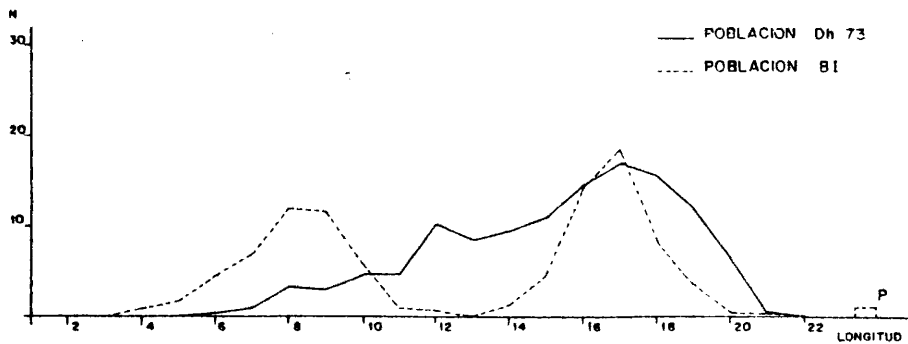


FIG. 12 DISTRIBUCION DE LAS LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y BI A LOS SIETE DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

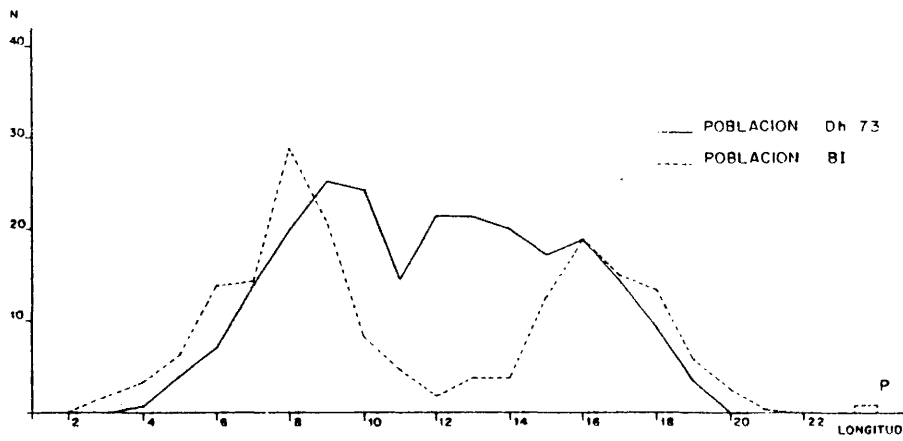


FIG. 13 DISTRIBUCION DE LAS LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y BI A LOS SIETE DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 400 LARVAS POR VIAL.

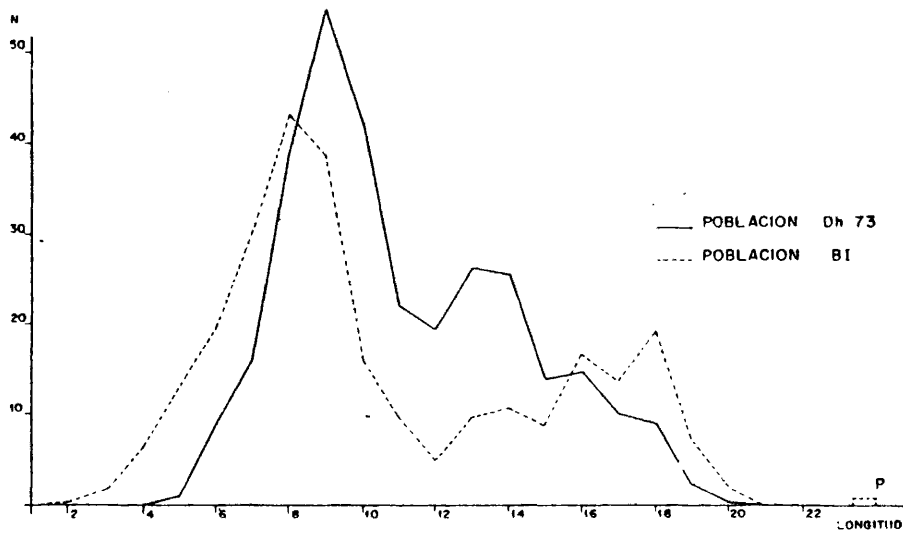


FIG. 14 DISTRIBUCION DE LAS LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y BI A LOS SIETE DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 600 LARVAS POR VIAL.

las modas. Estas distribuciones bimodales presentan unas características similares a las observadas anteriormente en las poblaciones Dh 73a, Dh - 74, Dh 76, Vendrell, Azores y Valeecas. El mínimo aparece siempre en las clases 11, 12 y 13; la moda de las larvas "pequeñas" (situadas a la izquierda de la clase 11) está en las clases 8 ó 9 y la moda de las larvas "grandes" (a la derecha de la clase 11) en las clases 16, 17 ó 18.

Dado que las distribuciones analizadas no son normales, las comparaciones entre réplicas de cada densidad y población para estudiar su homogeneidad, se han efectuado mediante test de χ^2 , agrupando los datos en tres bloques:

- a - Frecuencia de las larvas comprendidas en las clases 10 e inferiores. Corresponde en la población BI a las larvas que denominamos "pequeñas".
- b - Agrupa las frecuencias de las clases 11, 12 y 13.
- c - Frecuencia de larvas comprendidas en la clase 14 y superiores, más las pupas. En las distribuciones bimodales b + c equivale a la frecuencia de larvas "grandes".

En la Tabla 7 se encuentran agrupados en los bloques a, b y c los datos correspondientes a las densidades 200, 400 y 600 de la población Dh 73 y 100, 200, 400 y 600 larvas por vial de BI, con sus correspondientes test de homogeneidad. No se ha podido realizar el test para las densidades inferiores ya que los valores de los bloques a y b son cero o muy bajos. En las densidades 100 y 200 de la población BI el bloque b agrupa las frecuencias de las clases 11, 12, 13 y 14 para evitar valores demasiado bajos en las frecuencias esperadas.

El test detecta desviaciones significativas de la homogeneidad entre las réplicas de todas las densidades en la población Dh 73. Sin em

	100 l/vial	200 l/vial	400 l/vial	600 l/vial
Dh 73				
a	10	20	156	182
b	27	26	70	65
c	32	65	60	78
χ^2_6		28,08***	38,18***	78,08***
8I				
a	22	10	120	145
b	8	2	9	32
c	33	26	63	79
χ^2_6	4,45 (N.S.)	9,52 (N.S.)	9,54 (N.S.)	7,78 (N.S.)

Tabla 7.- Número de larvas de cada réplica y densidad, incluidas en los bloques a, b y c y test de homogeneidad entre los mismos.

bargo para la población BI, en las cuatro densidades analizadas no se detectan diferencias significativas entre los valores de las réplicas. Este resultado muestra que la población BI, en donde aparece como respuesta a la densidad larvaria una distribución de tamaños de naturaleza bimodal, con modas y mínimos fijos, es menos sensible a variables ambientales, modificándose poco los valores contenidos en los bloques a, b y c. Por el contrario la respuesta de la población Dh 73, de naturaleza unimodal, en donde la clase de frecuencia máxima se desplaza hacia valores inferiores con el incremento de la densidad, es mas sensible a los cambios ambientales producidos entre réplicas.

III.- Crecimiento larvario en ausencia de competición

La determinación del conjunto de circunstancias ambientales que conducen a un desarrollo larvario "óptimo" es difícil. En general se asume que cuando la competición intraespecífica es mínima, se obtiene una mayor viabilidad asociada a un desarrollo rápido y a un tamaño máximo de los adultos. Sin embargo, dentro del género Drosophila esto no siempre es cierto (Lewontin y Matsuo, 1963), y en determinadas especies las condiciones óptimas se obtienen a densidades intermedias. D. hydei es una especie cosmopolita que se adapta a condiciones ambientales diversas y tolera bien altas concentraciones larvarias. En cultivos a baja densidad su viabilidad es alta siendo la varianza en los tiempos de desarrollo pequeña, lo que hace pensar en un óptimo ambiental. Por esto se decidió estudiar el crecimiento larvario en ausencia de competición en cultivos independientes.

Una sola larva, recién emergida, se coloca en cada plaquita conteniendo 1,5 c.c. de medio de cultivo, inoculado con levadura viva. Las

larvas son examinadas y medidas en vivo, sin anestesia, en sucesivos intervalos, hasta que alcanzan la pupación. Cuando las plaquitas mostraban indicios de contracción por desecamiento, las larvas eran transferidas a nuevas plaquitas. Se realizaron 14 réplicas de cada población D h 73 y BI

En la Tabla 8 se recogen los pesos medios de las larvas para cada población y a la derecha la media total, así como los errores de las medias. En ningún momento del desarrollo los valores medios de las longitudes larvarias de ambas poblaciones difieren significativamente por lo que se les ha agrupado considerándolos una sola muestra. Con estos datos agrupados se han representado las longitudes larvarias correspondientes a cada momento del desarrollo, obteniéndose una curva de crecimiento de tipo sigmoideo (Figura 15), que alcanza la máxima pendiente (mayor velocidad de crecimiento) el cuarto día de desarrollo, pasando a partir del quinto a una fase de crecimiento lento que se mantiene hasta la pupación en el día séptimo.

De las 28 larvas con que se inició el experimento sobrevivieron hasta la pupación 20, lo que representa el 70%, atribuyéndose la mortalidad producida tanto a causas intrínsecas como al manejo necesario para efectuar las mediciones y transferencias a nuevas placas.

Conjuntamente se observaron las modificaciones morfológicas producidas tras las mudas que determinan los tres estadios larvarios. La estructura mandibular y los espiráculos anteriores son los órganos en donde mejor se detectan las diferencias en las larvas vivas.

En el primer estadio las mandíbulas presentan una estructura muy simple, con dos pequeñas piezas posteriores, casi puntuales a la observación, aparentemente independientes entre sí, y otras dos anteriores muy pequeñas y próximas que dan la apariencia de una pieza única.

Día	horas	Dh 73	BI	Dh 73+BI
0	0	2,02±0,02	2,05±0,03	2,04±0,02
	4	2,14±0,04	2,12±0,05	2,13±0,03
	8	2,31±0,04	2,25±0,07	2,28±0,04
1	24	2,98±0,04	3,00±0,05	2,99±0,03
	28	3,27±0,05	3,17±0,08	3,23±0,04
	32	3,58±0,06	3,50±0,08	3,54±0,05
2	48	5,27±0,10	5,60±0,11	5,41±0,08
	52	5,92±0,10	5,90±0,13	5,91±0,08
	56	6,38±0,10	6,35±0,12	6,33±0,08
3	72	8,65±0,07	8,28±0,17	8,50±0,08
	76	- - -	8,56±0,24	8,56±0,24
	80	10,31±0,17	9,63±0,20	10,05±0,13
4	97	13,69±0,18	13,25±0,36	13,60±0,16
	100	14,15±0,20	14,00±0,33	14,10±0,16
	104	14,31±0,23	14,00±0,41	14,20±0,19
5	122	16,08±0,18	16,29±0,20	16,15±0,13
	129	16,38±0,25	16,29±0,31	16,35±0,19
6	146	17,15±0,26	17,29±0,31	17,20±0,19
7	169	(P)12,83±0,12	(P)12,75±0,39	(P)12,80±0,16

Tabla 8.- Longitudes larvarias medias a lo largo del desarrollo sin competición en Dh 73 y BI, y media total de los datos de ambas poblaciones (P = Longitud pupal).

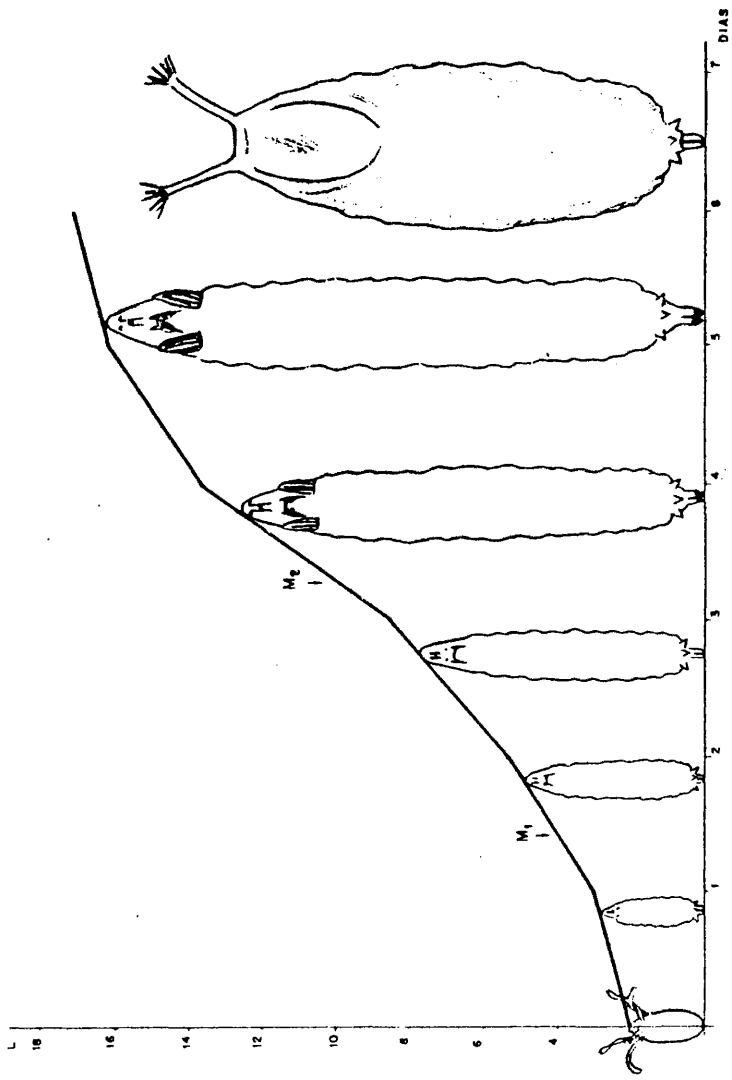


FIG. 15 CURVA DE CRECIMIENTO LARVARIO EN AUSENCIA DE COMPETICION, Y CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DE CADA ESTADIO. M=MUDA LARVARIA

Inmediatamente despues de la primera muda larvaria aparece un aparato mandibular mas complejo. Las dos piezas posteriores son de mayor tamaño y conectadas entre sí por un pequeño puente quitinoso. Las dos - piezas anteriores estan claramente diferenciadas.

Tras la segunda muda se producen cambios en la estructura tanto de las mandíbulas como de los espiráculos. En las primeras, las piezas anteriores aparecen conectadas entre sí y articuladas por su parte media. Las piezas posteriores presentan un mayor tamaño con un ancho puente que las une. Los espiráculos anteriores aparecen invaginados con una estructura plumosa claramente visible, y en los posteriores se destaca una pigmentación marrón no presente en los dos estadios anteriores.

Directamente se han observado muy pocas mudas larvarias debido a que estas se realizan en pocos minutos, pero una vez efectuadas aparecen las estructuras claramente definidas y por consiguiente se determinan con precisión los momentos en que se producen. Como media la primera muda se produce a las 42 horas de desarrollo, cuando las larvas tienen un tamaño medio de 4,9 unidades (1,9 mm). A las 78 horas como promedio se produce la segunda muda, teniendo las larvas una longitud de 9,7 unidades (3,9 mm). Las dos mudas se producen, en las condiciones experimentales descritas, con una gran sincronía, no distanciándose mas de 6 u 8 h.

En la Figura 15 se representan, esquematicamente, las características de cada estadio larvario, señalándose sobre la curva de crecimiento los puntos en que tienen lugar las mudas.

Las larvas de Drosophila se alimentan continuamente, desde que emergen del huevo hasta poco antes de la pupación, momento en que ascienden por las paredes del vial para buscar un sitio apto para pupar. Si el alimento se acaba o experimentalmente se les priva de él, aislandolas en

un vial con solo papel de filtro humedecido, las larvas después de un - cierto tiempo mueren a no ser que hayan alcanzado un tamaño y edad críticos que les permita llegar a pupar sin incorporación de mas alimento. Para determinar en D. hydei este momento crítico, se mantuvieron larvas en condiciones de baja densidad (10 larvas por vial) durante 4, 5, 6 ó 7 días en el medio de cultivo normal, y posteriormente fueron lavadas para eliminar los restos de alimento que pudieran llevar adheridos, siendo transferidas a continuación a viales conteniendo unicamente papel de filtro humedecido. Se realizaron 10 réplicas para cada uno de los tiempos de desarrollo indicados, registrándose el momento en que se produce la pupación y la longitud de la pupa.

A partir del 5º día de desarrollo la casi totalidad de las larvas son capaces de pupar, pero unicamente algunas lo hacen cuando han estado alimentándose solo durante 4 días. En la Tabla 9 se indican los porcentajes de pupación alcanzados, los tamaños y el día en que tiene lugar, para los cuatro grupos analizados.

En las condiciones descritas, el momento de la pupación no parece modificarse con la falta total de alimento. Si las larvas han alcanzado el tamaño crítico de unas 12 unidades, son capaces de pupar aun cuando no tengan a su disposición más alimento, si bien producen pupas de pequeño tamaño, 8 unidades, de donde raramente emerge un adulto. Periodos de alimentación más prolongados, dan lugar a pupas mas grandes, siendo el tamaño de la pupa proporcional al de la larva de la cual se origina.

IV.- Crecimiento larvario en competición.

Para determinar en que momento del desarrollo larvario aparece la bimodalidad de los tamaños larvarios en la población BI, y conocer la

Días	Tamaño de pupa	Día de pupación	% de pupación
4	8,0	7	20
5	9,4	7-8	80
6	11,9	7-8	90
7	12,8	7-8	90

Tabla 9.- Porcentaje de pupación, obtenido en cultivos privados de alimento a partir de los días 4, 5, 6 y 7 de desarrollo.

dinámica del crecimiento en esta población y en la Dh 73, se estudió en colaboración con Silvia Prieto la evolución del crecimiento larvario en el tiempo, desde la emergencia de las larvas hasta el día 12. La densidad utilizada fué de 200 larvas por vial conteniendo 2 c.c. de medio de cultivo, y se partió de un total de 36 réplicas por población. Cada 24 horas se extrajeron las poblaciones larvarias de tres viales de cada población, se fijaron y se midieron, apareciendo los resultados en las Tablas 10 y 11. En cada una se encuentran las distribuciones de los tamaños larvarios, correspondiendo cada valor de las Tablas a la media de las tres réplicas. En la parte inferior se encuentran las medias totales de larvas recuperadas.

En los primeros días de desarrollo las larvas de pequeño tamaño excavan galerías en el medio de cultivo que se mantiene sólido. A partir del quinto día se empieza a fluidificar por la actividad larvaria, llegando a estar el medio completamente removido el día sexto. Esto lleva consigo una fácil y completa extracción de las larvas a partir de dicho momento, mientras que en los primeros días de desarrollo, al intentar recuperar las larvas, el medio de cultivo se desprende en bloques de los que resulta difícil su extracción. Consecuentemente el número de larvas recuperadas en los primeros días es ligeramente inferior al real y es necesario realizar una corrección para estimar su número.

Asumiendo que la tasa de mortalidad es constante durante los doce primeros días, y que a partir del sexto se recuperan la totalidad de las larvas, se ha calculado la recta de regresión del número de larvas sobre el día de desarrollo a partir del día cero (200 larvas sembradas) y de los valores obtenidos del sexto al duodécimo día. La ecuación de las rectas de regresión, calculadas para la población Dh 73 es:

Longitud	Días de Desarrollo												
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Pupas	-	-	-	-	-	-	-	0,7	2,0	4,7	21,7	30,3	48,3
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	1,0	1,0	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	0,3	5,3	3,3	2,0	0,7	-	-	-	-
17	-	-	-	-	1,7	8,0	12,0	10,0	5,7	1,7	0,3	-	1,0
16	-	-	-	-	3,3	14,0	19,3	20,7	19,0	12,3	1,0	0,3	0,7
15	-	-	-	-	7,7	20,7	20,3	27,3	27,7	32,3	8,7	8,0	4,7
14	-	-	-	-	15,3	20,3	22,3	25,7	26,3	38,7	35,3	23,0	17,3
13	-	-	-	-	16,3	18,3	21,3	26,7	19,3	25,7	45,3	35,7	22,7
12	-	-	-	-	20,7	20,7	19,7	17,7	19,3	13,0	26,0	19,7	16,7
11	-	-	-	0,3	29,3	19,7	15,3	10,0	17,3	8,0	14,0	14,0	14,7
10	-	-	-	7,7	38,0	17,3	13,0	5,7	13,0	6,3	13,3	6,3	12,3
9	-	-	-	35,0	14,7	9,7	12,7	4,0	7,7	4,7	4,7	3,7	5,7
8	-	-	4,7	61,7	9,3	5,3	6,3	3,3	4,0	4,7	1,7	2,0	5,3
7	-	-	14,0	30,7	4,0	4,3	3,7	1,7	4,7	4,7	0,7	2,0	1,3
6	-	-	20,7	4,0	3,3	1,3	0,7	2,0	2,0	2,3	0,7	0,7	2,3
5	-	-	51,3	1,7	0,3	0,3	0,7	0,7	1,3	0,3	-	-	0,3
4	-	32,0	56,7	-	0,3	-	-	-	0,7	-	0,3	0,3	0,3
3	4,0	83,3	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	193,0	13,7	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL	197,0	129,0	152,7	141,0	164,7	166,3	171,7	159,0	170,7	159,3	173,7	146,0	153,7

Tabla 10.- Distribuciones de tamaños larvarios, en la población Dh 73, obtenidos en cultivos de 200 larvas por vial, desde la emergencia hasta el duodécimo día de desarrollo.

Longitud	Días de Desarrollo												
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Pupas	-	-	-	-	-	-	-	5,3	18,6	21,6	34,6	22,0	28
20	-	-	-	-	-	-	0,3	1,0	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	0,3	0,7	1,6	0,3	-	-	0,7	-
18	-	-	-	-	-	5,7	11,7	7,3	1,3	0,3	-	1,3	0,3
17	-	-	-	-	0,3	12,7	19,0	14,6	6,0	2,0	1,3	3,3	0,7
16	-	-	-	-	4,0	9,3	13,7	12,0	9,7	5,3	3,7	3,3	1,0
15	-	-	-	-	5,0	6,7	6,3	3,0	4,3	5,0	8,0	4,7	2,7
14	-	-	-	-	7,7	5,3	6,0	4,3	3,7	3,7	16,0	3,3	1,7
13	-	-	-	-	5,0	2,7	4,0	4,6	3,0	3,3	11,7	2,0	3,0
12	-	-	-	-	3,0	2,3	4,3	3,6	2,7	4,3	5,3	2,7	1,0
11	-	-	-	2,7	1,3	1,7	1,0	4,6	4,7	3,7	3,7	1,3	2,0
10	-	-	-	12,7	2,3	2,3	5,7	6,6	4,7	5,7	6,0	3,7	3,7
9	-	-	-	35,3	7,7	10,0	13,7	15,0	16,3	9,7	8,7	6,7	4,7
8	-	-	4,7	34,0	23,0	29,3	15,3	18,0	13,3	15,0	10,7	11,7	6,7
7	-	-	9,0	14,0	31,3	28,7	17,7	15,6	13,0	13,7	13,7	7,3	9,7
6	-	0,3	27,3	10,3	22,0	9,3	9,7	4,6	9,0	11,3	16,7	10,7	6,3
5	-	3,7	44,3	7,7	8,7	3,7	3,7	2,6	4,3	5,0	10,7	5,7	3,0
4	-	32,7	38,7	2,0	4,7	1,3	1,3	1,6	1,3	1,0	2,0	3,0	3,0
3	4,0	65,3	23,7	2,0	1,7	-	-	-	-	-	-	0,7	0,3
2	186,0	23,0	5,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL	190,0	125,0	153,0	120,0	127,6	132,0	134,0	125,0	117,3	110,0	149,3	100,0	77,6

Tabla 11.- Distribuciones de los tamaños larvarios en la población BI, obtenidos en cultivos de 200 larvas por vial, desde la emergencia hasta el duodécimo día de desarrollo.

$Y=197,13-4,21X$ ($r=0,84$) y para la población BI: $Y=189,97-8,59X$ ($r=0,95$).

Con objeto de no alterar las distribuciones de los tamaños larvarios, estas se han corregido mediante las rectas de regresión, aumentando proporcionalmente todos los valores para ajustar los totales. Las distribuciones corregidas se encuentran en las Tablas 12 y 13. La mortalidad detectada a partir de las rectas de regresión muestra un valor doble en la población BI que en Dh 73.

El promedio de crecimiento de la población larvaria se calcula como el incremento de las longitudes medias, para cada día de desarrollo. Dado el carácter bimodal de las distribuciones de frecuencias de la población BI, esta se ha dividido en dos grupos. Uno de ellos integrado por larvas pequeñas, inferiores a 11 unidades (bloque a), y el otro por larvas denominadas grandes, de tamaño igual o superior a 11 unidades (bloques b y c). Las longitudes medias para cada día de desarrollo y población se encuentran en la Tabla 14. En Dh 73 el tamaño medio aumenta constantemente los 7 primeros días hasta alcanzar un valor máximo de 13,5 unidades (Figura 16). A continuación se registra un descenso debido a que con la pupación de las de mayor tamaño se incrementa relativamente la proporción de las pequeñas. Las larvas de la población BI alcanzan tamaños medios muy similares a los de la población Dh 73 durante los tres primeros días de desarrollo. En el cuarto día se escinde la población larvaria en dos grupos cuyas longitudes medias permanecen estables a partir del quinto día.

En la Figura 17 se representan las curvas de crecimiento de las dos poblaciones Dh 73 y BI en las condiciones de competición producidas en cultivos de 200 larvas por vial, junto a la curva de crecimiento de estas mismas poblaciones en ausencia de competición. Hasta el tercer día

Longitud	Días de desarrollo												
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Pupas	-	-	-	-	-	-	-	-	2	5	19	31	46
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	6	3	2	1	-	-	-	-
17	-	-	-	-	2	8	12	11	5	2	-	-	1
16	-	-	-	-	4	4	19	22	18	12	1	-	1
15	-	-	-	-	8	22	21	29	27	32	8	0	4
14	-	-	-	-	17	21	23	27	25	39	32	24	17
13	-	-	-	-	18	19	21	28	19	26	40	37	22
12	-	-	-	-	23	22	20	19	19	13	23	20	16
11	-	-	-	-	32	21	15	11	17	8	13	14	14
10	-	-	-	10	42	18	13	6	12	6	12	7	12
9	-	-	-	46	16	10	13	4	7	5	4	4	5
8	-	-	6	81	10	6	6	4	4	5	1	2	5
7	-	-	17	40	4	5	4	2	4	5	1	2	1
6	-	-	26	5	4	2	1	2	2	2	1	1	2
5	-	-	63	2	1	-	-	1	1	-	-	-	1
4	-	48	70	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
3	4	125	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	193	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL	197	193	188	184	181	176	172	169	164	160	155	150	147

Tabla 12.- Distribuciones corregidas de tamaños larvarios, en la población Dh 73, correspondientes a los valores de la Tabla 10.

Longitud	Días de Desarrollo												
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Pupas	-	-	-	-	-	-	-	5	19	22	24	22	32
20	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	1	2	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	7	12	8	2	1	-	2	-
17	-	-	-	-	-	14	20	15	6	2	2	3	1
16	-	-	-	-	5	10	14	12	10	6	2	3	1
15	-	-	-	-	6	8	7	3	5	5	5	5	3
14	-	-	-	-	10	6	6	4	4	4	11	3	2
13	-	-	-	-	6	3	4	5	3	3	8	2	3
12	-	-	-	-	3	3	4	4	3	4	4	3	1
11	-	-	-	4	2	2	1	5	5	4	2	1	2
10	-	-	-	17	3	3	6	7	5	6	4	4	4
9	-	-	-	48	9	11	14	15	17	10	6	7	5
8	-	-	5	47	28	33	16	18	14	15	7	12	7
7	-	-	10	19	38	32	18	16	13	14	9	7	11
6	-	-	31	14	27	10	10	5	9	11	12	11	7
5	-	6	50	10	11	4	4	3	5	5	7	6	3
4	-	47	44	3	6	1	1	2	1	1	1	4	4
3	186	95	27	3	2	-	-	-	-	-	-	-	-
2	4	33	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL	190	181	173	165	156	147	138	150	121	113	104	95	86

Tabla 13.- Distribuciones corregidas de tamaños larvarios en la población BI, correspondientes a los valores de la Tabla 11.

Días	Dh 73 Longitud \pm E.T.	BI (pequeñas) Longitud \pm E.T.	BI (grandes) Longitud \pm E.T.
0	2,02 \pm 0,01	2,02 \pm 0,01	
1	3,15 \pm 0,04	3,14 \pm 0,05	
2	4,98 \pm 0,08	4,71 \pm 0,08	
3	8,04 \pm 0,07	7,94 \pm 0,13	
4	11,15 \pm 0,15	6,90 \pm 0,13	14,13 \pm 0,25
5	12,69 \pm 0,22	7,53 \pm 0,13	15,75 \pm 0,18
6	12,94 \pm 0,23	7,64 \pm 0,18	16,00 \pm 0,19
7	13,49 \pm 0,22	8,01 \pm 0,19	15,98 \pm 0,35
8	12,79 \pm 0,21	7,86 \pm 0,20	15,27 \pm 0,31
9	13,07 \pm 0,20	7,68 \pm 0,20	14,64 \pm 0,35
10	12,50 \pm 0,13	7,21 \pm 0,23	13,97 \pm 0,19
11	12,38 \pm 0,13	7,13 \pm 0,24	14,95 \pm 0,43
12	11,88 \pm 0,20	7,26 \pm 0,20	14,27 \pm 0,45

Tabla 14.- Longitudes larvarias medias, obtenidas en cultivos de 200 larvas por vial, en las poblaciones Dh 73 y BI, a partir de la emergencia hasta el duodécimo día de desarrollo.

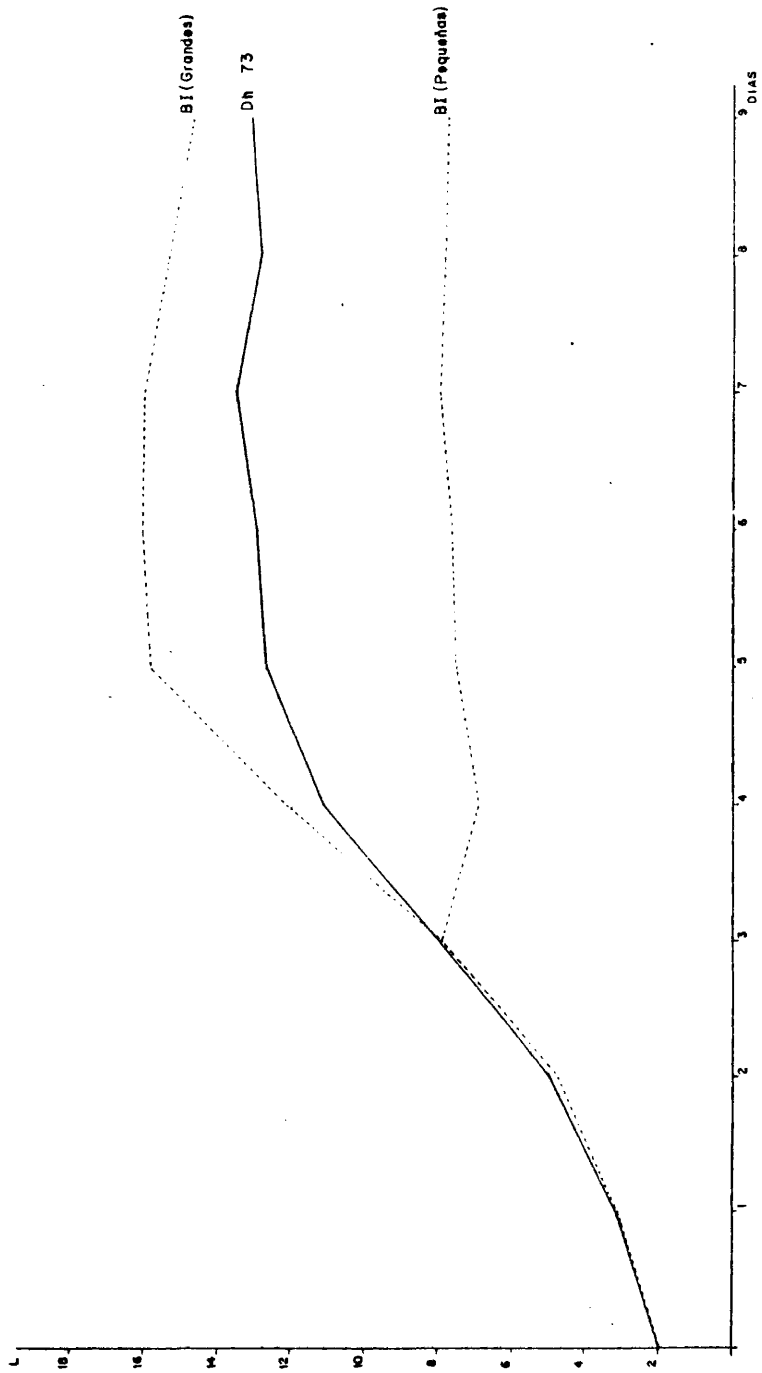


FIG. 16 CURVAS DE CRECIMIENTO LARVARIO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL DE LAS POBLACIONES Dn 73 Y BI



FIG 17 CURVAS DE CRECIMIENTO LARVARIO EN AUSENCIA DE COMPETICION (TRAZO GRUESO) Y EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL DE Dn 73 (TRAZO CONTINUO) Y B1 (TRAZO DISCONTINUO).

de desarrollo las tres gráficas son similares no presentando diferencias significativas. A partir del cuarto día, el crecimiento de las larvas de Dh 73 es mas lento bajo condiciones de competición, y las diferencias - hasta el día 7 son significativas. En condiciones de alta densidad larvaria, en la población BI, como hemos visto, se detecta una escisión de la población larvaria en dos grupos: grandes y pequeñas. El grupo de larvas grandes crece con la misma velocidad que lo hacen las larvas en ausencia de competición, mientras que el grupo de las pequeñas se mantiene esta - cionario sin apenas incrementar su tamaño medio.

De las frecuencias de pupación observadas, en las condiciones experimentales descritas, se deduce que las larvas grandes de la población BI se desarrollan más rápidamente que las de la población Dh 73. - La pupación aparece más precozmente en la población BI siendo el número medio de pupas recuperadas por tubo superior en esta población hasta el día décimo.

La distribución de los tamaños larvarios para ambas poblaciones desde el día 3 al 9, se encuentran representadas en las Figuras 18 a 24. Hasta el tercer día (Figura 18) las distribuciones larvarias de las dos poblaciones son semejantes, pero a partir del cuarto empieza la escisión en larvas grandes y pequeñas en la población BI que da origen a la distribución de frecuencias bimodal. En días sucesivos se mantiene - este tipo de distribución sin que varíe ni la posición de su mínimo ni la de las modas correspondientes a los dos grupos de larvas. Por el contrario, en la población Dh 73, se aprecia un progresivo incremento del - tamaño de las larvas, que mantienen una distribución de frecuencias unimodal con un rango de tamaños semejante al de la población BI.

A partir de los pesos medios calculados para cada clase larva-

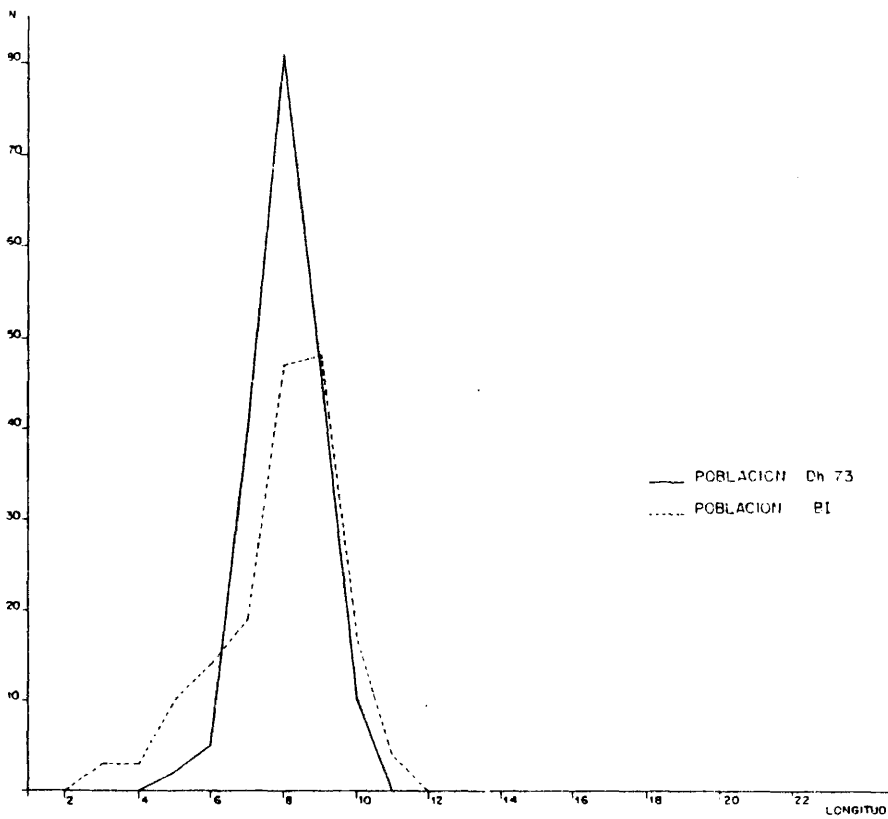


FIG. 18 DISTRIBUCION DE LAS LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS POBLACIONES Dn 73 Y B1 A LOS TRES DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

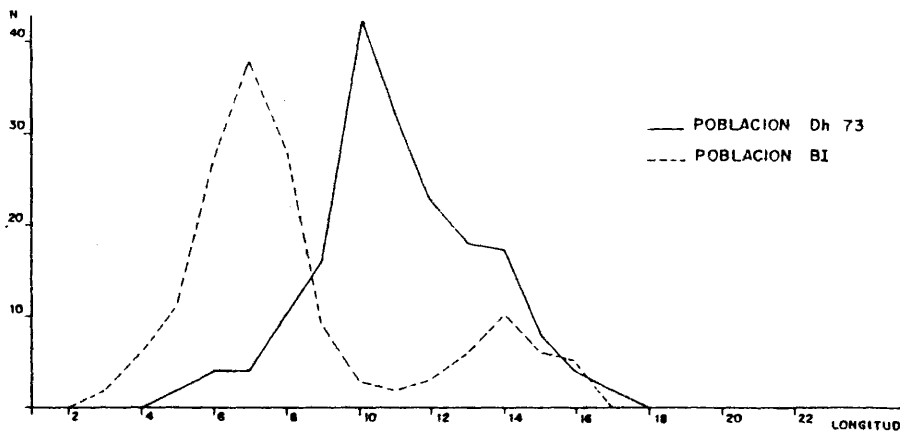


FIG. 19 DISTRIBUCION DE LAS LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y BI A LOS CUATRO DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

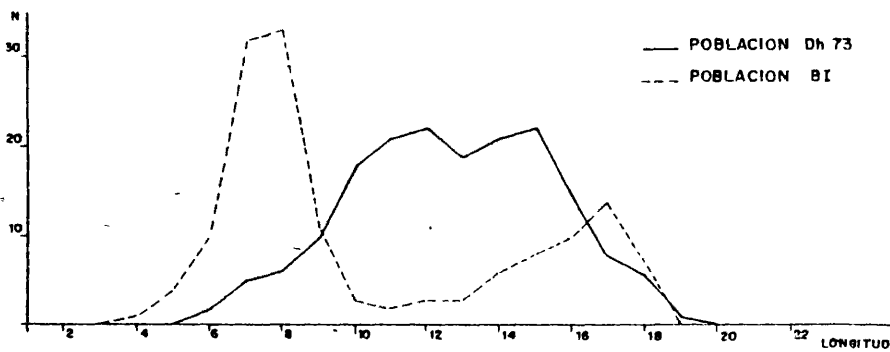


FIG. 20 DISTRIBUCION DE LAS LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y BI A LOS CINCO DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

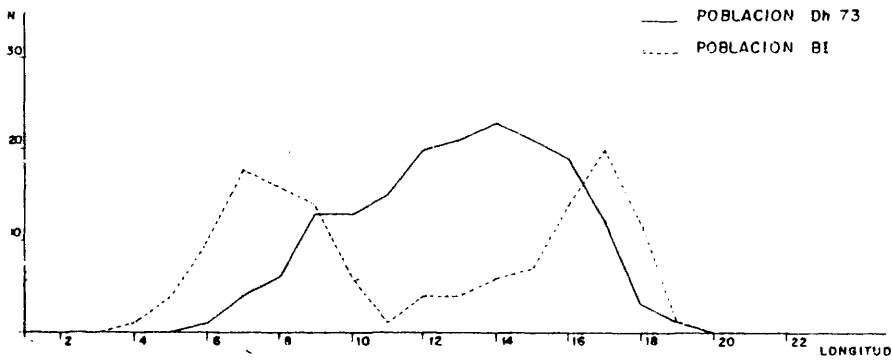


FIG. 21 DISTRIBUCIONES DE LONGITUDES LARVARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y B1 A LOS SEIS DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

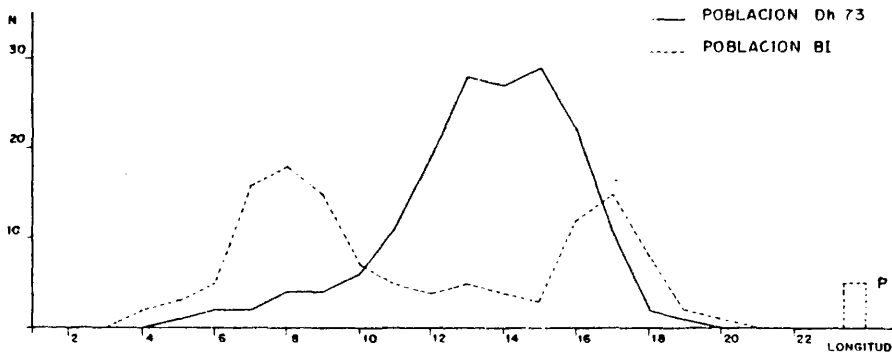


FIG. 22 DISTRIBUCIONES DE LONGITUDES LARVARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y B1 A LOS SIETE DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

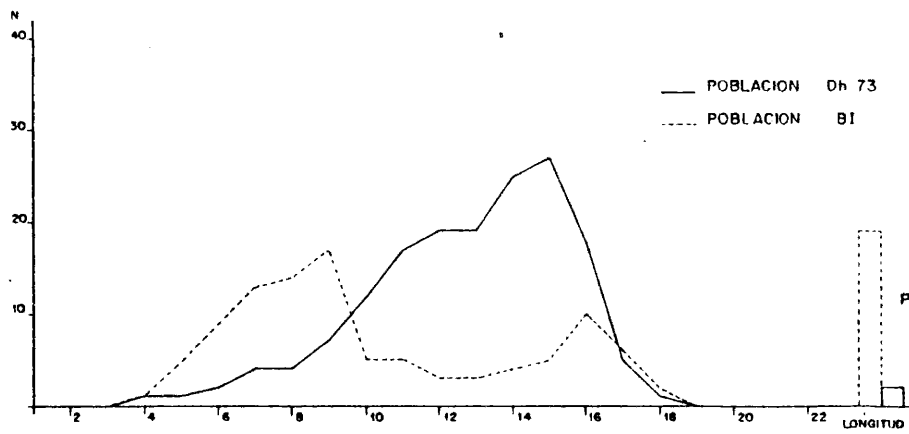


FIG. 23 DISTRIBUCION DE LAS LONGITUDES LARVARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y BI A LOS OCHO DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

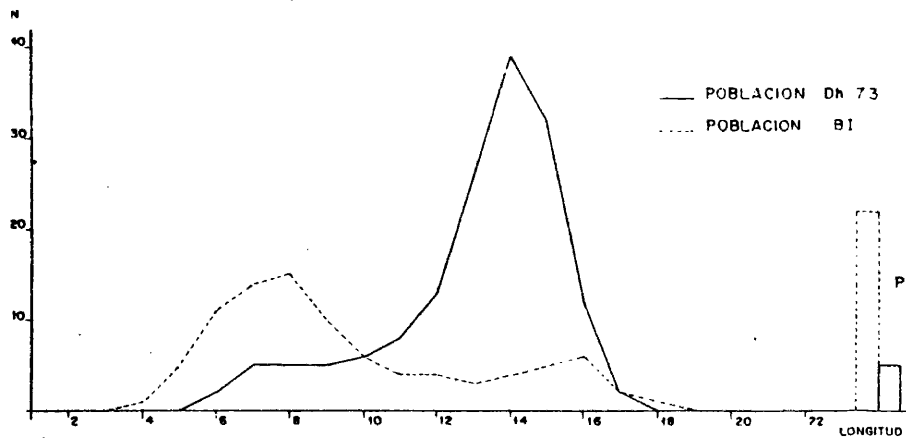


FIG. 24 DISTRIBUCION DE LAS LONGITUDES LARVARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y BI A LOS NUEVE DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

ria se han obtenido las biomásas y los pesos medios totales para cada día de desarrollo. En la población Dh 73 (Tabla 15) la biomasa aumenta rápidamente durante los cuatro primeros días y más lentamente hasta alcanzar su máximo el día séptimo. A partir de este momento se observa un descenso en la biomasa debido a la mortalidad larvaria y a la pupación.

La biomasa y los pesos medios correspondientes a la población BI se encuentran en la Tabla 15. De igual forma que para el análisis de las longitudes larvarias, a partir del cuarto día los cálculos se han realizado independientemente con los grupos de larvas grandes y pequeñas. Durante los tres primeros días el incremento en biomasa es similar al producido en Dh 73. A partir del cuarto día la biomasa en la población BI es aproximadamente la mitad que la encontrada en la población Dh 73, debido a que el peso medio de las larvas pequeñas es unas diez veces inferior al de las grandes, como puede observarse en la Tabla 15.

La segunda muda larvaria en condiciones de baja densidad (ausencia de competición) se produce cuando la larva adquiere un tamaño de 9 unidades, como término medio, presentando poca variación. Esto ocurre entre el tercer y cuarto día de desarrollo. Dado que la bimodalidad de las distribuciones de frecuencias de los tamaños larvarios aparece entre el tercer y cuarto día y que el mínimo de la distribución se centra alrededor de la clase 10, se trató de determinar la relación de los estadios larvarios segundo y tercero con la bimodalidad. Para ello se sembraron 21 viales por cada población con 200 larvas recién emergidas. A partir del tercero, cada día, se extrajeron y lavaron las larvas de tres réplicas. A continuación, bajo el microscopio, y en vivo, se separaron por estadios, se fijaron y midieron. Dado que los caracteres diferenciales de los estadios larvarios no se aprecian con claridad en el material fi-

Días	Dh 73		BI (pequeñas)		BI (grandes)		BI (Total)
	Peso medio	Biomasa	Peso medio	Biomasa	Peso medio	Biomasa	Biomasa
0	0,01	2,01	0,01	1,94	-	-	1,94
1	0,02	4,61	0,02	4,58	-	-	4,58
2	0,09	17,24	0,07	12,90	-	-	12,90
3	0,34	63,60	0,35	58,31	-	-	58,31
4	0,98	177,20	0,23	29,27	1,86	53,91	83,18
5	1,46	257,44	0,29	27,99	2,51	128,09	156,08
6	1,53	263,52	0,31	21,90	2,63	179,36	201,26
7	1,67	281,90	0,36	25,81	2,85	168,05	193,86
8	1,50	245,79	0,35	24,21	3,08	160,23	184,44
9	1,59	254,89	0,33	21,60	3,11	146,11	167,71
10	1,53	238,05	0,28	13,46	2,83	158,35	171,81
11	1,67	250,13	0,30	15,58	3,28	140,98	156,56
12	1,43	210,07	0,29	12,54	3,53	152,02	164,56

Tabla 15.- Pesos larvarios medios, y biomásas totales, obtenidos en cultivos de 200 larvas por vial, en las poblaciones Dh 73 y BI, a partir de la emergencia hasta el duodécimo día de desarrollo.

jado se realizó la separación en vivo.

En la Tabla 16 se recoge la proporción de larvas del 1º y 2º - estadios comparados con la proporción de larvas del 3º mas las pupas, en las dos poblaciones analizadas. En Dh 73, entre el tercer y cuarto día - de desarrollo pasan al tercer estadio larvario el 70 ó 75% de las larvas, y a partir del 7º día el 90% de ellas se encuentran en este estado. Por el contrario en la población BI, el cuarto día de desarrollo unicamente han pasado al tercer estadio entre el 30 ó 37% de las larvas, y en nin - gun caso, a partir del 7º día lo hacen más del 70%.

En las Figuras 25 y 26 se han representado conjuntamente para las dos poblaciones las distribuciones de frecuencias correspondientes - al 2º y tercer estadio respectivamente. En la gráfica correspondiente al tercer estadio se ha representado, en forma de barras, la frecuencia de pupas producidas. En la población Dh 73 las larvas del 2º estadio pueden alcanzar longitudes de hasta 12 unidades, mientras que en BI la máxima - longitud observada es de 10 unidades. El número medio de larvas en el 2º estadio es cuatro veces superior en la población BI.

En el tercer estadio (Figura 26) la mínima longitud observada ha sido de 8 unidades en ambas poblaciones, siendo el número medio de lar - vas en esta fase de desarrollo superior en Dh 73. Por el contrario el nú - mero de pupas formadas, a los siete días, ha sido cuatro veces mayor en la población BI.

V.- Agentes que modifican el desarrollo larvario

Como hemos visto en los apartados anteriores, la competición - producida por la escasez de alimento en los viales, da origen a un retra - so en el desarrollo de la población larvaria, acompañado de un incremen -

DIAS DE DESARROLLO

POBLACION	ESTADIO	DIAS DE DESARROLLO							
		3º	4º	5º	6º	7º	8º	9º	
Dh 73	1º+2º	100	24,6	29,3	14,0	9,9	7,3	10,0	
	3º+P	0	75,4	70,7	86,0	90,1	92,7	90,0	
BI	1º+2º	100	63,1	70,0	39,4	37,5	30,2	26,2	
	3º+P	0	36,9	30,0	60,6	62,5	69,8	73,8	

Tabla 16.- Porcentaje de larvas, distribuidas por estadios, durante los días 3º al 9º de desarrollo, en cultivos de 200 larvas por vial.

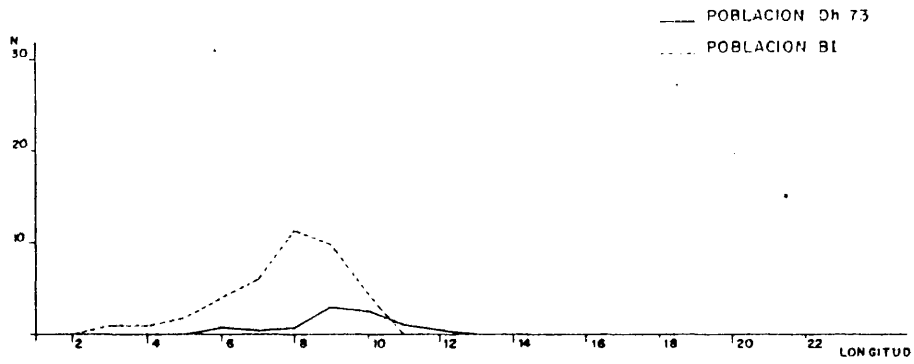


FIG. 25 DISTRIBUCION DE LONGITUDES DE LARVAS DEL SEGUNDO ESTADIO, A LOS SIETE DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y B

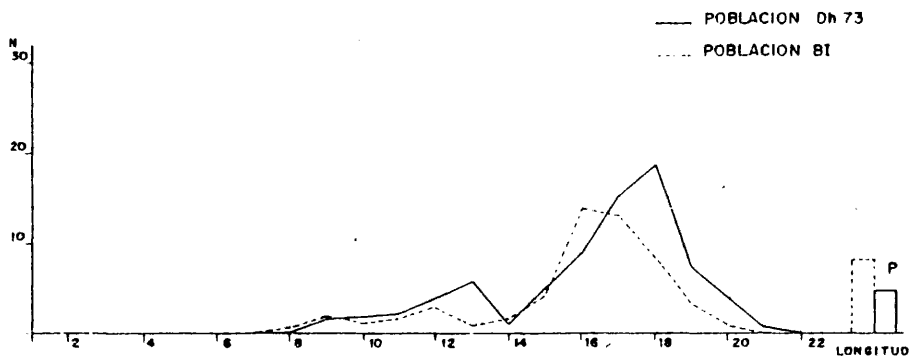


FIG. 26 DISTRIBUCION DE LONGITUDES DE LARVAS DEL TERCER ESTADIO Y PUPAS, A LOS SIETE DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y BI.

to de la varianza, de tal manera que cuando las larvas más avanzadas empiezan a pupar todavía quedan algunas que apenas han crecido desde su emergencia. En la población BI, debido a la distribución bimodal de los tamaños larvarios, la varianza es aun mayor. Un grupo de larvas, a partir del tercer día, frenan su crecimiento dando lugar con este comportamiento a que el grupo de las avanzadas alcance antes la pupación, y lo hagan en mayor número que en la población Dh 73. Este comportamiento hace suponer la existencia de algún mecanismo que, cuando la densidad larvaria es alta, detiene el crecimiento de una cierta proporción de larvas en beneficio del resto, que continúan su desarrollo en condiciones más favorables. Como se vió anteriormente la proporción de larvas frenadas en su desarrollo es dependiente de la densidad, sugiriendo la naturaleza adaptativa de este mecanismo.

Un posible agente cuya densidad en los cultivos es proporcional a la densidad larvaria lo constituye la acumulación de metabolitos excretados al medio por las larvas. Para estudiar su efecto sobre el crecimiento larvario se sembraron 150 larvas recién eclosionadas en viales con 2 c.c. de medio de cultivo, realizándose ocho réplicas para cada una de las poblaciones Dh 73 y BI. Después de cinco días de desarrollo los cultivos fueron congelados a -25°C durante 48 horas con el fin de matar la población larvaria, alterando al mínimo la composición química del medio (Weisbrot, 1966; Dawood y Strickberger, 1969). Una vez descongelados y llevados a una temperatura de 24°C , los viales así condicionados fueron sembrados con 50 larvas recién emergidas. La mitad de los viales condicionados con larvas Dh 73 fueron resembrados con larvas de la población Dh 73 y los cuatro restantes con larvas de la población BI. De igual manera cada mitad de los viales condicionados con larvas BI fueron resembrados

con larvas de cada una de las dos poblaciones en estudio. Simultáneamente se realizaron tres controles de cada población sembrando 50 larvas en viales sin condicionar, sometidos a los mismos procesos de congelación y descongelación.

Las distribuciones de frecuencias obtenidas para cada población en los tres medios: control, condicionado Dh 73 y condicionado BI, se encuentran en la tabla 17 y están representadas en las Figuras 27, 28 y 29. En el medio control las dos poblaciones presentan las distribuciones de cada una de ellas: unimodal en Dh 73 y bimodal en BI. Sin embargo los cultivos en los medios condicionados presentan distribuciones de frecuencias unimodales, tanto en Dh 73 como en BI (Figuras 28 y 29), sin que se aprecien diferencias significativas entre las longitudes medias de ambas poblaciones. En todos los viales con medios condicionados se apreció la existencia de una gruesa capa de levadura viva recubriendo la superficie, que no aparece en los medios no condicionados y que podría explicar los resultados de este experimento.

La cantidad de levadura viva en los cultivos varía relativamente poco, en una observación directa, entre las réplicas realizadas en un determinado momento, pero se observan diferencias considerables entre réplicas efectuadas en diferentes tiempos. A su vez la cantidad de levadura disminuye con la densidad larvaria ya que es el alimento principal de las larvas. Por tanto otro posible agente que actuase sobre el mecanismo que controla el crecimiento larvario podría ser la cantidad de levadura viva en el vial.

Para analizar los efectos de una total ausencia de levadura viva en los cultivos se sembraron 200 larvas recién emergidas en viales con teniendo 2 c.c. de medio de cultivo al que se le adicionó, como inhibidor

Acondicionamiento del medio						
1.	Control		Dh 73		BI	
	Dh 73	BI	Dh 73	BI	Dh 73	BI
21	-	0,33	-	-	-	-
20	-	2,00	-	-	0,25	0,50
19	2,67	1,67	0,25	-	1,50	1,75
18	7,33	9,00	1,00	-	3,50	7,00
17	20,33	6,67	2,75	2,50	8,50	9,25
16	11,33	4,00	8,00	12,25	15,00	12,50
15	2,33	1,00	9,50	12,25	9,25	9,75
14	0,67	0,67	13,00	12,50	4,25	3,75
13	0,33	0,33	9,00	3,25	1,00	1,25
12	0,67	0,67	3,75	1,00	0,25	0,25
11	-	1,33	0,75	0,25	0,25	-
10	-	3,00	0,50	-	0,50	-
9	-	5,33	0,25	-	-	-
8	-	3,67	-	-	-	-
7	-	2,33	-	-	-	-
6	-	1,33	-	-	-	-
TOTAL	45,67	43,33	48,75	44,00	44,25	46,00
\bar{I}	16,77	13,87	14,35	14,87	15,89	16,18
t	10,70***		0,78(N.S.)		0,50(N.S.)	

Tabla 17.- Distribuciones de frecuencias de las longitudes larv^{ar}ias, obtenidas a los siete días de desarrollo en cultivos de 50 larvas por vial en medios de control y condicionados por Dh 73 y BI.

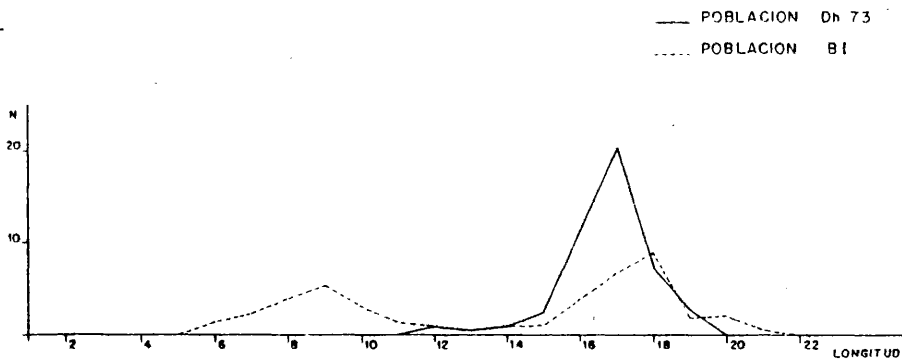


FIG. 27 DISTRIBUCIONES DE LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y B1 EN CULTIVOS DE 50 LARVAS POR VIAL EN MEDIO CONTROL.

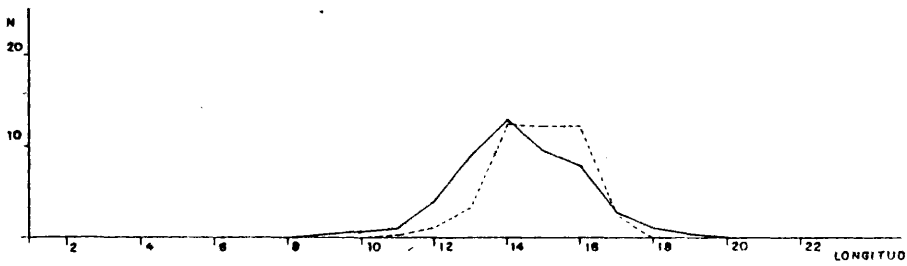


FIG. 28 DISTRIBUCIONES DE LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y B1 EN CULTIVOS DE 50 LARVAS POR VIAL EN MEDIO CONDICIONADO POR Dh 73.

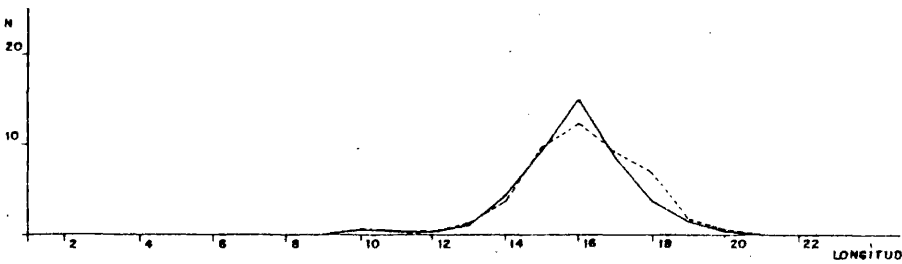


FIG. 29 DISTRIBUCIONES DE LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y B1 EN CULTIVOS DE 50 LARVAS POR VIAL EN MEDIO CONDICIONADO POR B1.

de crecimiento de levaduras, 1 gr. de ácido sórbico por litro (Bell y - Etchells, 1959). Se realizaron tres réplicas para cada población. Después de siete días de desarrollo se extrajeron y midieron las poblaciones larvarias de cada vial, obteniéndose las distribuciones de frecuencias que se recogen en la Tabla 18 y están representadas en la Figura - 30. En estas condiciones, para ambas poblaciones Dh 73 y BI, se observa un marcado retraso en el crecimiento de las larvas que no sobrepasan la clase 10, presentando distribuciones unimodales muy semejantes, con una menor viabilidad de la población BI.

Este retraso o posible parada en el crecimiento de las larvas, que después de siete días de desarrollo no alcanzan tamaños superiores a 9 unidades, puede ser debido tanto a la ausencia de levadura viva como a la adición del ácido sórbico al medio de cultivo. Para excluir como causa principal al efecto del ácido sórbico, se sembraron 6 viales por población, conteniendo 1 gr. de ácido sórbico por litro, con 200 larvas recién emergidas. A tres de los cultivos se les adicionó los días 3º y 4º de desarrollo 0,1 c.c. de suspensión de levadura viva al 20% y a los tres restantes una cantidad igual de suspensión de levadura muerta por ebullición. A los siete días se extrajeron las poblaciones larvarias y se procedió a su fijación y medida. Los resultados se recogen en la Tabla 19. La incorporación de levadura muerta en el medio apenas modifica la distribución de frecuencias encontrada previamente en la población BI (Figura 31), permaneciendo unimodal y con valores nunca superiores a la clase 10. En la población Dh 73 se observa un ligero incremento en el tamaño medio de las larvas, estadísticamente significativo, llegando algunas de ellas a medir hasta 12 unidades.

Cuando se incorpora al medio de cultivo levadura viva los días

Longitud	Dh	73	\bar{x}	BI	\bar{x}
9	-	-	-	-	1 0,33
8	5	2	3	3,33	10 6 3 6,33
7	26	45	46	39,00	35 37 14 28,67
6	42	50	38	43,33	10 29 25 21,33
5	7	13	5	8,33	5 4 12 7,00
4	8	2	1	3,67	- 3 1,00
3	-	1	-	0,33	- - -
T	88	113	93	98,00	60 76 58 64,67

Tabla 18.- Distribuciones de frecuencias de las longitudes larv-
rias obtenidas a los 7 días de desarrollo, en cultivos
de 200 larvas por vial en medio con Acido Sórbito.

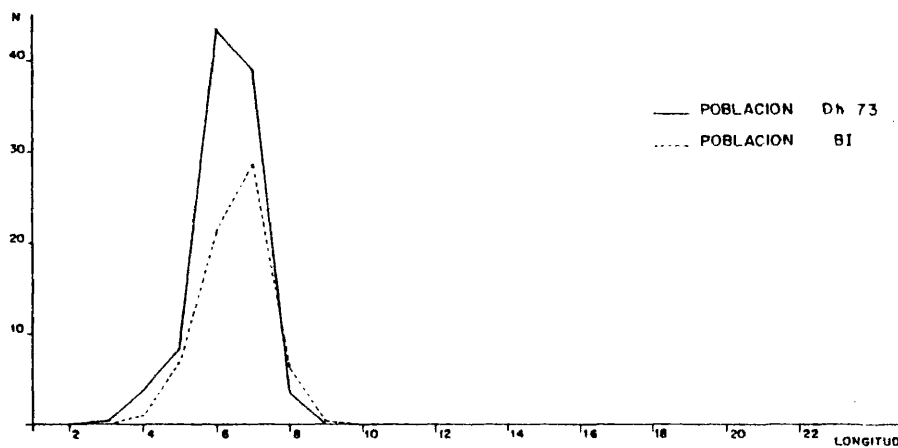


FIG. 30 DISTRIBUCION DE LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y BI EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL EN MEDIO SATURADO DE ACIDO SORBICO.

Longitud	Ac. Sórbito + Levadura muerta			Ac. Sórbito + Levadura viva		
	Dh 73	BI	Longitud	Dh 73	BI	Longitud
18	-	-	18	1	-	0,33
17	-	-	17	2	-	0,67
16	-	-	16	5	3	3,67
15	-	-	15	13	6	12,00
14	-	-	14	15	25	16,33
13	-	-	13	15	10	12,67
12	5	1	12	7	7	7,33
11	13	6	11	7	6	4,33
10	34	35	10	7	7	6,00
9	30	56	9	5	4	4,33
8	13	14	8	1	1	0,67
7	2	4	7	-	-	-
6	-	-	6	-	-	-
5	-	-	5	-	-	-
4	-	-	4	-	-	-
TOTAL	97	116	77	69	59	68,33
		107,00			109	119
					72	100,00

Tabla 19.- Distribuciones de frecuencias de las longitudes larvarias obtenidas a los 7 días de desarrollo en cultivos de 200 larvas por vial en medio con Ac. Sórbito, a las que se ha añadido levadura muerta ó viva.

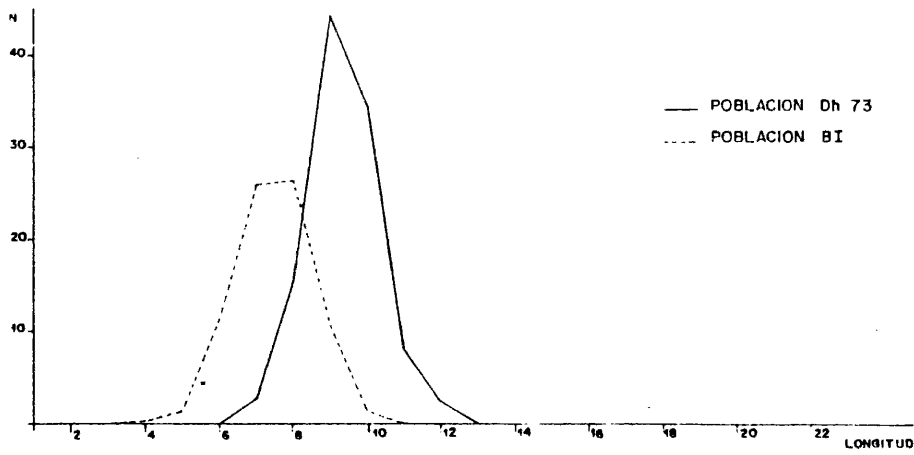


FIG. 31 DISTRIBUCION DE LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 / BI, OBTENIDAS EN CULTIVOS CON LEVADURA MUERTA SOBRE MEDIO CON ACIDO SORBICO

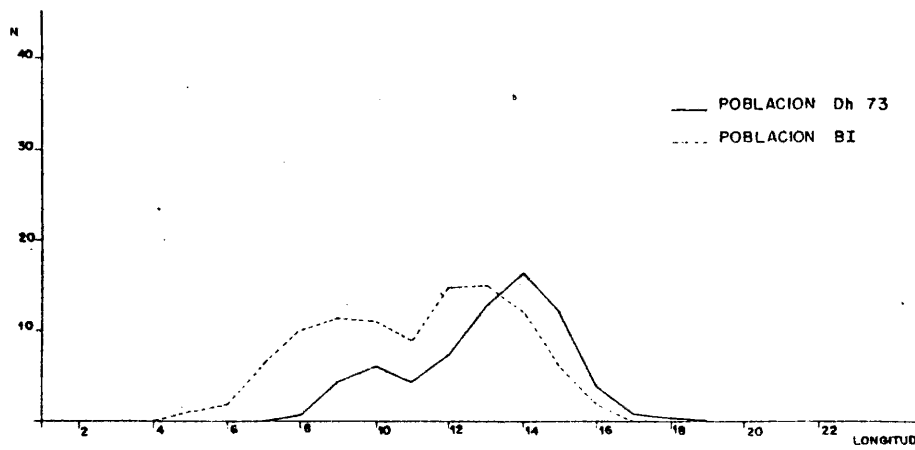


FIG. 32 DISTRIBUCION DE LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 y BI, OBTENIDAS EN CULTIVOS CON LEVADURA VIVA SOBRE MEDIO CON ACIDO SORBICO

tercero y cuarto, se produce un aumento mucho mayor del tamaño de las larvas en las dos poblaciones. De nuevo el incremento medio del tamaño larvario es significativamente mayor en la población Dh 73. Los polígonos de frecuencias, tanto de Dh 73 como de BI modifican su forma adquiriendo una estructura que no llega a ser la bimodal típica (Figura 32). En ambas poblaciones las longitudes larvarias se extienden hasta alcanzar la clase 16.

Las longitudes larvarias medias de las poblaciones Dh 73 y BI en los tres medios de cultivo descritos se han comparado mediante un análisis de la varianza (Tabla 20), resultando significativamente diferentes. En la parte inferior de la Tabla las longitudes medias se han ordenado en orden creciente, encontrándose subrayados los que no difieren según el método de Scheffé, que son únicamente las medias correspondientes a las dos poblaciones en los cultivos con ácido sórbico, y las correspondientes a BI en ácido sórbico solo y con levadura muerta.

VI.- Pupación y emergencia de adultos en competición

Con el fin de analizar cual de los dos comportamientos en el desarrollo larvario, el correspondiente a la población Dh 73, unimodal, o el de la población BI, bimodal, resulta mas ventajoso respecto a la producción de adultos, en situaciones de fuerte competición por el alimento, se sembraron viales con 2 c.c. de medio de cultivo con 200 larvas de las dos poblaciones consideradas. Se realizaron 30 réplicas de cada una, en 24 de las cuales se anotó día a día la secuencia de emergencia de adultos, mientras que de los seis viales restantes se extrajeron las larvas a los siete días de desarrollo, procediéndose a su fijación y medida.

F. de variación	g. l.	S.C.	M.C.	F
Externa	5	109,9	21,95	166,04***
Interna	12	1,6	0,13	(P<0,005)
Total	17	111,4		

Medio de cultivo	Acido Sórbito		Acido sórbico + levadura muerta		Acido sórbico + levadura viva	
	Dh 73	BI	BI	Dh 73	BI	Dh 73
longitudes	<u>6,30</u>	<u>6,51</u>	7,48	9,34	10,99	13,01

Tabla 20.- Análisis de Varianza de las longitudes medias obtenidas de cultivos con levadura muerta y viva sobre medios con Acido sórbico en las poblaciones Dh 73 y BI, y significación de las diferencias entre las medias.

Las distribuciones de frecuencias obtenidas de la media de las seis réplicas reproducen de nuevo las observaciones realizadas anteriormente (Tabla 21 y Figura 33). Aparece una distribución unimodal en la población Dh 73 y otra bimodal en la población BI con el mínimo alrededor de la clase 11 y las modas de las larvas pequeñas y grandes en las clases 7 y 16 respectivamente. En BI se recuperaron a los 7 días, como media, más de 10 pupas por réplica, mientras que en la población Dh 73 solo alcanzaron un valor medio de 0,5. La viabilidad de esta población sin embargo fue de nuevo superior a la encontrada en la población BI.

Los primeros adultos aparecen en ambas poblaciones el día 12 - en alguna de las 24 réplicas (Tabla 22), aunque en número muy reducido - en la población Dh 73 que solo llega a alcanzar una media de 1,33 adultos emergidos, el día 15, mientras que de las réplicas correspondientes a la población BI han aparecido 6,26 en el mismo periodo. La emergencia de adultos continúa hasta el día 22 en la población Dh 73 y hasta el día 24 en la población BI. El número total de adultos es significativamente superior en esta última población y aparecen antes en el tiempo como puede apreciarse gráficamente en la Figura 34.

Estos resultados muestran que en las condiciones experimentales descritas, de alta densidad larvaria, se produce un drástico descenso en la viabilidad huevo-adulto, acompañado de un retraso en el desarrollo. Solo una pequeña proporción de las larvas que se desarrollan son capaces de pupar y producir adultos antes que el medio de cultivo se extinga. Probablemente, debido a la relajación de la competición producida en la población BI, por la parada en el crecimiento de una proporción de sus larvas, la emergencia de adultos es más temprana y en mayor número.

Para analizar la capacidad de llegar a generar adultos, de las

LONGITUD	Dh 73	BI
Pupas	0,50	11,67
20	-	0,17
19	1,00	0,67
18	5,00	2,83
17	12,33	8,17
16	13,33	12,17
15	13,50	7,83
14	13,83	5,17
13	13,17	3,67
12	15,67	3,00
11	13,67	2,00
10	10,50	2,83
9	13,00	6,17
8	10,33	10,33
7	4,33	13,00
6	1,83	8,33
5	0,17	3,67
4	0,17	3,33
3	0,17	1,67
Total	142,50	106,67

Tabla 21.- Distribuciones de frecuencias de las longitudes larvarias, obtenidas a los 7 días de desarrollo en cultivos de 200 larvas por vial, de las poblaciones Dh 73 y BI.

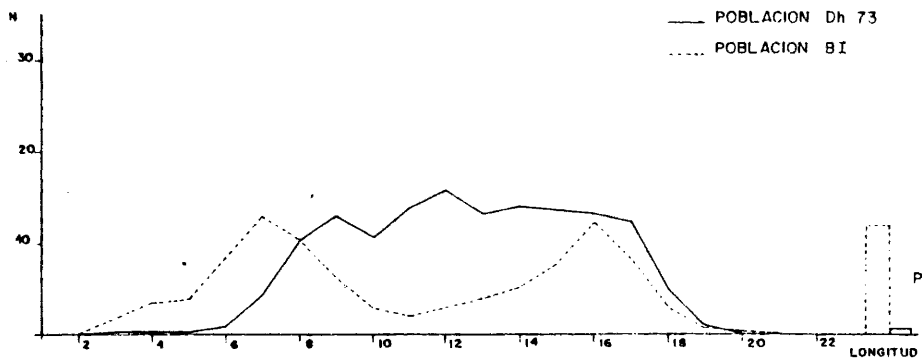


FIG. 33 DISTRIBUCION DE LAS LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS POBLACIONES Dh 73 Y BI, A LOS SIETE DIAS DE DESARROLLO EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

Días	Dh 73		BI	
	N	$\bar{T} \pm E.T.$	N	$\bar{T} \pm E.T.$
12	0,08	0,08±0,08	0,52	0,52±0,20
13	0,13	0,21±0,21	2,15	2,67±0,71
14	0,29	0,50±0,23	1,70	4,37±0,93
15	0,83	1,33±0,34	1,89	6,26±1,01
16	2,00	3,33±0,63	1,93	8,19±1,23
17	4,71	8,04±1,17	3,51	11,70±1,57
18	6,00	14,04±1,68	4,30	16,00±1,93
19	4,59	18,63±1,74	4,33	20,33±2,16
20	2,95	21,58±1,87	4,30	24,63±2,10
21	0,84	22,42±1,83	2,81	27,44±1,95
22	0,21	22,63±1,86	2,04	29,48±1,60
23	-		1,76	31,24±1,46
24	-	22,63±1,86	0,80	32,04±1,47

Tabla 22.- Secuencia de emergencia de adultos y producción acumulada en cultivos de 200 larvas por vial de las poblaciones Dh 73 y BI.

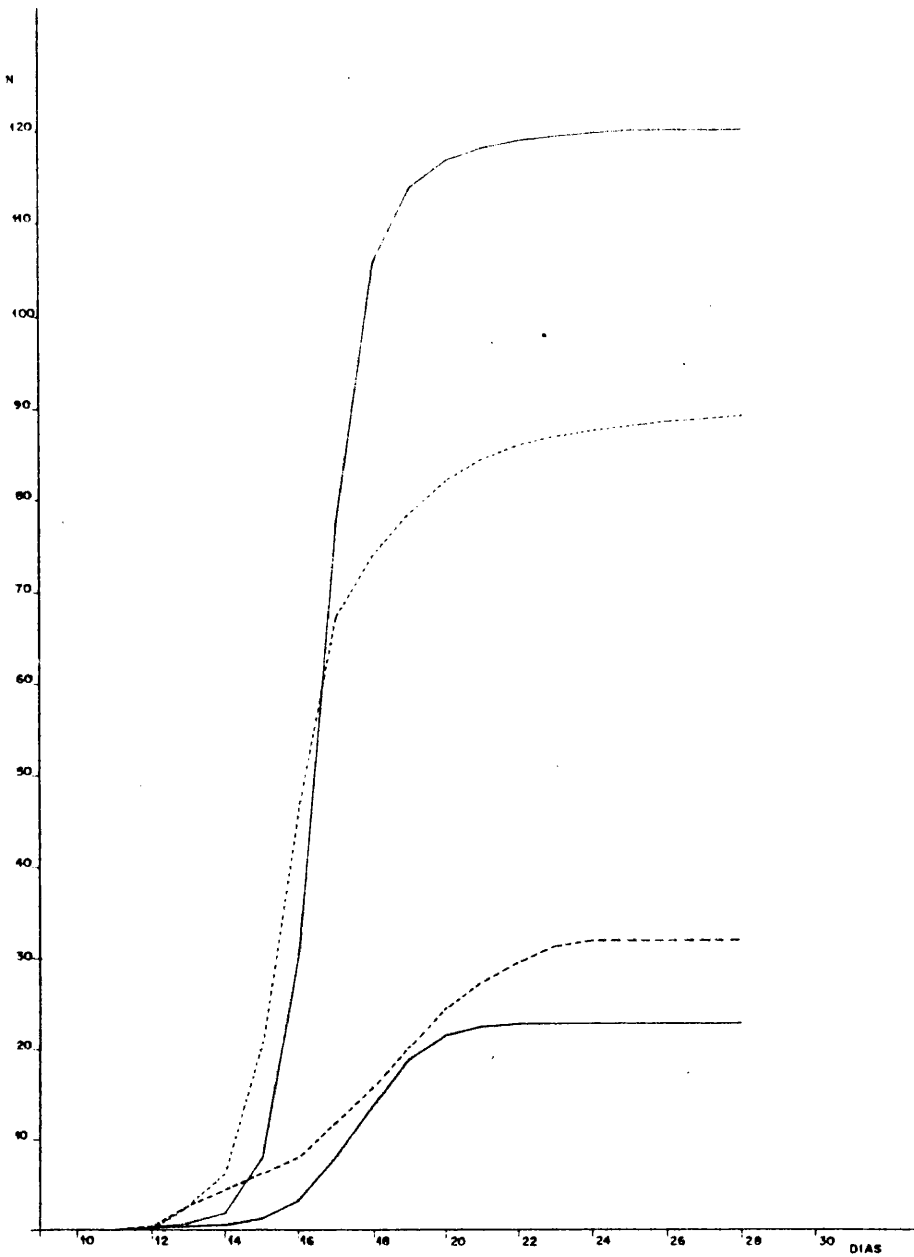


FIG. 34 EMERGENCIA ACUMULADA DE ADULTOS EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL (TRAZO GRUESO), Y EN CULTIVOS TRANSFERIDOS A BOTELLAS (TRAZO FINO), DE LAS POBLACIONES Dn 73 (TRAZO CONTINUO) Y BI (TRAZO DISCONTINUO).

larvas pequeñas, frenadas en su crecimiento, se preparó una nueva serie de viales con 2 c.c. de medio alimenticio en los que se sembraron 200 - larvas, realizándose 14 réplicas para la población Dh 73 y 21 para la - población BI. Después de siete días de desarrollo, en las condiciones - descritas, el medio de cultivo conteniendo las larvas de cada vial fué transferido a botellas conteniendo 50 c.c. de medio, con el objeto de re - bajar la competición por el alimento y el espacio. En cada botella se re - gistró la secuencia de emergencia de adultos, cuyas medias aparecen en - la Tabla 23. Las moscas emergen a partir del día 12 y a los 15 días han nacido tan solo, como término medio, 7,86 adultos de las botellas de la población Dh 73, mientras que en la población BI se registra una media - de 20,84. La emergencia se prolonga hasta el día 25 en Dh 73 y hasta el 28 en la población BI. El número total de adultos producidos de cada bo - tella es significativamente superior en Dh 73 con un total de 120 respec - to al valor medio de 89 que emergen de las botellas de la población BI. En la Figura 34 se representa la emergencia diaria acumulada obtenida de las botellas, conjuntamente con la producida en los viales del experimen - to anterior. La producción total de adultos en botellas es superior en la población Dh 73, pero de la población BI emergen los adultos antes, de - tal manera que su número es significativamente superior hasta el día 16. Esto indica que a los siete días de desarrollo en condiciones de alta - competición existe un grupo de larvas más avanzadas en la población BI - que en la Dh 73, si bien la viabilidad larvaria y consiguientemente el - número de adultos es superior en esta última población.

Tomando como referencia el número de larvas que sobreviven des - pues de siete días de desarrollo en los viales, el porcentaje de adultos que emergen posteriormente en las botellas es similar en Dh 73 y en BI

Día	Dh 73		BI	
	N	$\bar{T} \pm E.T.$	N	$\bar{T} \pm E.T.$
12	0,08	0,08±0,08	0,21	0,21±0,13
13	0,71	0,79±0,36	2,53	2,74±0,64
14	1,15	1,86±0,81	3,42	6,16±0,88
15	6,00	7,86±2,54	14,68	20,84±1,88
16	22,57	30,43±6,08	25,74	46,58±2,82
17	47,00	17,42±6,11	20,68	67,26±3,77
18	28,57	106,00±3,82	6,85	74,11±4,08
19	8,00	114,00±4,34	4,47	78,58±4,00
20	3,00	117,00±4,72	3,63	82,21±4,02
21	1,50	118,50±4,94	2,37	84,58±3,99
22	0,64	119,14±5,03	1,53	86,11±4,04
23	0,65	119,79±5,12	0,89	87,00±4,07
24	0,14	119,93±5,12	0,68	87,68±4,07
25	0,14	120,07±5,04	0,27	87,95±4,05
26	-		0,37	88,32±4,05
27	-		0,34	88,66±4,05
28	-	120,07±5,04	910	88,76±4,25

Tabla 23.- Secuencia de emergencia de adultos y producción acumulada en cultivos de 200 larvas por vial transferidas a los siete días a botellas.

con un 84% y 83% respectivamente (Tabla 24). Para determinar en que proporción puede ser atribuida a mortalidad larvaria la diferencia hasta el 100%, se procedió al recuento de las pupas producidas en cada botella, - una vez que finalizó la emergencia de adultos. Los resultados muestran - que en ambas poblaciones llegaron a pupar un porcentaje superior al 96% de las larvas que fueron transferidas a las botellas. Consiguientemente es la mortalidad de pupas el componente fundamental que reduce el número de adultos emergidos.

Cuando las poblaciones larvarias permanecen en los viales con 2 c.c. de medio de cultivo, el porcentaje de adultos emergidos en la población BI es aproximadamente el doble que en Dh 73, indicando una ventaja adaptativa de esta población en condiciones de saturación. Para determinar si esta ventaja en la utilización del alimento de la población BI se expresaba a mayores densidades, se incrementó aún más la relación del número de larvas respecto a la cantidad de alimento. En los viales de 2 c.c. de medio de cultivo se requería la obtención simultánea de un gran número de larvas para incrementar los niveles ya probados, por lo que se optó por reducir el volumen del medio de cultivo así como la utilización de viales de tamaño reducido con 0,4; 0,3 y 0,2 c.c. de alimento. En cada vial se sembraron 50 larvas recién emergidas, que equivalen a unas densidades de 250, 333 y 500 larvas por vial con 2 c.c. de medio de cultivo respectivamente, aunque también resulta modificada la relación superficie-volumen en los cultivos. Se realizaron seis réplicas de cada concentración para Dh 73 y cinco para BI.

Los viales fueron mantenidos en una atmósfera saturada de humedad durante todo el experimento, para evitar la desecación del pequeño - volumen de medio. Cada día se registraron las pupas producidas, retirando

	Dh 73		BI	
	$\bar{N} \pm E.T.$	%	$\bar{N} \pm E.T.$	%
Nº de larvas a los 7 días	142,50±7,47	100,00	106,67±7,33	100,00
Nº de pupas en botellas	138,38±6,33	97,45	102,37±3,76	95,97
Nº de adultos en botellas	120,07±5,04	84,26	88,76±4,25	83,21
Nº de adultos en vidales	22,63±1,86	15,88	32,04±1,47	29,40

Tabla 24.- Porcentajes de pupación y emergencia de adultos referidos a la población larvaria presente al 7º día de desarrollo.

dose estos a nuevos viales para estimar la duración del periodo pupal y su viabilidad. En la Tabla 25 se recogen los resultados expresados como valores medios. En las tres concentraciones analizadas la pupación comienza de nuevo mas precozmente en la población BI y se prolonga por mas tiempo. No se observó ninguna pupa en el 50% de los viales con 0,3 c.c. de medio de cultivo, y en el 75% de los viales con 0,2 c.c. de la población Dh 73, mientras que en todos los viales de la población BI se observaron pupas (Tabla 26). El porcentaje de pupación de la población BI es para todas las densidades significativamente superior al encontrado en la población Dh 73 .

La duración del periodo pupal no parece ser afectada por la concentración larvaria ni por las diferencias encontradas entre las dos poblaciones , obteniendose a partir del conjunto de resultados un periodo pupal medio de $5,23 \pm 0,07$ dias.

VII.- Competición en cultivos larvarios mixtos entre las poblaciones Dh73 y BI

En los apartados anteriores se ha estudiado las modificaciones en el desarrollo larvario, producidos por la limitación del alimento, en dos poblaciones Dh 73 y BI. Los resultados muestran una posible ventaja ecológica del comportamiento generador de la bimodalidad en la población larvaria, en condiciones de competición intraespecífica. En este apartado se analiza la capacidad competitiva de las larvas de ambas poblaciones - cuando compiten entre si en el mismo medio de cultivo.

Para ello es necesario identificar los individuos de cada población. A nivel larvario y pupal la diferenciación no ha sido posible por carecer de marcadores en dichos estados de desarrollo. Un mutante del --

Día	0,4 c.c.				0,3 c.c.				0,2 c.c.			
	Dh. 73		BI		Dh. 73		BI		Dh. 73		BI	
	N	T	N	T	N	T	N	T	N	T	N	T
8	-	-	0,40	0,40	-	-	-	-	-	-	-	-
9	0,67	0,67	1,40	1,80	-	-	0,40	0,40	-	-	-	-
10	2,33	3,00	2,00	3,80	0,17	0,17	2,20	2,60	-	-	0,20	0,20
11	0,67	3,67	3,80	7,60	0,33	0,50	3,40	6,00	-	-	-	0,20
12	0,50	4,17	1,80	9,40	0,17	0,67	3,40	0,40	0,17	0,17	1,60	1,80
13	0,50	4,67	2,80	12,20	-	-	0,60	10,00	-	0,17	0,20	2,00
14	-	-	1,80	14,00	-	-	0,80	10,80	-	0,17	0,20	2,00
15	-	-	0,60	14,00	-	-	-	10,80	-	0,17	0,20	2,20
16	-	-	-	-	-	-	0,20	11,00	-	-	-	-

Tabla 25.- Secuencia de pupación y número acumulado de pupas en cultivos de 50 larvas por vial con 0,4; 0,3 y 0,2 c.c. de medio de cultivo.

POBLACIONES	REPLICAS										$\bar{X} \pm E.T.$	VIABILIDAD
Dh 73	0,4 c.c.	6	3	5	1	8	5	4,67±0,99	9,34			
	0,3 c.c.	-	1	-	2	-	1	0,67±0,33	1,33			
	0,2 c.c.	1	-	-	-	1	-	0,33±0,21	0,67			
BI	0,4 c.c.	23	7	19	10	14	14,60±2,91	29,20				
	0,3 c.c.	14	12	6	15	8	11,00±1,73	22,00				
	0,2 c.c.	4	3	3	1	1	2,40±0,60	4,80				

Tabla 26.- Número de pupas producidas en cada réplica y densidad por las poblaciones Dh 73 y BI.

color de ojos que denominamos guinda y que apareció en la descendencia - de una hembra, procedente de la misma captura de la que derivó la población BI, ha sido usado como marcador de dicha población .

En viales con 2 c.c. de medio de cultivo se sembraron 100 larvas recién emergidas de la población Dh 73 junto con otras 100 de la población BI (guinda), realizándose siete replicas. Simultáneamente se sembraron tres viales de cada una de las poblaciones Dh 73, BI y BI (guinda) - con 200 larvas. De estas tres series de cultivos simples se extrajeron - las larvas a los 7 días de desarrollo. Las distribuciones de frecuencias se encuentran en la Tabla 27 y se han representado gráficamente en la figura 35, manteniéndose las características típicas de las distribuciones unimodales en la población Dh 73 y bimodales en las poblaciones BI y BI (guinda). La diferenciación en el número de larvas recuperadas en las dos últimas poblaciones es pequeña, por lo que podemos considerar que la introducción del marcador fenotípico guinda no reduce la viabilidad de las larvas ni altera la respuesta bimodal.

De los siete cultivos mixtos se analizó la secuencia de emergencia de los adultos, día a día, anotando separadamente los fenotipos salvaje y guinda. Los resultados obtenidos se encuentran en la Tabla 28. Los adultos no empiezan a nacer hasta el día 15, siendo desde el principio significativamente superior el número de individuos procedentes de la población Dh 73, que alcanzan un número total tres veces superior al encontrado en BI (guinda).

Para comprobar si esta superioridad competitiva de la población Dh 73 se mantiene en concentraciones larvarias superiores y como afecta el resultado la proporción relativa de larvas que compiten en el mismo cultivo, se sembraron en viales pequeños con 0,3 c.c. de medio de cultivo,

Longitud	Dh 73	BI	BI (Guinda)
20	1,67	1,67	1,33
19	6,33	8,33	5,67
18	14,67	12,33	10,33
17	20,00	7,33	13,33
16	23,33	3,67	10,67
15	21,33	2,33	8,33
14	23,67	2,67	5,67
13	15,33	2,00	3,33
12	14,00	1,67	4,00
11	9,33	2,67	8,33
10	6,33	9,33	13,67
9	8,00	27,67	25,33
8	8,67	28,67	23,00
7	5,00	18,67	13,67
6	3,00	9,67	4,67
5	2,67	8,33	3,00
4	0,67	2,00	2,00
3	-	-	0,33
T	184,00±5,52	149,00±2,55	156,67±1,47

Tabla 27.- Distribuciones de frecuencias de las longitudes larvarias, obtenidas a los siete días de desarrollo, en cultivos de 200 - larvas por vial, de las poblaciones Dh 73, BI y BI (Guinda).

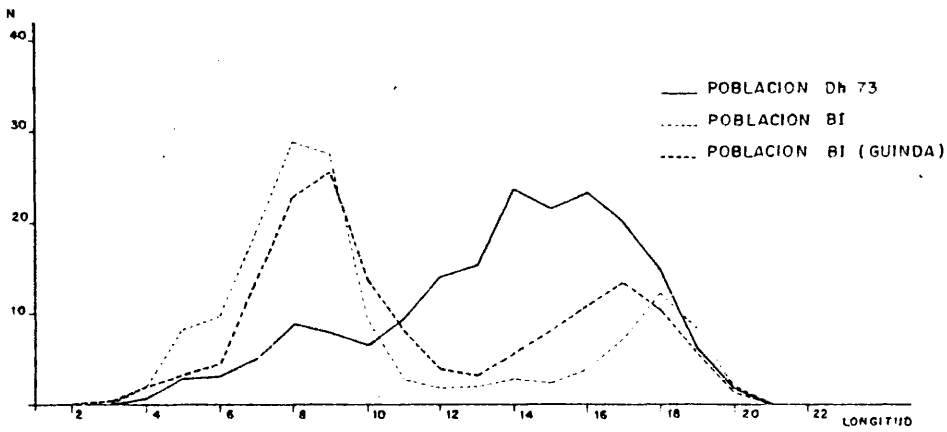


FIG. 35 DISTRIBUCIONES DE LONGITUDES LARVIARIAS, DE LAS POBLACIONES Dh 73, BI Y BI (GUINDA), EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

Días	Dh 73		BI (Guinda)	
	N	T ± E.T.	N	T ± E.T.
15	2,43	2,43±0,74	0,71	0,71±0,45
16	6,00	8,43±1,22	2,71	3,43±0,85
17	6,29	14,71±1,76	1,43	4,86±1,12
18	5,86	20,57±2,64	1,43	6,29±1,20
19	2,43	23,00±3,40	0,29	6,57±1,08
20	0,57	23,57±3,33	0,43	7,00±1,11
21	0,57	24,14±3,48	0,14	7,14±1,07
22	0,14	24,29±3,60	0,29	7,43±1,13
23	0,14	24,43±3,63	0,14	7,57±1,10
27			0,14	7,71±1,10
29	0,14	24,57±3,59		
31			0,14	7,86±1,16
32			0,14	8,00±1,20

Tabla 28.- Secuencia de emergencia de adultos y producción acumulada en cultivos mixtos con 100 larvas Dh 73 y 100 larvas BI (Guinda).

50 larvas recién emergidas de las dos poblaciones en las proporciones que aparecen a la izquierda en la Tabla 29.

Simultáneamente se sembraron en las mismas condiciones larvas de la población BI (guinda) y BI (Tabla 30).

Todos los cultivos fueron mantenidos en una atmosfera saturada de humedad, registrándose diariamente el número de adultos emergidos procedentes de cada población. La emergencia de adultos de los cultivos de Dh 73 en competencia con BI (guinda) se encuentran en la Tabla 29. En la columna correspondiente a Dh 73 se aprecia como el porcentaje de larvas que alcanzan el estado adulto crece a medida que disminuye la fracción de larvas de la población Dh 73 en cultivos mixtos, alcanzándose un valor máximo cuando en cada vial sólo hay cinco larvas de esta población, de las que emergen el 76%.

Por el contrario el porcentaje de emergencia de BI (guinda) se incrementa a medida que aumenta la proporción de sus larvas en los cultivos y es máxima cuando sólo se desarrollan 50 larvas BI (guinda) en los viales. Consiguientemente si observamos los valores totales a la derecha de la Tabla 29, sin diferenciar la población de origen, observamos un continuo incremento en la viabilidad a medida que aumenta la proporción de larvas BI (guinda), cuya interpretación, sin embargo, no es que esta población tenga una capacidad competitiva superior.

En la Tabla 30 se recogen los resultados de emergencia obtenidos en los cultivos donde se sembraron larvas de las poblaciones BI y BI (guinda). La diferencia de viabilidad entre estas dos poblaciones, cuando se siembran 50 larvas en 0,3 c.c. de medio de cultivo, es significativa y la ventaja competitiva dentro de la población BI (guinda) se mantiene cuando compete con la otra población, produciendo casi dos veces más adultos que

Dh 73 + BI(guinda)	R	Dh 73		BI(guinda)		TOTAL	
		N ± E.T.	%	N ± E.T.	%	N ± E.T.	%
50	5	1,40±0,84	2,80	-	-	1,40±0,84	2,80
45 + 5	15	2,13±0,54	4,73	0,07±0,07	1,40	2,20±0,58	4,40
35 + 15	10	2,20±0,66	6,29	0,20±0,14	1,33	2,40±0,69	4,80
25 + 25	10	3,40±0,85	13,60	0,50±0,18	2,00	3,90±0,91	7,80
15 + 35	10	5,10±1,31	34,00	2,70±0,67	7,71	7,80±1,37	15,00
5 + 45	15	3,80±0,35	76,00	5,20±0,45	11,56	9,00±0,66	18,00
50	5	-	-	10,80±0,65	21,60	10,80±0,65	21,00

Tabla 29.- Producción de adultos en viales con 0,3 c.c. de medio de cultivo, obtenidos en cultivos de 50 larvas de las poblaciones Dh 73, BI(guinda) y mixtas (R= número de réplicas).

BI + BI(Guinda)	R	BI		BI(Guinda)		TOTAL	
		N ± E.T.	%	N ± E.T.	%	N ± E.T.	%
50	5	5,40±1,38	10,80	-	-	5,40±1,38	10,80
25 + 25	5	2,20±0,42	8,80	6,40±0,91	35,60	8,50±0,97	17,20
50	5	-	-	10,80±0,65	21,60	10,80±0,65	21,60

Tabla 30.- Producción de adultos en viales con 0,3 c.c. de medio de cultivo, obtenidos en cultivos de 50 larvas de las poblaciones BI, BI (Guinda) y mixtas. (R= número de réplicas).

la población BI.

VIII.- Base genética del desarrollo larvario bimodal

Las diferencias en el desarrollo larvario de las dos poblaciones analizadas Dh 73 (unimodal) y BI (bimodal), en condiciones de alta densidad larvaria son claras, y se manifiestan en diferentes situaciones ambientales. Su naturaleza genética, por el contrario, es difícil de analizar experimentalmente, debido a que se manifiesta el carácter en población y no en el individuo. Para estudiar si un individuo posee un genotipo determinante de la respuesta bimodal, es preciso expandir su descendencia en un mínimo de dos generaciones, debido a que es necesario obtener, sincronicamente, un elevado número de larvas recién emergidas, y no es suficiente la producción de una sola hembra. Esto lleva consigo la necesidad de cruzar al individuo con una pareja determinada y a su vez cruzar a su descendencia para llegar a la F_2 . Solo cuando la pareja posee el mismo genotipo homocigótico obtendremos una descendencia homogénea, sino aparece en la F_2 una segregación, con larvas de diferentes genotipos sin distinción fenotípica posible. La dificultad experimental se ve acrecentada a su vez por el enorme trabajo que representa el que por cada determinación genética de un individuo habrá que contar, fijar y medir un mínimo de 600 larvas en la F_2 .

Debido a que las determinaciones del comportamiento que genera las distribuciones bimodales de los tamaños larvarios, en condiciones de alta densidad, se realizan a un nivel poblacional con una muestra de larvas obtenida de la población, es necesario primero averiguar si la respuesta se debe a una heterogeneidad genética de la población o a la genuina norma de reacción de un genotipo. Si la separación a partir del

cuarto día de desarrollo en un grupo de larvas de desarrollo rápido (grandes) y otro de desarrollo lento (pequeñas) fuera debido a la presencia en población de variación genética para la velocidad del desarrollo de las larvas, este resultado experimental desaparecería al analizar líneas puras, genéticamente homogéneas.

Para probar que la respuesta larvaria bimodal no se debe a heterogeneidad genética de la población larvaria, se formaron a partir de hembras fecundadas de cada una de las poblaciones Dh 73 y BI líneas independientes, en las que cada generación se forma por el cruzamiento de una pareja de hermanos completos, manteniéndose el proceso durante 20 generaciones. Se obtuvieron así líneas con coeficientes de endogamia $F = 0,986$ y una probabilidad de fijación de $0,975$ (Falconer, 1970), de las que se han analizado 10 líneas procedentes de la población BI y 6 de la población Dh 73.

De cada una se sembraron tres réplicas de 200 larvas en vial con 2 c.c. de medio de cultivo, que fueron fijadas y medidas a los siete días de desarrollo. Las distribuciones de frecuencias de tamaños larvarios correspondientes a las líneas Dh 73 y BI se encuentran en las Tablas 31 y 32 respectivamente.

Las longitudes medias obtenidas para cada línea son significativamente diferentes en Dh 73 (Tabla 33) y en BI (Tabla 34), así como las viabilidades absolutas (Tablas 35 y 36). El alto valor de la varianza externa detectado en el análisis se debe, en gran medida, a que las estimaciones de las distintas líneas se realizaron en diferentes momentos, y no sincronicamente como sería deseable. Parte de las variaciones, sin embargo, pueden ser debidas a diferencias genéticas surgidas en el proceso dispersivo de la endogamia, especial

LINEAS ENDOGAMAS Dh 73						
Longitud	a	b	c	d	e	f
20	-	0,67	1,00	0,33	0,67	5,00
19	-	6,33	4,67	1,67	1,67	12,00
18	1,67	8,67	7,33	5,33	9,33	23,00
17	3,67	19,00	12,33	11,33	85,00	12,00
16	16,67	24,67	4,00	31,67	41,33	13,67
15	20,33	21,00	34,00	32,67	30,67	7,00
14	22,67	20,67	30,00	25,00	25,33	8,33
13	24,67	14,00	19,33	20,33	14,67	6,00
12	27,67	12,00	16,67	13,67	6,33	4,00
11	11,00	9,67	9,00	8,33	5,67	4,67
10	8,33	5,67	7,67	8,33	4,00	4,33
9	5,67	4,33	5,33	8,00	2,67	4,33
8	1,67	2,00	3,00	4,00	1,67	3,33
7	0,67	2,33	1,67	1,00	1,00	2,33
6	-	0,33	-	0,67	0,33	0,33
5	-	-	-	0,33	-	-
TOTAL	144,33	152,33	173,00	172,33	170,33	110,33

Tabla 31.- Distribuciones de frecuencias de las longitudes larvarias, obtenidas a los siete días de desarrollo en cultivos de 200 larvas por vial, de las líneas endogamas Dh 73

LINEAS ENDOGAMAS

Longitud	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
20	-	-	-	-	-	-	2,00	4,33	2,67	-
19	0,33	-	4,33	0,33	-	0,67	6,67	4,67	4,67	1,67
18	1,00	-	9,67	0,67	-	8,33	10,00	12,67	11,33	10,67
17	11,00	0,33	12,00	1,00	0,67	12,67	12,67	8,67	11,67	19,67
16	25,00	1,67	10,33	5,00	11,33	16,67	5,00	6,67	10,33	16,67
15	16,67	10,67	8,67	12,67	15,33	8,00	1,33	4,67	4,67	7,33
14	6,33	8,00	7,33	16,33	12,33	6,67	2,67	2,67	4,00	5,33
13	3,00	11,67	5,00	7,67	4,00	4,67	1,33	1,67	1,33	1,67
12	1,00	3,67	4,33	4,33	1,00	2,00	1,33	8,00	5,00	2,67
11	2,00	4,67	3,33	4,33	1,33	11,00	4,00	23,33	11,00	6,00
10	2,67	6,33	12,67	5,00	13,00	32,67	14,67	27,67	23,00	9,67
9	33,00	14,00	26,67	25,00	29,33	37,33	19,33	23,00	25,33	21,00
8	36,00	19,67	23,33	30,67	48,00	24,33	21,67	11,33	20,00	22,67
7	16,67	23,00	12,00	22,67	26,67	12,33	13,00	6,00	10,00	11,67
6	6,00	20,00	7,67	8,00	9,38	5,67	7,67	4,33	5,00	4,00
5	1,00	6,00	5,33	3,67	4,67	3,33	2,33	1,33	3,33	1,33
4	0,67	1,67	2,00	0,33	2,67	-	0,67	1,00	0,67	-
TOTAL	162,33	124,67	154,67	147,67	179,67	186,33	126,33	152,00	153,67	142,00

Tabla 32.- Distribuciones de frecuencias de las longitudes larvarias, obtenidas a los siete días de desarrollo en cultivos de 200 larvas por vial, de las líneas endógamas BI.

<u>Fuente de variación</u>	<u>g.l.</u>	<u>S.C.</u>	<u>M.C.</u>	<u>F</u>
Externa	5	8,07	1,61	15,68* * *
Interna	12	1,23	0,10	(p<0,001)
TOTAL	17	9,30		

$V_I = 0,10$ $V_E = 0,50$

Tabla 33.- Análisis de varianza de las longitudes medias obtenidas en cultivos de 200 larvas por vial en líneas endógamas Dh 73.

<u>Fuente de variación</u>	<u>g.l.</u>	<u>S.C.</u>	<u>M.C.</u>	<u>F</u>
Externa	9	26,61	2,96	13,04* * *
Interna	20	4,53	0,22	(p<0,001)
TOTAL	29	31,14		

$V_I = 0,22$ $V_E = 0,91$

Tabla 34.- Análisis de varianza de las longitudes medias, obtenidas en cultivos de 200 larvas por vial en las líneas endógamas BI.

<u>Fuente de variación</u>	<u>g.l.</u>	<u>S.C.</u>	<u>M.C.</u>	<u>F</u>
Externa	5	8.899,78	1.799,95	67,31***
Interna	12	317,33	26,44	(p<0,001)
TOTAL	17	9.217,11		

$$V_I = 26,44 \quad V_E = 591,17$$

Tabla 35.- Análisis de varianza de las viabilidades absolutas, obtenidas en cultivos de 200 larvas por vial, en las líneas endógamas Dh 73.

<u>Fuente de variación</u>	<u>g.l.</u>	<u>S.C.</u>	<u>M.C.</u>	<u>F</u>
Externa	9	10.720,70	1.191,19	38,76***
Interna	20	614,67	30,73	(p<0,001)
TOTAL	29	11.335,37		

$$V_I = 30,73 \quad V_E = 386,82$$

Tabla 36.- Análisis de varianza de las viabilidades absolutas, obtenidas en cultivos de 200 larvas por vial en las líneas endógamas BI.

mente las que aparecen al estudiar la viabilidad.

Esta diferenciación entre líneas no afecta por el contrario al tipo de distribución de los tamaños larvarios de las dos poblaciones. Las líneas procedentes de la población Dh 73 (Figura 36) muestran siempre una distribución unimodal de sus larvas, mientras que las líneas de la población BI (Figuras 37 y 38) dan gráficas típicamente bimodales. Las variaciones encontradas son similares a las observadas en estimaciones efectuadas no simultáneamente a partir de las poblaciones base.

La aparición de distribuciones de los tamaños larvarios - en las líneas endógamas, semejantes a las encontradas en las poblaciones Dh 73 y BI, constituye un claro argumento para suponer que la respuesta bimodal se debe a una norma de reacción de un determinado genotipo, frente a la alta densidad larvaria. La población Dh 73 estaría integrada por individuos de genotipo diferente que no responde a las condiciones de competición larvaria de dicha forma peculiar.

Las diferencias en el comportamiento de las larvas en las dos poblaciones analizadas Dh 73 y BI podría deberse, en el modelo más simple, a diferencias alélicas dentro de un gen que regularía el crecimiento larvario. El alelo presente en la población BI daría lugar, en condiciones de alta densidad, a la parada del crecimiento de las larvas que no hubieran superado un cierto estadio al empobrecerse el alimento. El alelo presente en la población Dh 73 no respondería a este estímulo frenando el crecimiento y las larvas continuarían su desarrollo hasta agotar el alimento disponible.

Si este fuera el modelo de la base genética del carácter,

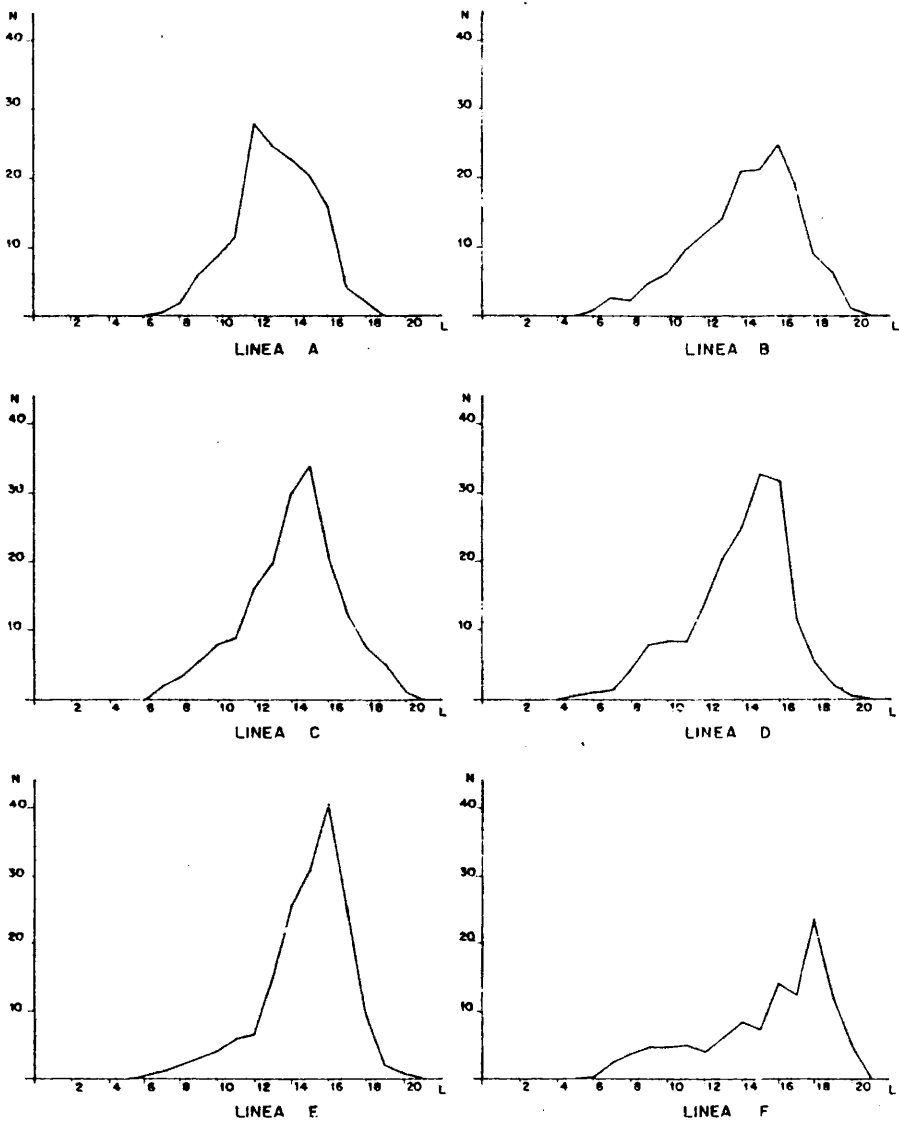


FIG. 36 DISTRIBUCIONES DE LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS LINEAS ENDOGAMAS Dh 73 EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

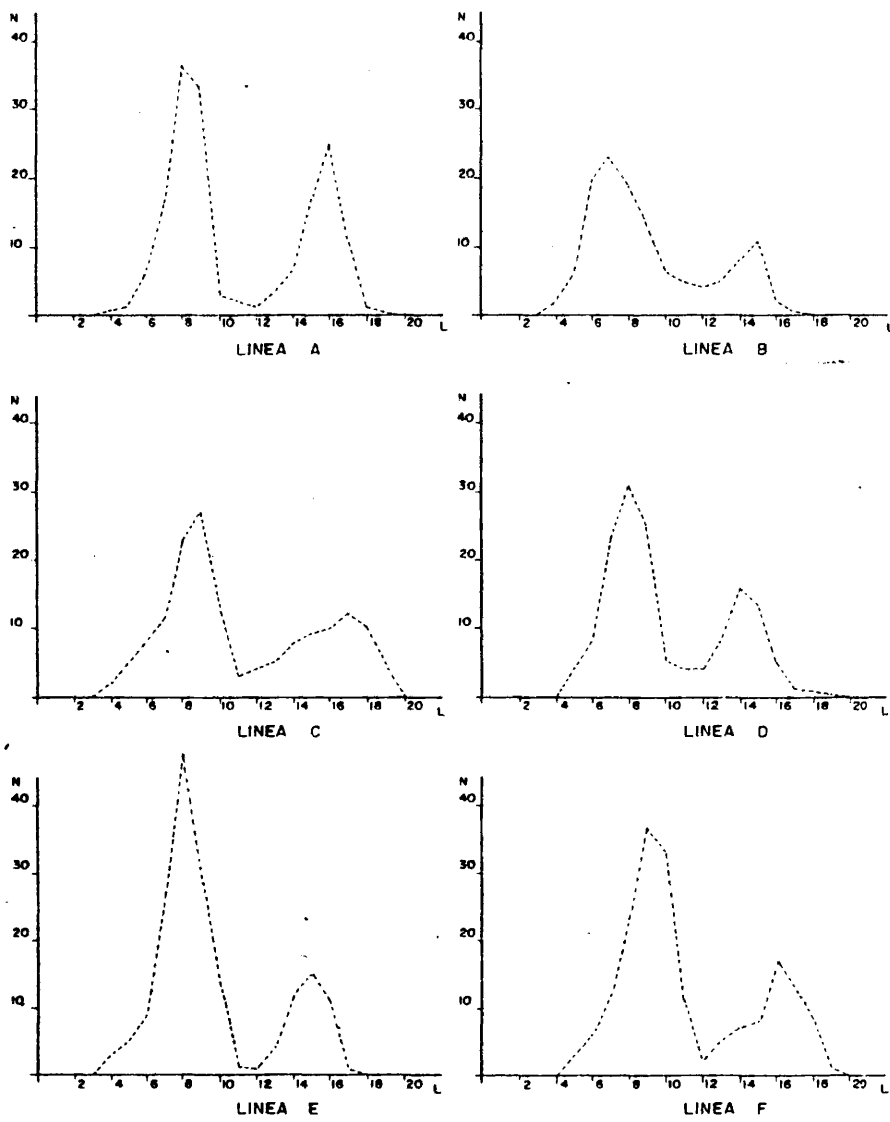


FIG. 37 DISTRIBUCIONES DE LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS LINEAS ENDOGAMAS BI EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

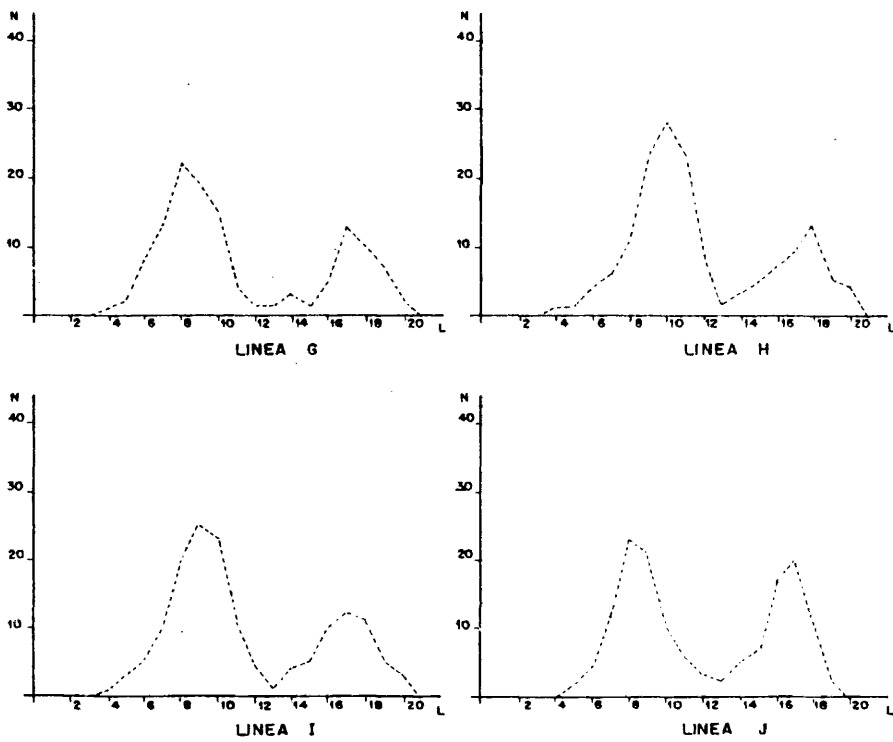


FIG. 38 DISTRIBUCIONES DE LONGITUDES LARVIARIAS DE LAS LINEAS ENDOGAMAS BI EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL

la F_1 del cruzamiento entre las dos poblaciones debería manifestar una de las respuestas larvarias de las poblaciones parentales, en el caso de dominancia completa o bien una respuesta intermedia en ausencia de dominancia.

Las poblaciones Dh 73 y BI se cruzaron en ambos sentidos $\sigma\sigma$ Dh 73 x $\phi\phi$ BI y $\sigma\sigma$ BI x $\phi\phi$ Dh 73 realizándose cinco réplicas de cada cruzamiento. De cada una de las poblaciones parentales se efectuaron otras cinco réplicas simultáneas. Las distribuciones de tamaños larvarios se analizaron a los siete días de desarrollo en cultivos de 200 larvas con 2 c.c. de medio de cultivo. Los valores medios se encuentran recogidos en la Tabla 37. Como muestran las estimaciones efectuadas anteriormente la viabilidad (considerada como el porcentaje de larvas supervivientes a los siete días de desarrollo) es inferior en la población BI que en Dh 73, manteniéndose los valores de las dos F_1 intermedios, pero más próximos a los observados en Dh 73.

En las figuras 39, 40 y 41 se representan los polígonos de frecuencias correspondientes a Dh 73, F_1 ($\sigma\sigma$ Dh 73 x $\phi\phi$ BI), F_1 ($\sigma\sigma$ BI x $\phi\phi$ Dh 73) y BI, respectivamente. Las dos distribuciones de frecuencias de las poblaciones originales presentan de nuevo la forma unimodal en Dh 73 y la bimodal en la población BI. Las dos F_1 manifiestan también polígonos de frecuencias típicamente bimodales con una fracción de la población larvaria de tamaños inferiores a 11 unidades, con una moda situada en la clase 8 y el resto constituido por larvas de desarrollo rápido con una moda en las clases 15 ó 16.

Las dos distribuciones de los tamaños larvarios de ambas

Longitud	Dh 73	♂♂ Dh 73 x ♀♀ BI	♂♂ BI x ♀♀ Dh 73	BI
Pupas	-	0,60	-	3,00
19	0,20	-	0,20	0,60
18	2,60	0,80	2,40	3,60
17	15,00	10,40	19,20	11,00
16	29,80	24,40	29,40	11,80
15	31,80	31,00	26,80	9,00
14	23,60	24,40	11,00	4,40
13	18,20	15,00	8,40	3,20
12	18,20	10,00	4,80	3,60
11	10,00	5,00	2,80	6,00
10	7,60	4,40	4,00	9,00
9	5,40	8,20	10,80	15,40
8	5,60	11,20	21,20	19,60
7	2,80	9,60	15,60	19,00
6	0,60	4,00	8,20	7,40
5	0,20	1,00	2,00	4,20
4	0,20	0,40	0,80	1,40
3	0,20	0,40	0,20	1,00
Total	172,00±3,97	160,20±2,01	167,80±3,65	133,20±4,85

Tabla 37.- Distribuciones de frecuencias de las longitudes larvarias, obtenidas a los siete días de desarrollo en cultivos de 200 larvas por vial, en las poblaciones Dh 73 y BI y en las F₁ de ambas.

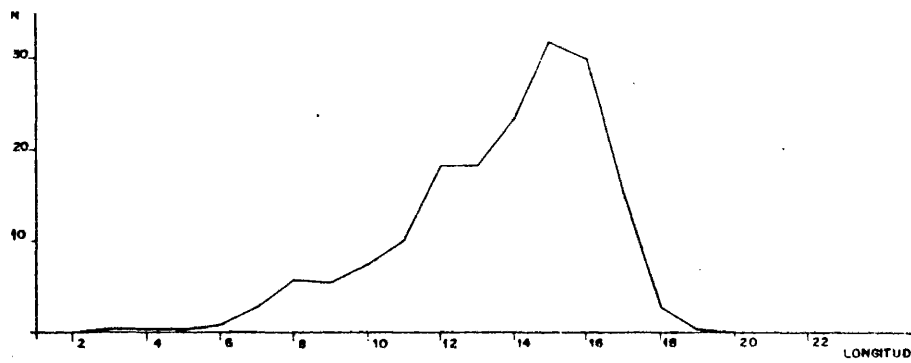


FIG. 39 DISTRIBUCION DE LONGITUDES LARVIARIAS DE LA POBLACION Dh 73 EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

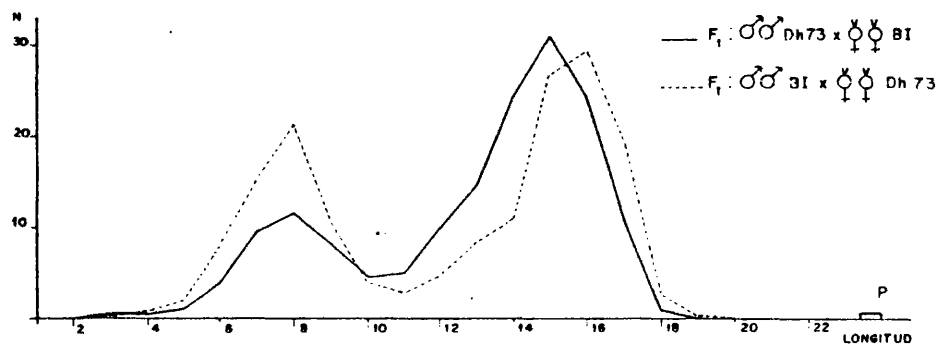


FIG. 40 DISTRIBUCIONES DE LONGITUDES DE AMBAS F₁ EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

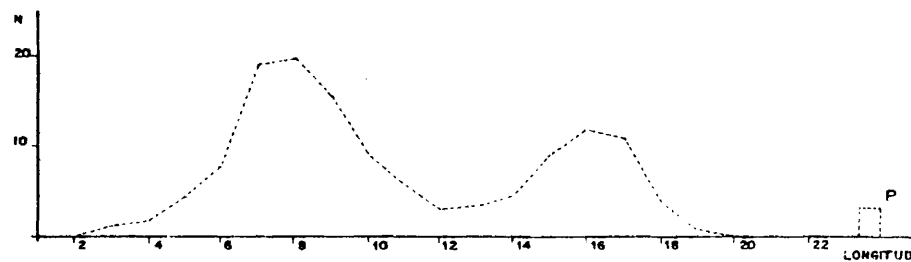


FIG. 41 DISTRIBUCIONES DE LONGITUDES LARVIARIAS DE LA POBLACION BI EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

F_1 presentan las características típicas de la bimodalidad, encontrada a su vez en la distribución de la población parental BI. Las diferencias en la proporción de los dos grupos de larvas, pequeñas y grandes detectadas en las dos F_1 son de una magnitud similar a las encontradas previamente cuando se analiza una misma población varias veces en el tiempo, por tanto puede considerarse que no existen efectos maternos considerables y tratar ambas F_1 como una estimación única.

Al objeto de detectar por la forma de la distribución de frecuencias una posible segregación de caracteres en la F_2 se realizó esta por cruzamiento en masa de los individuos de las dos F_1 , efectuándose cinco réplicas en las mismas condiciones que para la F_1 . La distribución de las longitudes larvarias a los siete días de desarrollo se encuentra en la Tabla 38, apreciándose un descenso en la viabilidad respecto a la observada en los cruzamientos de la F_1 . El polígono de frecuencias correspondiente (figura 42) de nuevo es típicamente bimodal con las modas en las clases 8 y 16 y el mínimo de la distribución en la clase 11.

Simultáneamente se analizaron nueve réplicas del retrocruzamiento efectuado en masa entre machos de la población Dh 73 y hembras vírgenes procedentes de las dos F_1 , sembrando 200 larvas en viales con 2 c.c. de medio de cultivo. Después de siete días de desarrollo se extrajeron y midieron las poblaciones larvarias de las nueve réplicas obteniéndose las distribuciones de frecuencias que se recogen en la Tabla 38. El número total de larvas recuperadas es superior en el retrocruzamiento que en la F_2 y la forma de la distribución de frecuencias de los tamaños larvarios es claramente unimodal con la

Longitud	F ₂	F ₁ x ¹ Dh 73	100 BI + 100 Dh 73
20	0,20	-	1,00
19	1,80	2,67	4,33
18	4,40	10,00	10,67
17	10,40	23,56	29,67
16	18,60	32,00	24,67
15	10,00	23,22	15,00
14	3,80	14,22	11,67
13	4,40	8,00	5,33
12	2,00	6,44	4,67
11	1,60	5,67	6,33
10	8,80	4,44	6,67
9	15,20	6,22	4,00
8	17,80	4,89	6,00
7	13,40	3,67	3,00
6	3,80	3,56	2,67
5	2,20	0,78	2,33
4	0,40	0,22	1,00
Total	118,80±2,21	149,67±4,99	139,33±11,28

Tabla 38.- Distribuciones de frecuencias de las longitudes larvarias, obtenidas en cultivos de 200 larvas por vial, en la F₂, en el cruzamiento de la F₁ por Dh 73 y en poblaciones larvarias mixtas.

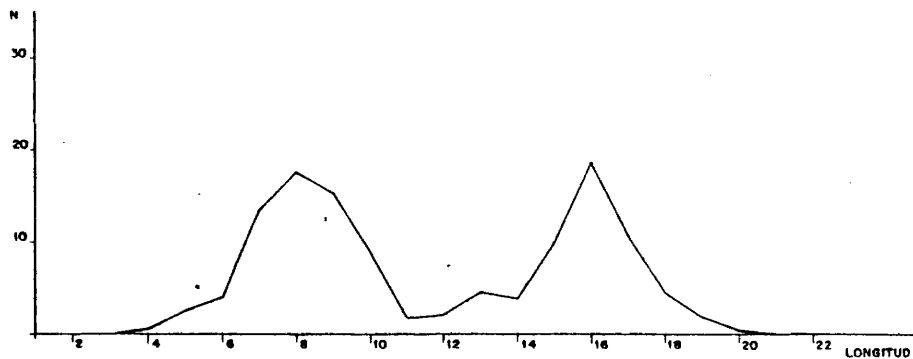


FIG. 42 DISTRIBUCION DE LONGITUDES LARVIARIAS EN LA F₂ EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

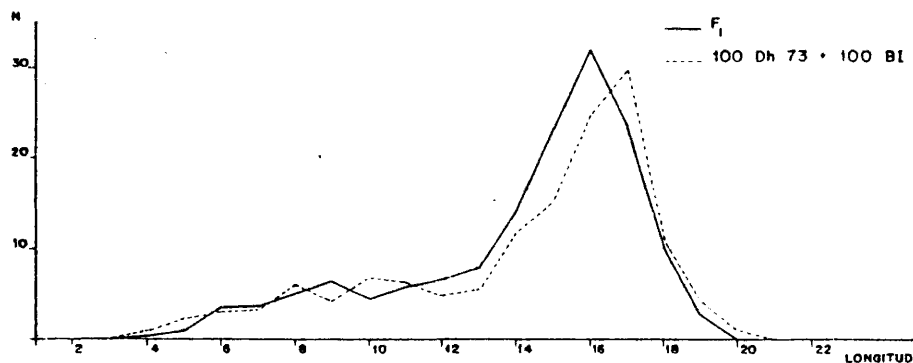


FIG. 43 DISTRIBUCION DE LONGITUDES LARVIARIAS EN LA F₁ (200 LARVAS/VIAL) Y EN CULTIVOS MIXTOS (100 LARVAS Dh 73 + 100 LARVAS BI.)

moda situada en la clase 15.

En el modelo más simple de un gen con dos alelos, se espera en el retrocruzamiento entre la F_1 y el homocigoto recesivo un 50% de individuos homocigóticos recesivos y el otro 50% de heterocigóticos. Así pues se esperaría que la mitad de las larvas fueran genéticamente de respuesta unimodal y la otra mitad bimodal. Para simular experimentalmente esta situación se sembraron tres réplicas con 100 larvas de la población Dh 73 más 100 larvas de la población BI. Estas tres réplicas, y las 9 del retrocruzamiento antes mencionado, se realizaron simultáneamente y los resultados aparecen recogidos en la Tabla 38 y en la Figura 43. Tanto la viabilidad como la forma de ambas distribuciones son muy semejantes.

A partir del cruzamiento F_2 se aislaron 20 hembras vírgenes, que se cruzaron cada una de ellas individualmente con tres machos Dh 73, formando las líneas M_1 a M_{20} . Cada línea se expandió durante dos generaciones en cultivos no densificados, realizados en botellas con 35 c.c. de medio de cultivo, para evitar en lo posible cambios genéticos por selección en las líneas. De cada una de ellas se realizaron tres réplicas de 200 larvas cada una, colocadas en viales con 2 c.c. de medio de cultivo. A los siete días de desarrollo las larvas fueron extraídas y medidas. De las veinte líneas iniciales se perdieron cuatro durante el proceso de expansión, analizándose las 16 restantes. En la Tabla 39 se encuentran las distribuciones de frecuencias de los tamaños larvarios de cada línea, obtenidos como media de las tres réplicas realizadas. Los valores subrayados corresponden a las modas de cada distribución de frecuencias.

Las viabilidades obtenidas han oscilado entre el 75 y el -

Longitud	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	M ₆	M ₇	M ₈
21	-	-	-	-	-	-	0,33	-
20	-	-	-	-	-	1,67	3,33	0,33
19	-	0,67	-	-	-	7,33	11,00	0,67
18	-	3,33	-	-	1,33	<u>25,00</u>	15,67	7,00
17	4,00	17,00	2,33	5,00	15,00	16,00	20,00	17,00
16	15,33	29,67	21,67	22,33	<u>26,00</u>	22,00	<u>25,33</u>	<u>18,00</u>
15	<u>29,00</u>	<u>31,33</u>	<u>30,33</u>	<u>35,67</u>	19,67	12,00	15,67	13,00
14	28,33	17,67	30,00	30,33	17,33	12,33	11,67	12,00
13	22,67	14,00	24,00	10,00	4,67	8,33	11,00	12,00
12	16,00	11,00	19,33	9,67	4,00	5,67	7,00	12,33
11	10,33	6,67	11,00	9,33	2,00	4,67	4,33	10,00
10	8,00	3,00	8,00	5,00	4,33	4,67	7,67	12,00
9	3,33	4,67	8,33	3,00	<u>8,00</u>	4,33	5,67	11,00
8	3,67	4,00	5,33	3,33	7,00	6,00	4,33	8,67
7	1,33	1,00	2,00	2,67	3,67	4,00	4,33	7,00
6	1,33	1,33	1,33	-	4,00	0,67	1,67	1,67
5	-	0,67	-	1,00	2,33	1,67	0,33	1,33
4	-	-	-	-	-	0,33	-	0,67
TOTAL	144,33	146,00	163,65	137,00	120,33	136,67	149,33	144,67

Tabla 39.- Distribuciones de frecuencias de las longitudes larvarias, obtenidas a los siete días de desarrollo en cultivos de 200 larvas por vial de las líneas M.

Longitud	M ₉	M ₁₀	M ₁₁	M ₁₂	M ₁₃	M ₁₄	M ₁₅	M ₁₆
21	-	-	-	-	-	-	-	-
20	1,00	-	-	-	-	-	0,67	-
19	9,00	0,33	1,33	1,00	1,33	0,67	11,00	1,33
18	21,33	4,00	7,33	7,33	8,67	10,00	18,33	11,67
17	<u>23,00</u>	10,00	15,00	13,67	17,67	23,33	18,33	<u>29,33</u>
16	21,67	<u>26,67</u>	<u>29,00</u>	<u>29,00</u>	<u>23,33</u>	22,00	<u>22,67</u>	17,00
15	11,33	24,00	24,67	27,00	16,67	<u>25,00</u>	12,00	13,00
14	7,67	21,00	22,00	18,00	19,67	20,00	13,00	6,33
13	4,00	15,67	12,00	9,00	9,67	11,67	13,67	4,00
12	4,00	15,33	7,33	3,67	10,00	4,00	6,67	3,33
11	3,33	8,33	5,33	2,33	6,33	3,33	6,00	5,67
10	4,00	7,67	4,33	3,33	5,67	2,67	6,33	7,33
9	<u>11,33</u>	4,33	2,00	1,00	4,33	1,67	5,00	<u>10,67</u>
8	7,67	3,33	4,00	2,67	3,33	1,67	2,67	9,00
7	5,67	1,33	2,00	0,33	1,00	1,00	3,00	3,67
6	1,33	1,67	1,33	0,33	1,00	0,33	1,00	4,33
5	1,33	0,33	1,33	-	1,00	-	0,67	0,67
4	-	1,00	-	-	0,33	0,33	-	0,33
TOTAL	137,67	145,00	139,00	118,67	130,00	127,67	141,00	127,67

Tabla 39.- Continuación.

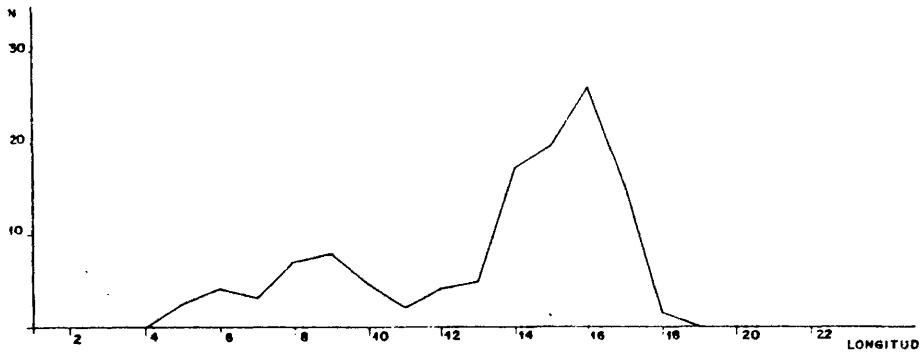


FIG. 44 DISTRIBUCION DE LONGITUDES LARVIARIAS DE LA LINEA M₄, EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

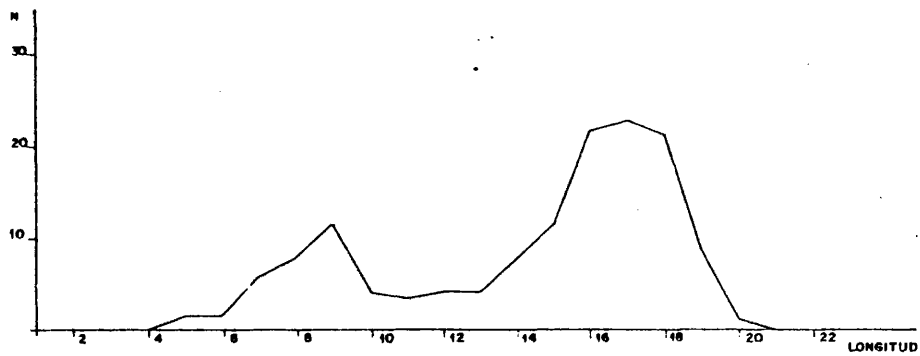


FIG. 45 DISTRIBUCION DE LONGITUDES LARVIARIAS DE LA LINEA M₅, EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

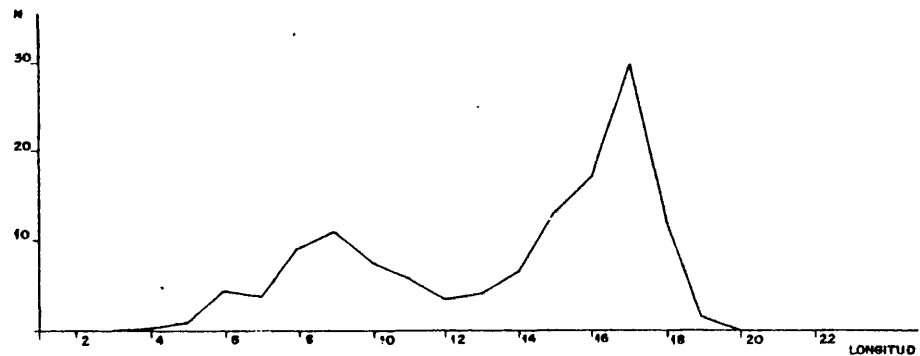


FIG. 46 DISTRIBUCION DE LONGITUDES LARVIARIAS DE LA LINEA M₁₆, EN CULTIVOS DE 200 LARVAS POR VIAL.

60%, si bien parte de esta variabilidad debe asignarse al hecho de que las estimaciones no se realizaron simultáneamente al producirse desfases de las líneas. En 13 de las 16 líneas analizadas se observan distribuciones de frecuencias unimodales, siendo las tres restantes (M_5 , M_9 y M_{16}) bimodales. Los polígonos de frecuencias correspondientes a estas últimas se han representado gráficamente en las Figuras 44, 45 y 46, observándose que presentan las mismas características mencionadas anteriormente de la distribución bimodal con un mínimo en las clases 11 y 12, y dos máximos, uno en la clase 9 y otro en las clases 16 ó 17.

Según el modelo propuesto de la segregación que se produce en la F_2 , un 25% de las hembras, como término medio, serán homocigóticas para el alelo recesivo que genera la respuesta bimodal. El resto serán homocigóticas para el alelo que produce unimodalidad, o heterocigóticas. Por tanto al cruzar las hembras de la F_2 con machos de la población Dh 73, es de esperar que un 25% de las líneas que se derivan de estos cruces, manifiesten una respuesta netamente bimodal, aquellas e. que la hembra era homocigótica para el alelo que determina bimodalidad. El resto manifestará una distribución típicamente unimodal, correspondiente a hembras homocigóticas para el alelo de la respuesta unimodal, o semejante a la obtenida en los retrocruzamientos $F_1 \times$ Dh 73, en los casos en que la hembra sea heterocigótica para el carácter. Los resultados de 3 líneas de distribución bimodal de un total de 16, no se alejan del valor esperado del 25%.

DISCUSION

Cuando una especie utiliza para su alimentación un recurso cuyo aporte es finito, en unas condiciones simplificadas que supongan la ausencia de depredadores y un ambiente óptimo, la densidad de saturación, ó tamaño que alcanza la población, es dependiente de la cantidad del recurso y de la capacidad competitiva de sus individuos. Las poblaciones de Drosophila mantenidas en cajas de población, constituyen un modelo apropiado para estudiar estas situaciones, con unas condiciones ambientales óptimas: temperatura, humedad, espacio disponible, etc., donde el principal factor limitante del tamaño poblacional lo constituye el alimento.

En principio la capacidad de soporte (Errington, 1934) del alimento va a ser el factor determinante del tamaño que alcanzan estas poblaciones. Debido a su alta fertilidad, la población de adultos es potencialmente capaz, si disponen de alimento infinito, de multiplicarse por varios centenares en cada generación. Cuando el alimento es finito y su aporte constante, solo una pequeña proporción de los huevos puestos llegan a producir adultos, creándose altas densidades larvarias en el medio y, consiguientemente, una fuerte competición intraespecífica.

Como consecuencia de la alta concentración larvaria en el medio, la cantidad de alimento por larva disminuye, provocando un retraso en el desarrollo, un incremento de la mortalidad y una reducción en el tamaño de los adultos (Sang, 1956; Bakker, 1961; Robertson, 1960a y 1963). Estos como consecuencia son menos longevos y fértiles que los desarrollados en condiciones óptimas, con exceso



de alimento (Tantawy y Vetukhiv, 1960; Dobzhansky y Pavvlousky, - 1961).

Estas poblaciones experimentales de Drosophila están sometidas, por tanto, a fuertes presiones de selección durante su desarrollo larvario, de tal forma que solo aquellos individuos que poseen un genotipo altamente competitivo logran alcanzar el estado adulto. Un incremento evolutivo de la capacidad competitiva media de los individuos producirá un mayor tamaño poblacional con el consiguiente aumento de la densidad larvaria en el medio.

Por tanto en las poblaciones naturales de Drosophila, que tengan estas características, y en las experimentales mantenidas durante un espacio de tiempo suficiente en el laboratorio, es de esperar que existan, a nivel larvario, mecanismos adaptativos que produzcan una relajación de la competición. Tanto la duración del periodo de desarrollo larvario como el tamaño que alcanzan los adultos son parámetros sujetos a selección y se encuentran fuertemente canalizados (Robertson, 1964; Church y Robertson, 1966). Es necesario analizar directamente las poblaciones larvarias, que se encuentran en el medio de cultivo, ya que los datos de emergencia de adultos, y sus características son insuficientes para el estudio de estos procesos.

Estudios de la base genética del desarrollo larvario han sido llevados a cabo en D. melanogaster, en una extensa serie de trabajos, por Robertson (1960 a, 1960 b, 1960 c, 1961, 1963, 1964, 1966) y más recientemente por Sewell, Burnet y Connolly (1975), Burnet, Sewell y Bos (1977) y Bos (1979), pero siempre analizando en todos los casos, de manera individual los efectos sobre el desarrollo de modificaciones del medio y las interacciones genotipo-am

biente. Las modificaciones en el desarrollo de las larvas que crecen en un medio concreto y limitado, consideradas como una población, no habían sido estudiadas hasta ahora. Sin embargo las técnicas desarrolladas en el presente trabajo para llevar a cabo este análisis no son complejas, si bien resultan laboriosas. Basicamente consisten en la extracción de la población larvaria del medio donde se desarrollan y su posterior fijación y medida. Con ello se logra determinar, en los momentos del desarrollo deseados, el tamaño de cada larva y por tanto su nivel de desarrollo. A partir de estos datos se confecciona la distribución de frecuencias de las longitudes larvarias que nos indica la respuesta de esta población a las condiciones del medio.

Se escogió para este análisis Drosophila hydei, por ser una especie cosmopolita que tolera en las condiciones de laboratorio, una alta densidad poblacional, mostrando una elevada capacidad competitiva intra e interespecífica. Experiencias previas habían mostrado que en cajas de poblaciones desplaza a todas las especies probadas y solo D. melanogaster logra coexistir con ella en bajas densidades. Por otra parte se tenía la posibilidad de recolectarla en su medio natural, directamente de los frutos de Opuntia donde se alimenta, compitiendo principalmente con D. melanogaster, D. simulans y D. buzzatii, en la localidad de Carboneras (Almería).

Los primeros análisis realizados con una población de D. hydei recién capturada en la localidad citada, mostraron, que cuando se desarrollan 200 larvas en viales conteniendo 2 c.c. de medio de cultivo durante siete días aparece una distribución bimodal de los tamaños larvarios. Este comportamiento de la población larvaria

que como respuesta a la alta densidad origina un grupo de larvas pequeñas y otro de larvas grandes bien definidos, con un mínimo que separa ambos grupos, sugiere un mecanismo adaptativo encaminado a relajar la competición larvaria con claras implicaciones ecológicas.

Para determinar en principio la generalidad de este comportamiento en la especie D. hydei, se analizaron cuatro poblaciones naturales suficientemente separadas entre sí como para considerarlas independientes y con distintos ambientes ecológicos. Las cuatro mostraron poseer este comportamiento larvario como respuesta a la alta densidad en los cultivos (Tabla 2, Figuras 5 a 8). De las tres poblaciones experimentales analizadas, con más de tres años de permanencia en el laboratorio, dos manifestaron la misma respuesta bimodal y una, la población Dh 73 una respuesta diferente, donde no se detecta la escisión de la población larvaria en dos grupos. Dh 73 da lugar siempre a distribuciones unimodales de las longitudes larvarias.

El origen de las tres poblaciones experimentales es el mismo, la población natural de Carboneras, por tanto las diferencias en el comportamiento de Dh 73, Dh 73a y Dh 74, deben atribuirse a cambios genéticos, surgidos en el proceso de adaptación a las condiciones de laboratorio. La existencia de la población Dh 73, de respuesta unimodal, permite analizar comparativamente las posibles ventajas adaptativas del comportamiento generador de la bimodalidad de los tamaños larvarios y por ello, se empleó como población de tipo unimodal. La población denominada BI compuesta por descendientes de individuos recientemente recolectados en la naturaleza y mantenidos en líneas independientes, para evitar en lo posible la selección en

el laboratorio, constituye la otra población tipo de respuesta bimodal.

Dado que la distribución bimodal de las longitudes larv^{ar}ias es una respuesta poblacional a la alta densidad, lo primero - que hay que determinar es si se debe a diferencias genéticas entre las larvas que la componen o a un comportamiento específico, comun a todas las larvas de la población. En el primer caso se trataría de una flexibilidad en el desarrollo determinada por una base genética y en el segundo, de una flexibilidad fenotípica.

La variabilidad genética para la velocidad del desarrollo presente en las poblaciones naturales, se expresaría en las condiciones experimentales de cultivos densificados. Aquellas larvas cuyo genotipo determinase un desarrollo lento constituirían el grupo de las pequeñas, y las de genotipo rápido formarían el grupo de - las grandes. La forma de la curva bimodal, sin embargo, obligaría a plantear la presencia de variabilidad genética con expresión fenotípica discontinua. Dh 73 de respuesta unimodal habría surgido mediante un proceso de selección natural en la caja de población, donde - los genes de desarrollo lento habrían sido eliminados.

Sin embargo, el análisis de las poblaciones larv^{ar}ias procedentes de líneas endógamas derivadas de la población BI, que podemos considerar poblaciones isogénicas (probabilidad de fijación - 0,975, Falconer, 1970), muestra la persistencia de las distribuciones bimodales en los diez casos analizados (Tabla 32, Figuras 37 y 38). Dado que no se detecta la existencia de mecanismos que pudieran bloquear la fijación durante el proceso de endogamia (sistemas de inversiones o translocaciones con letales equilibrados), no pa-

rece que la existencia de distribuciones bimodales de las longitudes larvarias en las poblaciones naturales y experimentales pueda ser debida a una heterogeneidad genética, sino más bien a una plasticidad fenotípica.

La norma de reacción en el desarrollo de los individuos de la población BI frente a condiciones de alta densidad larvaria, genera una respuesta por la cual la población se escinde en dos: - un grupo de larvas crece normalmente, constituyendo el grupo de las grandes y otro frena su desarrollo e integra el grupo de las pequeñas. La dependencia de la respuesta, respecto de la densidad larvaria se pone claramente de manifiesto al variar el número de larvas sembradas por vial (Tablas 5 y 6; Figuras 9 a 14). Cuando la densidad es baja las larvas se desarrollan rápidamente sin que se detecten larvas pequeñas o de desarrollo lento. Pero ya a partir de 50 - larvas por vial empieza a desdoblarse la población larvaria en dos, apareciendo una neta bimodalidad en las densidades de 100 hasta - 600.

Es importante destacar dos características de las distribuciones de frecuencias bimodales. Primero que el mínimo, y los máximos correspondientes a larvas pequeñas y grandes, presentan posiciones fijas que no se modifican con la densidad; segundo que la relación entre larvas pequeñas y grandes depende de la densidad, de tal forma que cuando esta aumenta, crece la proporción de las larvas - que frenan su desarrollo y permanecen con tamaños pequeños.

En la población Dh 73 no se aprecia esta respuesta larvaria en el rango de densidades experimentado, permaneciendo la distribución de los tamaños larvarios con una curva mas o menos normal

sin que aparezca un mínimo en las clases medias. Con el aumento de la densidad el máximo de la distribución se desplaza sin discontinuidades hacia la izquierda (Figuras 9 a 14) modificándose el sesgo y la curtosis de la curva.

Las respuestas en las poblaciones Dh 73 y BI frente a densidades crecientes, netamente diferentes, sugieren la existencia de mecanismos cualitativamente diferentes que los generen, más que posibles efectos de umbral actuando sobre un mecanismo único, como más adelante veremos.

En la respuesta de las larvas de la población BI frente a la alta densidad se detecta una discontinuidad que genera la bimodalidad. Parece existir un momento en el desarrollo, o un determinado tamaño larvario crítico, que si es superado, permite a las larvas continuar su desarrollo, mientras las que no lo han alcanzado detienen su crecimiento. En un momento dado, la proporción de larvas que no han alcanzado este tamaño crítico depende de la densidad, pero esta no afecta el punto crítico.

La secuencia del desarrollo en cultivos de 200 larvas por vial, desde la emergencia de la población larvaria hasta el día 12, nos permite determinar este punto crítico (Figuras 18 a 24). Entre el 3º y 4º día de desarrollo se produce la escisión de la población BI en dos grupos que originan la distribución bimodal consiguiente, y a partir de este momento la población larvaria se mantiene invariablemente con la presencia de un grupo de larvas pequeñas con modas alrededor de la clase 7 u 8, un grupo de larvas grandes con modas cercanas a la clase 16 y el mínimo que separa ambos grupos en las clases 10 a 11. De nuevo esta peculiar distribución no se pro-

duce en ningún momento en la población Dh 73 que se mantiene unimodal.

La discontinuidad, que se produce entre el tercero y cuarto día de desarrollo, en las larvas que alcanzan tamaños cercanos a la clase 10, coincide, tanto en tiempo de desarrollo como en tamaño con la segunda muda larvaria, como se aprecia en la Figura 15. Esta ocurre, cuando las larvas se desarrollan individualmente, entre los días 3º y 4º, cuando alcanzan un tamaño medio de 9 unidades.

En las densidades de 200 larvas por vial el desarrollo durante los tres primeros días no parece retrasarse, debido al pequeño tamaño de las larvas que disponen de alimento suficiente (Figura 17). A partir del tercer día, cuando algunas larvas alcanzan el tamaño suficiente para realizar la segunda muda y pasar al tercer estadio, es cuando empieza a detectarse un retraso en el desarrollo medio, debido a la alta densidad de larvas.

La escasez de alimento, o alguna otra causa dependiente de la densidad, podría motivar el que solo las larvas más rápidas en su crecimiento llegasen a pasar al tercer estadio y continuar su desarrollo, mientras que las más retrasadas quedarían paradas en su crecimiento sin poder realizar la segunda muda. En la primera muda larvaria no se produciría este efecto sobre la población debido a que aun no se ha creado deficiencia de alimento o bien a que existen diferencias en los requerimientos necesarios para que se produzcan ambas mudas.

Cuando las larvas se desarrollan individualmente hemos visto que entre el tercero y cuarto día pasan todas al tercer estadio, y antes del día 7 pupan, pero esto no ocurre cuando gran número de

larvas compiten en un reducido volumen de medio de cultivo. En el caso de 200 larvas por vial con 2 c.c. de medio (Tablas 12 y 13, Figura 17) vemos que tanto para la población Dh 73 como para BI, no se detectan retrasos en el crecimiento medio durante los tres primeros días, ni se observa un excesivo incremento en la varianza de los tamaños. Pero a partir del cuarto día, empieza a apreciarse un claro retraso en el desarrollo en Dh 73, que se manifiesta en un descenso del tamaño medio de las larvas, acompañado de un incremento en la varianza. Esta misma situación aparece a partir del cuarto día en la población BI, acrecentada por el desdoblamiento de la población larvaria en grandes y pequeñas, lo que infla el valor de la varianza.

A partir de este momento las larvas grandes continúan creciendo y alcanzan la pupación, mientras que las pequeñas permanecen en su mayoría sin crecer y por tanto sin modificar la distribución de sus tamaños. En la Figura 17 puede observarse como, durante los siete primeros días de desarrollo, el grupo de larvas grandes crece tan deprisa como si estuviesen solas, alcanzando las más rápidas la pupación el día 7^º. Al no crecer el grupo de las pequeñas, de algún modo, favorecen el desarrollo de las grandes, relajando la competición. Esto se pone de manifiesto al comparar este comportamiento con el observado en la población Dh 73, en donde al no desdoblarse la población, todas las larvas continúan su desarrollo creando una demanda superior de alimento que retrasa la pupación.

A las mismas conclusiones se llega analizando los resultados de las Tablas 5 y 6 en donde las dos poblaciones Dh 73 y BI se prueban en densidades crecientes de 25 a 600 larvas por vial con 2

c.c. de medio de cultivo. Los retrasos en el desarrollo, detectados el día 7º como descensos en la longitud media de las larvas, - son mayores cuanto más se densifica el medio, aumentando en el mismo sentido la varianza. En la población Dh 73 el tamaño medio de - las larvas desciende con el número de larvas sembradas, pero este retraso en su desarrollo no provoca una escisión de las larvas en dos grupos. Este comportamiento aparece claramente solo en la población BI, originado por el grupo de larvas pequeñas que frenan su desarrollo. A bajas densidades, 25 larvas por vial, el retraso en el desarrollo de las larvas es mínimo y por tanto todas alcanzan a pasar al tercer estadio antes de que escasee el alimento. A partir de 50 y mas claramente con 100 larvas por vial, el retraso producido - en la población larvaria determina que el alimento escasee o se deteriore cuando aún una fracción de la población larvaria no ha experimentado la segunda muda. La proporción de larvas afectadas por dicha situación aumenta al incrementarse la densidad larvaria hasta - los valores analizados de 600 larvas.

En la población Dh 73, a los siete días de desarrollo, observamos que solo en la baja densidad de 25 larvas por vial aparece alguna pupa. Sin embargo en la población BI encontramos pupas a los siete días en todas las densidades, hasta la de 600 larvas por vial y en número elevado (Tablas 5 y 6). Esto nos indica que en los viales de la población BI, debido al comportamiento larvario que genera la bimodalidad, se produce una relajación de la competición que permite a un cierto número de larvas tener un desarrollo rápido y pupar antes de los siete días, con las ventajas en el valor adaptativo - que esto proporciona.

Una demostración más directa de que la segunda muda larva es la que determina la escisión de la población en dos grupos - integrados por larvas pequeñas y grandes nos la proporciona la determinación directa de los estadios larvarios de estos dos grupos. Esta se llevó a cabo desde el día 4 al 9º de desarrollo, en las dos poblaciones Dh 73 y BI, a densidades de 200 larvas por vial (Tabla 16, Figuras 25 y 26). En la población BI las larvas del tercer estadio larvario componen el grupo de larvas denominadas grandes y el pequeño lo forman larvas de los estadios 1º y 2º. El pequeño solape que se observa se debe en parte a la técnica empleada al medir material fijado, que puede presentar variaciones en el grado de distensión de las larvas y probablemente también, a que en condiciones de saturación larvaria, la segunda muda se produce dentro de un cierto rango de tamaños y no de una manera tan rígida como la observada en cultivos larvarios independientes.

Con este conjunto de datos podemos visualizar un modelo - que explique las distribuciones bimodales de los tamaños larvarios encontradas en las poblaciones naturales de Drosophila hydei como - respuesta a la alta densidad larvaria, con sus implicaciones ecológicas.

Las larvas de D. hydei en su desarrollo atravesarían un - punto crítico (segunda muda larvaria), sensible a un cierto estímulo, de tal manera que en su ausencia, o cuando se halle por debajo de un cierto valor umbrálico las larvas continúan su desarrollo, pero al sobrepasar dicho umbral les impediría el crecimiento. Este estímulo debe depender de la densidad larvaria, aumentando con esta.

El crecimiento de la población larvaria antes de llegar al

momento crítico, dependerá de la densidad o de la relación de alimento por larva, de tal manera que será rápido a baja densidad y lento a densidades elevadas, pero sin crear discontinuidades en la población sino meramente un descenso en el tamaño medio, acompañado de un aumento de la varianza.

A densidades muy bajas la población se acercará al punto crítico con una gran sincronía y el estímulo se hallará por debajo del valor umbral que determina la detención del crecimiento, por lo que todas las larvas continuarán su desarrollo.

A densidades más elevadas (200 larvas por vial), la población larvaria en su crecimiento anterior al punto crítico, presentará una cierta asincronía a la vez que se producirá un continuo incremento en el valor del estímulo. Cuando este alcanza el valor umbral, una cierta proporción de las larvas, ya habrán pasado el momento crítico, por lo que continuarán su desarrollo, mientras que las más retrasadas no podrán continuar creciendo y se pararán, constituyendo el grupo de las pequeñas.

Al aumentar la densidad larvaria el estímulo alcanza antes el valor umbral y a su vez las larvas presentarán una mayor dispersión en su crecimiento por lo que solo una pequeña proporción llegará a atravesar la segunda muda y continuar su desarrollo.

Dado que el valor del estímulo depende de la densidad y más específicamente de la relación alimento-larva, examinemos esta relación: El cociente será tanto menor cuanto mayor sea el número de larvas, pero variará a lo largo del tiempo para una determinada densidad. En un vial recién sembrado la relación es máxima puesto que el alimento no ha sido aún utilizado y las larvas son de peque-

ño tamaño. A medida que avanza el desarrollo la cantidad de alimento disminuye a causa del consumo, creciendo las larvas simultáneamente, produciendo un descenso en la relación alimento-larva. En el modelo el estímulo es dependiente de dicha relación y por tanto crecerá al aumentar la densidad, y también al avanzar el tiempo de desarrollo.

Así planteado el modelo, tendría una ventaja ecológica como regulador del tamaño poblacional en función del alimento, que aseguraría, por otra parte, el desarrollo de una cierta proporción de adultos. Los individuos de la población Dh 73 no responderían a este estímulo y por tanto serían insensibles al mecanismo que frena el crecimiento de una cierta proporción de las larvas. Al continuar todas su desarrollo y no tener alimento suficiente se produce un claro retraso en la pupación de las más rápidas y en situaciones de alta densidad produciría incluso la extinción total del alimento sin que ninguna larva alcanzase a pupar.

El momento crítico sensible al estímulo coincide en el tiempo y en el tamaño de las larvas con la segunda muda que por otra parte es la única discontinuidad clara observable. Por tanto parece bastante lógico pensar que ciertos requerimientos necesarios para la muda puedan estar relacionados con el estímulo, o que el incremento de algún factor sea el responsable del bloqueo de este proceso. Dentro de este segundo planteamiento, es conocido el efecto de los metabolitos larvarios excretados al medio en varias especies de Drosophila (Weisbrot, 1966; Dawood y Strickberger, 1969; Brncic y Budnik, 1976; Budnik y Brncic, 1976), por lo que cabía esperar que el bloqueo de la segunda muda larvaria se produjera al al

canzar los metabolitos una determinada concentración.

Para explorar esta hipótesis acerca de la naturaleza del estímulo se acondicionaron viales mediante el desarrollo de 150 larvas durante 5 días, procediéndose a continuación a la congelación de los mismos para matar las larvas. Sobre estos cultivos condicionados se sembraron 50 larvas recién emergidas para estudiar el posible efecto de los metabolitos acumulados anteriormente. Los resultados no muestran ningún efecto del acondicionamiento en el sentido de aumentar la proporción de las larvas pequeñas, pero las conclusiones no deben tomarse como válidas debido al gran desarrollo de levaduras generado después del proceso de acondicionamiento, que incluso modifica la respuesta de las larvas que no manifiestan la bimodalidad.

La importancia de las levaduras en el desarrollo de Drosophila ha sido puesta de manifiesto en diversos trabajos (Baumberger 1917; Northrup, 1917; Wagner, 1944 y 1949; Ali y El - Helw, 1974; Bos et al. 1977), lo que unido a los resultados observados en los cultivos condicionados sugirieron la idea de que quizás la cantidad de levadura viva en los viales estuviera relacionada con el estímulo. En el proceso de obtención de larvas recién emergidas siempre una pequeña cantidad de levadura se encuentra presente y se transfiere en la siembra al vial. Si el número de larvas es pequeño, la levadura crece más deprisa que es consumida, invirtiéndose esta relación al incrementarse la densidad. A su vez la cantidad de levadura viva desciende al avanzar el desarrollo de las larvas por aumentar estas su capacidad de consumo.

Para probar esta hipótesis se recurrió al uso de Acido Sór

bico como inhibidor del crecimiento de levaduras (Bell, Etchells y Borg, 1959), que ya había sido probado con anterioridad con la especie D. melanogaster. Hubiera sido deseable emplear cultivos axénicos, pero es imposible obtener en esas condiciones el elevado número de larvas recién emergidas, que son precisas para realizar el experimento.

En viales con medio de cultivo saturado de Ac. sórbico las larvas tanto de la población Dh 73 como de BI crecen sin llegar a sobrepasar las 9 unidades, permaneciendo en este tamaño muchos días (Tabla 18, Figura 30). Es decir en medios carentes de levadura viva y con Ac. sórbico las larvas no pueden pasar al tercer estadio y permanecen con tamaños larvarios próximos a los necesarios para realizar la segunda muda.

Si en estas condiciones se añade levadura muerta por ebullición las larvas no logran pasar al tercer estadio, si bien se incrementa ligeramente el tamaño medio. Pero si se añade igual cantidad de levadura viva las larvas pueden mudar y continuar su desarrollo aun en presencia del Ac. sórbico en concentraciones de saturación. Parece pues, que no es el Ac. sórbico el causante del retraso y parada del crecimiento larvario sino más bien la ausencia de levadura viva (y no de levadura muerta) en el medio.

Estos resultados en conjunto parecen apuntar la idea de que en Drosophila hydei es necesaria una cierta cantidad de levadura viva en los cultivos para permitir a las larvas realizar la segunda muda y continuar su desarrollo. Cuando en los viales se desarrollan gran número de larvas, consumen la levadura disminuyendo su cantidad hasta ciertos niveles que bloquean el paso al tercer esta-

dio. El estímulo antes postulado sería pues la reducción en los niveles de levadura viva (o de alguna sustancia contenida en ella). - Por debajo de un cierto valor umbrálico en la población BI, se produciría la parada de las larvas que no han pasado la segunda muda. Estos niveles de levadura viva cumplen los requisitos exigidos al estímulo en el modelo. Dependen de la densidad larvaria en los cultivos y varían con el tiempo de desarrollo de los mismos, ya que al crecer las larvas consumen por unidad de tiempo más levaduras.

Hasta ahora hemos analizado solamente los efectos de la densidad sobre el crecimiento y tamaño de las larvas en las dos poblaciones tipo BI y Dh 73, encontrando dos respuestas diferentes, - con unas características peculiares en la población BI que parecen conferirle una mayor ventaja en situaciones de alta densidad. Para ver si esta ventaja conduce a una mayor producción de adultos es necesario dejar a los viales continuar su desarrollo y observar la secuencia de emergencia de los adultos.

En la totalidad de los experimentos realizados y después de 7 días de desarrollo, se recuperan más larvas vivas en los cultivos de la población Dh 73 que en los correspondientes a la población BI. Esta posible desventaja de la población que muestra la respuesta bimodal puede ser atribuida a varias causas. Dado que es una población recién traída de la naturaleza y no adaptada a las condiciones de laboratorio, como lo está la población Dh 73 después de tres años de permanencia en él, esta diferencia podría atribuirse a falta de adaptación de BI al nuevo medio. De todas maneras no puede excluirse que la parada en el desarrollo como respuesta a la densidad, no cause una cierta mortalidad larvaria. Las diferencias entre las

dos poblaciones en todo caso son pequeñas y sensibles a cambios ambientales no controlables experimentalmente.

Para una misma población y densidad el número de larvas recuperadas y su tamaño medio varía muy poco entre réplicas realizadas simultáneamente, pero fluctúa considerablemente entre réplicas efectuadas en distintos momentos. Esto ha conducido a la necesidad de realizar las comparaciones experimentales necesarias siempre en cultivos sincrónicos y evitar sacar conclusiones de experimentos realizados no simultáneamente.

Han tratado de detectarse las causas que producen la variación entre réplicas realizadas asincrónicamente, sin llegar a determinar su naturaleza, pues varios indicios apuntan a variaciones en la flora de levaduras y bacterias siempre presente en los cultivos. Una reducción ambiental de la viabilidad podría relajar la competición larvaria produciendo un incremento en el tamaño medio de las larvas o por el contrario, si la reducción fuera debida a una contaminación perjudicial del vial, este manifestaría también una reducción en el tamaño de sus larvas. Sin embargo no se ha detectado ninguna correlación significativa entre el número de larvas recuperadas y su tamaño medio, que indicara una asociación.

Para que las larvas puedan pupar y dar origen a adultos es necesario que alcancen un tamaño crítico, por encima del cual, aunque no dispongan de más alimento, se produce después de un determinado tiempo la pupación. Robertson (1963 y 1964), Royes y Robertson (1964) y Church y Robertson (1966) han estudiado en varias especies de Drosophila estos tamaños críticos así como la canalización de ciertas fases del desarrollo larvario.

Los resultados presentados para D. hydei muestran que el tamaño crítico se alcanza pasados los cuatro primeros días de desarrollo larvario en situaciones de baja densidad cuando las larvas poseen un tamaño superior a las 12 unidades, correspondiente a larvas del tercer estadio. En cultivos con alta densidad larvaria los tamaños críticos no se alcanzan hasta más tarde, de tal modo que cuando el alimento se extingue solo unas pocas larvas llegan a pupar y otras presentan tamaños reducidos indicadores de la escasez de alimento en el desarrollo. En estas condiciones la respuesta bimodal posee ventajas adaptativas ya que al desdoblarse la población y quedarse frenada en su crecimiento una proporción de las larvas, el alimento disponible para las que continúan el desarrollo es mayor y por tanto llegan a pupar más individuos.

El comportamiento adaptativo de las larvas de D. hydei en condiciones de saturación del medio tendrá aun más ventajas si la potencialidad de la población no se pierde, de tal manera que al enriquecerse posteriormente el medio nutritivo puedan las larvas frenadas continuar su desarrollo, pupar y producir adultos.

Mediante la transferencia de la población larvaria a botellas conteniendo alimento en exceso, despues de desarrollarse a la densidad de 200 larvas por vial durante siete días, se ha podido determinar que en las dos poblaciones Dh 73 y BI, la casi totalidad de las larvas, el 95%, pueden pupar y llegar al estado adulto. No parece pues generarse una mortalidad de las larvas frenadas como consecuencia de la densidad, ni su potencialidad para pupar está alterada, con lo que la situación es en cualquier momento reversible. Una colonización posterior por levaduras del medio nutritivo agota-

do podría generar nuevo alimento para las larvas que reanudarían - su desarrollo.

Analicemos ahora las ventajas de las poblaciones naturales de D. hydei tipificadas en la población BI con respecto a la población Dh 73 de respuesta unimodal, cuando la totalidad del desarrollo se realiza en viales con 2 c.c. de alimento y se siembran 200 larvas recién emergidas. A los 15 días en la población BI han emergido como término medio 6 adultos por vial, mientras que la producción media de la población Dh 73 ha sido de 1,3 adultos únicamente (Tabla 22). La producción acumulada siempre es mayor en la población BI y como consecuencia se obtiene un total de 32 individuos frente a los 22,6 emergidos como media de la población Dh 73.

Por tanto la producción de la población que manifiesta el comportamiento generador de la bimodalidad larvaria frente a la alta densidad, es mayor y más temprana que la de respuesta unimodal - (población Dh 73). Aun cuando a los siete días de desarrollo el número de larvas supervivientes es superior en Dh 73 que en BI, la relajación competitiva que se produce como consecuencia de la parada en el crecimiento de un grupo de larvas en la población BI, permite al resto de ellas pupar antes y alcanzar la forma adulta.

Este sistema adaptativo que regula el número de larvas que frenan su desarrollo en favor de otras que continúan su crecimiento en un medio más relajado, se manifiesta aun más claramente al incrementar la densidad larvaria o lo que es semejante, reducir la cantidad de alimento.

En las Tablas 25 y 26 se recoge la secuencia de emergencia de adultos de las poblaciones Dh 73 y BI cuando se siembran 50 lar-

vas recién emergidas en pequeños viales conteniendo 0,4, 0,3 y 0,2 c.c. de medio de cultivo. En estas condiciones extremas se expresan aun mejor los efectos de la respuesta bimodal y siempre los cultivos con larvas procedentes de la población BI producen más pupas y lo hacen más precozmente.

Cuando las 50 larvas disponen de 0,4 c.c. de medio de cultivo, en la población BI pupan como media 14 larvas y solo 4,7 en Dh 73. Si solo disponen de 0,3 c.c. de alimento la población BI produce todavía 11 pupas, mientras que Dh 73 como media da lugar a 0,67. Finalmente cuando las 50 larvas solo disponen de 0,2 c.c. de alimento se reduce la pupación en BI a 2,2 larvas, pero en la población Dh 73 solo lo hacen 0,17.

En los cultivos de la población Dh 73 las 50 larvas inician su crecimiento sin que se frene significativamente el crecimiento de ninguna de ellas. Esto origina una temprana extinción del alimento, antes de que ninguna larva alcance el punto crítico tras el cual puede alcanzar la pupación, y consiguientemente en ese vial no se produce ninguna pupa. Asi de los 12 viales conteniendo 0,3 ó 0,2 c.c. de medio de cultivo 7 no produjeron ninguna pupa, 4 solo 1 y un vial produjo 2 pupas.

Por el contrario en los cultivos de la población BI, debido a la respuesta adaptativa de sus larvas, siempre se produjeron pupas en todos los viales, llegando algunos con 0,3 c.c. de alimento a producir hasta 14 y 15.

Esta clara ventaja adaptativa de la población BI cuando las larvas se desarrollan en pequeñas cantidades de alimento, se ve aun más clara cuando analizamos no solo los tamaños, sino los pesos

de sus larvas y la biomasa total que se desarrolla.

En la Tabla 15 están calculados los pesos medios y las biom_{as} de las poblaciones larvarias de BI y Dh 73 cuando se siembran 200 larvas en viales de 2 c.c. de medio de cultivo. Si nos fijamos en el 7º día de desarrollo observaremos que en los viales de la población Dh 73 se encuentran como media 169 larvas con una amplia -- distribución de tamaños que equivalen a una biomasa total de 282 - mgr., lo que representa un peso medio por larva de 1,67 mgr. En los viales de la población BI se mantienen 150 larvas con una distribución de tamaños claramente bimodal, con una biomasa total de 194 - mgr. Pero es interesante separar las larvas en los dos grupos: el - de las pequeñas contiene casi la mitad de las larvas con tan solo - una biomasa de 25,8 mgr. y un peso medio por larva de 0,36 mgr; el grupo de las grandes arroja una biomasa de 168 mgr. lo que supone un peso medio de estas larvas de 2,85 mgr.

Es decir que en el grupo de larvas pequeñas el peso medio por individuo es 8 veces inferior al de las grandes y consiguientemente el consumo de alimento que han efectuado es del mismo orden - de magnitud. La relajación competitiva que produce esta situación - en el grupo de larvas que contienen su desarrollo, hace que pupen - antes y emerjan más adultos.

Parece pues que en D. hydei se ha desarrollado un mecanismo de control del desarrollo larvario que permite a la especie explotar los recursos alimenticios en condiciones de saturación, regulando adaptativamente, a través de un mecanismo de respuesta de las larvas, la máxima utilización del recurso. Esto se logra mediante una respuesta de la población larvaria regulada por la cantidad de ali-

mento (o de algun componente alimenticio), que provoca la parada en el crecimiento de una cierta proporción de sus larvas en beneficio del resto, que continua más relajadamente su desarrollo. Un nuevo aporte de alimento permite a las larvas frenadas en su crecimiento - continuar este y producir adultos. Este comportamiento larvario es regulable, y depende de la relación alimento-larva.

Esta respuesta a la densidad que aparentemente implica ventajas ecológicas se ha perdido en la población Dh 73, mantenida durante tres años en el laboratorio. Los resultados experimentales - cuando se comparan separadamente las dos poblaciones muestran una clara ventaja adaptativa de la población BI, al producir en condiciones de alta densidad más adultos y más tempranamente.

Sin embargo, cuando compiten en el mismo vial larvas de - las dos poblaciones, los resultados muestran una situación competitiva que claramente favorece a la población Dh 73. En viales conteniendo 0,3 c.c. de medio de cultivo se sembraron 50 larvas recién - emergidas, tomadas en distintas proporciones de las dos poblaciones en estudio Dh 73 y BI. En la Tabla 29 se encuentran el número de adultos producidos y la viabilidad larva-adulto, distinguiendo el origen de los individuos por su fenotipo. En los cultivos de una sola población, BI presenta claras ventajas pues de las 50 larvas, emergen como media casi 11 adultos, frente a solo 2,8 en la población Dh 73. Pero cuando compiten los dos tipos de larvas en el mismo vial, Dh 73 es más ventajosa, situación que se acrecienta tanto más cuanto menor es su densidad relativa. Por el contrario en la población BI se observa una pérdida de la capacidad de producir adultos a medida que se incrementa la densidad relativa de Dh 73. Consiguien

temente en todo el rango de densidades relativas probado la capacidad competitiva es muy superior en las larvas de la población Dh 73.

No es posible diferenciar los orígenes poblacionales en las larvas debido a que no se dispone de marcadores fenotípicos para ello y solo cuando los adultos emergen se reconocen por el fenotipo guinda. Así pues, no es posible averiguar la estructuración de tamaños de la población larvaria mixta a los siete días de desarrollo, pero podemos, con bastantes argumentos suponer que es lo que ocurre en los viales.

Cuando se desarrollan 50 larvas de la población BI, a partir del tercer día la población se escinde en dos grupos, como respuesta a la escasez de alimento. El grupo de larvas pequeñas frena su desarrollo permitiendo crecer rápidamente a unas pocas larvas, pu par y dar origen a 11 adultos. Cuando en el vial se siembran 45 larvas BI y 5 larvas Dh 73, el proceso discurre de una manera semejante pero las 5 larvas Dh 73 al no ser sensibles al estímulo que frena a las larvas BI, continúan su desarrollo en un ambiente más relajado y casi todas llegan al estado adulto.

Si estas mismas 5 larvas de la población Dh 73 compitieran con otras 45 del mismo origen, en su mayoría no llegarían al estado adulto pues el medio se agotaría antes de alcanzar el estado crítico, al no frenar ninguna larva su desarrollo. Sus expectativas serían tan solo de producir 0,3 adultos como media entre las 5.

El resultado plantea problemas evolutivos complejos que ha cen difícil comprender el origen del comportamiento bimodal y su mantenimiento en la población. En cierto sentido el comportamiento

de las larvas de la población BI, que es el general en las poblaciones naturales, es de naturaleza altruista pues permite el desarrollo de ciertos individuos en función de otros que permanecen sin crecer y consiguientemente no llegarán al estado adulto. Una vez adquirido este comportamiento por la población, presenta claras ventajas ecológicas al regular la emergencia de adultos y evitar que el alimento se agote sin producción.

Si todos los individuos presentan el carácter la selección no puede operar por falta de variación genética y el que una larva quede frenada en su desarrollo o continúe su crecimiento dependerá del momento en que el estímulo alcance el umbral. El comportamiento altruista potencialmente lo poseen todas las larvas y que lo manifiesten o no es exclusivamente ambiental.

Pero si hay variación genética en las poblaciones, aquellas larvas cuyos genotipos no sean sensibles al estímulo generado por la escasez de alimento, tendrán una clara ventaja. Al producir comparativamente más adultos su frecuencia se incrementará en la población con la consiguiente pérdida del carácter adaptativo.

Quizas sea esta la explicación del origen de la población Dh 73 en el laboratorio, pero entonces sería difícil comprender por qué en las mismas condiciones otras dos poblaciones experimentales no han modificado en el mismo sentido su respuesta larvaria. Si la variante genética insensible al estímulo es recesiva y se encuentra en muy baja frecuencia, su efecto fenotípico podría no manifestarse en la población a no ser en ciertos casos en los que la deriva genética incrementase su frecuencia inicial.

La base genética responsable del comportamiento larvario -

que hemos denominado bimodal en la población BI y que no esta presente en la población Dh 73 es difícil de determinar por la propia naturaleza de su expresión. El fenotipo bimodal no se manifiesta a nivel individual sino en el poblacional, ya que solo se expresa en densidades elevadas. Por tanto para determinar el genotipo de un individuo hay que analizarlo en su descendencia, y no con sus hijos - sino con individuos de la F_2 ya que experimentalmente se necesita la obtención sincrónica de un gran número de larvas. Esto obliga a cruzar el individuo objeto del análisis y a su descendencia, con las complicaciones de estudiar una población posiblemente integrada por varios genotipos.

Los resultados obtenidos con las líneas endógamas (Tablas 31 y 32, Figuras 36, 37 y 38) muestran que cuando todos los individuos tienen el mismo genotipo, se obtiene una respuesta claramente bimodal si proceden de la población BI y unimodal si proceden de la Dh 73. Es decir la respuesta bimodal de la población BI no se debe a un polimorfismo sino a una clara respuesta del genotipo de la población.

Si el comportamiento bimodal se debiera a la acción combinada de varios genes (sistema poligénico), que estuvieran sustituidos por otros en la población Dh 73, se debería esperar en las líneas endógamas una mayor varianza en la expresión de sus genotipos. Sin embargo todas las líneas procedentes de la población BI son netamente bimodales y lo que varían son la viabilidad larvaria y sus tamaños medios, caracteres cuya base genética si que es poligénica.

Por otra parte en el modelo fisiológico propuesto, para explicar la aparición de la distribución bimodal de las larvas, basta

ría la presencia de un gen sensible a un cierto estímulo, que bloqueara la segunda muda larvaria a partir de un cierto nivel umbral del estímulo. Si este gen no está presente en la población Dh 73, esta no manifestaría el carácter y sus larvas no se escindirían en dos grupos en presencia del estímulo. Nos encontraríamos pues con un modelo genético simple de un gen responsable del comportamiento larvario con dos alelos: Uno B que en estado homocigótico y a altas densidades larvarias provoca la escisión de la población larvaria produciendo la distribución bimodal; y otro b que en las mismas condiciones, no daría origen a la distribución bimodal de las larvas que no se escindirían en dos grupos.

Veamos los resultados experimentales bajo esta hipótesis simplificada de un gen y dos alelos. El modelo de acción génica propuesto predice que el heterocigótico formado por el cruzamiento de las dos poblaciones debería manifestar una respuesta bimodal, pues bastaría la presencia de una dosis del alelo B para provocar la parada en el crecimiento antes de la segunda muda larvaria en presencia del estímulo. Los resultados de la F_1 son concordantes con esta hipótesis pues aparece una clara respuesta bimodal semejante a la encontrada en la población BI. Consiguientemente el alelo B sería dominante sobre el b.

La respuesta de la población mixta F_2 originada del cruzamiento en masa de individuos procedentes de la F_1 es más difícil de prever en el modelo genético propuesto. Estaría integrada por un 25% de individuos B/B, un 50% de B/b y un 25% de b/b. Se esperará pues un 75% de respuesta bimodal y un 25% de respuesta unimodal, sin que pueda preverse la interacción de los individuos en las con

diciones fijadas de competición. Los resultados muestran una respuesta de nuevo bimodal sin que aparentemente se detecte el 25% de larvas esperadas de respuesta unimodal que quedarían englobadas entre las larvas del grupo de las grandes.

Si se cruza la F_1 con individuos procedentes de la población Dh 73 se espera de nuevo una población larvaria mixta integrada por un 50% de larvas B/b y otro 50% de b/b. Por tanto la mitad de las larvas tendrá una respuesta bimodal y la otra mitad unimodal siendo de nuevo difícil prever la acción combinada de esta respuesta en un mismo cultivo. Para obtener una simulación experimental de esta situación se sembraron simultáneamente y en las mismas condiciones de densidad, viales con 100 larvas procedentes de la población BI más 100 larvas de la población Dh 73. Los resultados que aparecen en la Figura 43 muestran que las distribuciones obtenidas del retrocruzamiento de la población F_1 con Dh 73 son semejantes a las simuladas experimentalmente y ambas de aspecto monomodal. La explicación de esta interacción en la situación 100 + 100 no es clara al no detectarse la presencia de las larvas bimodales, y por tanto si bien los resultados no invalidan el modelo genético propuesto, tampoco parecen apoyarlo.

Finalmente si se cruzan individualmente adultos de la F_2 con moscas de la población Dh 73 creándose líneas y estas se mantienen independientemente durante dos generaciones, a baja densidad, para lograr analizarla con suficiente número de larvas y réplicas, se deberían esperar los siguientes resultados: un 25% de las líneas procederán del cruzamiento de un individuo b/b de la F_2 por otro b/b de la población Dh 73 y darán origen a líneas b/b de respuesta uni-

modal. Un 50% de las líneas procederán del cruzamiento $B/b \times b/b$ y después de las dos generaciones necesarias para expandir la población, al menos un 50% de las larvas serán b/b dando consiguientemente una respuesta unimodal de acuerdo con la distribución obtenida en el cruzamiento de $F_1 \times Dh\ 73$. Finalmente un 25% de las líneas procederán del cruce $B/B \times b/b$, que después de las dos generaciones producirán una segregación semejante a la ya analizada para la F_2 con una respuesta bimodal. Los datos obtenidos experimentalmente muestran que de 16 líneas estudiadas, 3 muestran una respuesta bimodal, siendo este resultado compatible con el 25% esperado en base al modelo genético propuesto.

Si bien es posible analizar estos resultados con otros modelos genéticos más complejos y encontrar compatibilidad, debido a la dificultad de análisis de este carácter parece más aconsejable centrarse en los aspectos fisiológicos y de acción génica del sistema y una vez conocidos, será más sencillo determinar su base genética.

Por otra parte es de preveer que en el modelo genético propuesto de un gen responsable de la parada del crecimiento larverio anterior a la segunda muda en presencia de una cierta cantidad del estímulo, el umbral de acción sea regulado por otros genes que lo modifiquen adaptativamente para alcanzar una producción máxima en situaciones de saturación del medio por la población.

En diversas especies de Drosophila el desarrollo solo puede completarse en presencia de determinados esteroides (Heed y Kircher, 1965; Robertson et al. 1968, Kircher, 1969). El hecho de que las larvas de D. hydei necesiten levadura viva para su desarrollo

y que en su ausencia queden frenadas sin lograr pasar la segunda - muda, apunta a una posible dependencia de las larvas respecto a - ciertos esteroides, precursores de la ecdisona u hormona de la muda, que serían obtenidos solo de la levadura viva. Los niveles de esteroles asequibles a las larvas constituirían el estímulo que, por - debajo de un cierto umbral, provocaría la respuesta bimodal observada en los tamaños larvarios.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Mediante una técnica que permite la extracción de la totalidad de las larvas presentes en un vial, su fijación y medida, se ha estudiado el desarrollo de poblaciones larvarias de Drosophila hydei de diferentes orígenes, para determinar los mecanismos adaptativos que se producen como respuesta a la densidad.

En cuatro poblaciones naturales de D. hydei y dos experimentales, mantenidas más de tres años en el laboratorio, se ha detectado una respuesta larvaria en altas densidades, que origina una distribución bimodal de longitudes. Esta respuesta no se manifiesta en otra población experimental de la misma procedencia, en donde los tamaños larvarios -- presentan una distribución unimodal. Esta última población, denominada Dh 73, y otra de recinete recolección, BI, han sido estudiadas para determinar la naturaleza de sus comportamientos larvarios.

La respuesta que genera la distribución bimodal de tamaños -- larvarios en la población BI no se produce a bajas densidades y solo aparece a partir de la densidad de 50 larvas por vial con 2c.c. de medio de cultivo. En densidades superiores aparece la respuesta bimodal, tanto más acusada cuanto mayor es la densidad.

La respuesta bimodal se produce entre el tercer y cuarto día de desarrollo y se mantiene sin modificaciones durante los 12 días estudiados. El mínimo de la distribución de los tamaños larvarios permanece fijo y lo único que varía es la proporción de larvas grandes y pequeñas. En densidades altas el grupo de larvas pequeñas es mayor.

Del análisis detallado del crecimiento de larvas individualizadas se deduce, que la aparición de la bimodalidad surge cuando las lar

vas pasan la segunda muda, de tal manera que las pequeñas están en el 1^{er} y 2^o estadios larvarios y las grandes en el 3^o.

En densidades larvarias elevadas Dh73 mantiene una distribución unimodal de tamaños, incrementándose la varianza para el desarrollo con la densidad. En BI la población larvaria se escinde en dos, el grupo de larvas pequeñas frenan su desarrollo, mientras que el grupo -- de las mayores continúan su crecimiento en condiciones más relajadas, -- lo que les permite pupar antes y en mayor número.

El comportamiento que genera la bimodalidad en la población BI y que depende de la relación alimento-larva, no parece deberse a la acumulación de metabolitos larvarios en el medio, pero es sensible a la presencia de levadura viva. Cuando ésta falta el crecimiento larvario se paraliza antes de llegar a la segunda muda.

El porcentaje de larvas que alcanza el estado adulto, para un amplio rango de densidades, es más elevado en la población BI que en Dh 73 y esta ventaja se acrecienta al aumentar la densidad. Cuando se relaja la competencia larvaria por incorporación de nuevo alimento, tanto -- las larvas pequeñas que se mantienen frenadas en su desarrollo como las grandes continúan su crecimiento hasta pupar.

Para explicar estos resultados se plantea el siguiente modelo: las larvas de D. hyaei manifiestan un punto crítico en su desarrollo, inmediatamente anterior a la segunda muda, sensible a un estímulo, de tal manera que cuando este alcanza un cierto valor umbralíco el crecimiento se detiene. El estímulo depende de la relación alimento-larva y por tanto se incrementa al aumentar la densidad. El estímulo también crece a medidá que las larvas se desarrollan al aumentar estas su tamaño y empobrecerse relativamente el medio alimenticio. El genotipo de las larvas de --

la población BI es sensible al estímulo, mientras que las larvas Dh 73 poseen genotipos que no responden a él. El estímulo está relacionado con la presencia de levadura viva en el medio.

Mediante la obtención de la F_1 (cruzamientos de individuos de las poblaciones Dh 73 y BI), la F_2 , el retrocruzamiento de la F_1 por individuos de la población Dh 73, y el análisis de la F_2 cruzada con individuos de la población Dh 73, se ha tratado de determinar la base genética del carácter que genera la bimodalidad larvaria. Los resultados son compatibles con la hipótesis de un gen con dos alelos. El alelo B, dominante, sería sensible al estímulo de tal manera que las larvas homocigóticas o heterocigóticas responderían en cultivos altamente densificados deteniendo su desarrollo. El alelo b, recesivo, no sería sensible al estímulo y las larvas homocigóticas no detendrían su crecimiento en las mismas condiciones.

En cultivos puros, altamente densificados, el genotipo B/B es superior al b/b en viabilidad y velocidad de desarrollo, pero esta situación se invierte en cultivos mixtos donde el genotipo b/b posee mayor capacidad competitiva.

Se discute la naturaleza de este comportamiento generador de la bimodalidad larvaria, como una respuesta adaptativa de la población frente a condiciones de saturación del medio, planteando los aspectos evolutivos de un carácter cuya respuesta puede considerarse altruista.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento :

Al Dr. Eduardo Torroja Cavanillas, Investigador Científico, por la dirección del trabajo y por su constante ayuda, sin las cuales aquel no habría podido realizarse.

A Rosario de Andrés y Margarita Almazán por su inestimable -- ayuda en la realización del trabajo experimental y por su amistad y apoyo.

A Silvia Prieto por la colaboración prestada en la elaboración de diversas partes del trabajo.

A mi hermano Antonio por la paciencia derrochada en la realización de las figuras.

Y por fin a Mary Carmen por su comprensión y estímulo, así como por el apoyo que me ha prestado en los momentos de desaliento y por la mecanografía del texto de la memoria que ha compartido con M^ª Victoria Lafita.

BIBLIOGRAFIA

- ALI, A. M. M.; EL-HELW, M. R.- 1974. Differences in the yeast preferred by Drosophila melanogaster and D. simulans. Egypt. J. Genet. Cytol., 3: 204-210.
- AYALA, F. J.- 1966. Dynamics of population. I. Factors controlling population growth and population size in Drosophila serrata. Am. Nat., 100: 333-334.
- 1970. Competition, coexistence and evolution. In: "Essays - in evolution and genetics in honor of Theodosius Dobzhansky" (M. K. Hecht, W. C. Steeve. Eds.) pp.: 121-158.
- BAKKER, K. .- 1961. An analysis of factors which determine success in - competition for food among larvae of Drosophila melanogaster Archives Neerlandaises de Zoologie, 14: 200-281.
- BAUMBERGER, J. P.- 1917. The food of Drosophila melanogaster Meigen. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 3: 122-126.
- BELL, T. A.; ETCHELLS, J. L.;BORG, A. F.- 1959. Influence of sorbic acid on the growth of certain species of bacteria, yeast - and filamentous fungi. J. Bacteriol., 77: 573-580.
- BENTVELZEN, P.- 1963. Some interrelations between density and genetic - structure of a Drosophila population. Genetica, 34:229-241.
- BIRCH, L. C.- 1957. The meanings of competition. Am. Nat., 91: 5-18.
- BOS, M.- 1979. Mutual facilitation between larvae of Drosophila melano-
gaster cultured on sterol mutant yeast, Evolution, 33: 768-
771.
- BOS, M.; BURNET, B.; FARROW, R.; WOODS, R. A.- 1976. Development of Dro-
sophila on sterol mutants of the yeast Saccharomyces cerevi-

- side. Genet. Res., 28: 163-176.
- BOS, M.; BURNET, B.; FARROW, R.; WOODS, R. A.- 1977. Mutual facilitation between larvae of the sibling species Drosophila melanogaster and D. simulans. Evolution, 31: 824-828.
- BRNCIC, D.; BUDNIK, M.- 1976. Effects of larval biotic residues on chromosomal polymorphism of Drosophila pavani. Evolution, 30: 146-151.
- BUDNIK, M.; BRNCIC, D.- 1976. Effects of larval biotic residues on viability in four species of Drosophila. Evolution, 29: 777-780.
- BURNET, B.; SEWELL, D.; BOS, M.- 1977. Genetic analysis of larval feeding behaviour in Drosophila melanogaster. II. Growth relations and competition between selected lines. Genet. Res., 30: 149-161.
- CHURCH, R. B.; ROBERTSON, F. W.- 1966. Biochemical analysis of genetic differences in the growth of Drosophila. Genet. Res., 7: 383-407.
- DAWOOD, M. M.; STRICKBERGER, M. W.-1969. The effect of larval interaction on viability in Drosophila melanogaster. III. Effects of biotic residues. Genetics, 63: 213-220.
- DOBZHANSKY, Th.-1948. Genetics of natural populations. XVIII. Experiments on chromosomes of Drosophila pseudoobscura. Genetics 33: 588-602.
- 1950. Genetics of natural populations. XIX. Origin of heterosis through natural selection in populations of Drosophila pseudoobscura. Genetics, 35: 288-302.
- 1951. Genetics and the origin of species. 3rd Ed. N.Y. Co -

Columbia Univ. Press. 364 pp.

- BZHANSKY, Th.; LEWONTIN, R.C.; PAVLOVSKY, O.- 1964. The capacity for increase in chromosomally polymorphic and monomorphic populations of Drosophila pseudoobscura. Heredity, 19: 597-614.
- BZHANSKY, Th.; PAVLOVSKY, O.- 1961. A further study of fitness of chromosomally polymorphic and monomorphic populations of Drosophila pseudoobscura. Heredity, 16: 169-176.
- BRINGTON, P. L.- 1934. Vulnerability of bobwhite populations to predators. Ecology, 15: 110-127.
- CLONER, D.S.- 1970. Introducción a la genética cuantitativa. C.E.C.S.A., Mexico, pg. 117
- COOMAN, D.-1979. Competitive hierarchies in laboratory Drosophila. Evolution, 33:207-219
- COOPER, W.B.; KIRCHER, H.W.- 1965. Unique sterol in the ecology and nutrition of Drosophila pachea. Science, 149: 758-761.
- COOPER, K.J. - 1974. Hormonal control of insect development. In: Invertebrate endocrinology and hormonal heterophily (Ed. W.J. Burdett) Springer-Verlag. N.Y. pp.:7-28
- COOPER, H.W.- 1969. Sterols in the leaves of the Cheirodendron gaudichaudii free and their relationship to Hawaiian Drosophila ecology. Jour. of Insect Physiol., 15: 1167-1173
- LEWONTIN, R.C.- 1955. The effects of population density and composition on viability in Drosophila melanogaster. Evolution, 9:27-41
- LEWONTIN, R.C.; MATSUO, Y.- 1963. Interaction of genotypes determining viability in Drosophila busckii. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 49: 270-278

- NOGUES, R.M.- 1977. Population size fluctuations in the evolution of experimental cultures of Drosophila subobscura. *Evolution*, 31: 200-213.
- NORTHRUP, J.H. - 1917. The role of yeast in the nutrition of insect (Drosophila). *Jour. of Biol. Chem.*, 30: 428-437.
- OHNISHI, S.- 1976. Effects of population density and temperature condition on fitness in Drosophila melanogaster. I. Developmental time and pre-adult viability. *Japan J. Genet.*, 51: 19-25
- PARK, T.- 1948. Experimental studies of interspecies competition. I. Competition between populations of the flour beetles, Tribolium confusum Duval and Tribolium castaneum. *Herbst. Ecol. Monographs*, 18: 265-307.
- 1954. Experimental studies of interspecies competition. II. Temperature, humidity and competition in two species of Tribolium. *Physiol. Zool.*, 27, : 177-238.
- PARSONS, P. A.- 1973. Behavioural and ecological genetics. A study in Drosophila. Oxford Univ. Press, pp.:110.
- ROBERTSON, F. W.- 1960a. The ecological genetics of growth in Drosophila. I. Body size and developmental time of different diets. *Genet. Res.* 1: 288-304.
- 1960b. The ecological genetics of growth in Drosophila. 2. Selection for large body size on different diets.
- 1960c. The ecological genetics of growth in Drosophila. 3. Growth and competitive ability of strains selected on different diets. *Genet. Res.* 1: 333-350.
- 1961. The ecological genetics of growth in Drosophila, 4,. The influence of larval nutrition on the manifestation of

- dominance. Genet.Res.,2: 346-360
- 1963. The ecological genetics of growth in Drosophila,6. The genetic correlation between the duration of the larval period and body size in relation to larval diet. Genet.Res. 4: 74-92.
- 1964. The ecological genetics of growth in Drosophila 7. The role of canalization in the stability of growth relations. Genet.Res. 5: 107-126.
- 1966. The ecological genetics of growth in Drosophila.8. Adaptation to a new diet. Genet. Res.,8: 165-180.
- ROBERTSON,F.W.; SHOOK,M.; TAKEI,G.;GAINES,H. -1968. Observations on the biology and nutrition of Drosophila disticha, Hardy an indigenous Hawaiian species. Univ. of Texas Publ., 6818: 279-299.
- ROYES, W.V.; ROBERTSON, F.W. - 1964. The nutritional requirements and growth relations of different species of Drosophila. J. Exp. Zool., 38: 973-809.
- SANG, J.H. - 1956. The quantitative nutritional requirements of Drosophila melanogaster. J. Exp. Biol., 33: 45-72.
- SEWELL, D.F.; BURNET, B.; CONNOLLY, K. - 1975. Genetic analysis of larval feeding behaviour in Drosophila melanogaster. Genet. Res., 24: 163-173.
- TANTAWY, A.D.; VETUKHIU, M.O. - 1960. Effects of size on fecundity, longevity and viability in populations of Drosophila pseudobscura. Am. Nat., 94: 395-403.
- WAGNER, R.P. - 1944. The nutrition of Drosophila mulleri and D. aldridi. Growth of the larvae on cactus extract and the microorganism

found in cactus. Univ. of Texas Publ., 4445: 104-128.

- 1949. Nutritional differences in the mulleri group. Univ. of Texas Publ., 4920: 39-41.

WEISBROT, D.R. - 1966. Genotypic interactions among competing strains and species of Drosophila. Genetics, 53: 427-435.

