

Orientación por Gravedad y Luz
en la Locomoción de Larvas de
Drosophila (Diptera: Drosophilidae)

Tesis
entregada a la
Universidad de Chile
en cumplimiento parcial de los
requisitos para optar al grado de
Magister en Ciencias Biológicas
con mención en Fisiología

Facultad de Ciencias

por

Waldo Ismerian Mora Ulloa

Julio, 1988

Tutor de Tesis: Raúl Godoy Herrera
Patrocinante de Tesis: Humberto R. Maturana



Facultad de Ciencias

Universidad de Chile

Informe de Aprobación

Tesis de Magister

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magister presentada por el candidato

Waldo Ismenar Mora Ulloa

ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis, como requisito de Tesis para optar al Grado de Magister en Ciencias Biológicas con mención en Fisiología.

Profesor Guía de Tesis:

Dr. Raúl Godoy Herrera



Profesor Patrocinante de Tesis:

Dr. Humberto Maturana R.



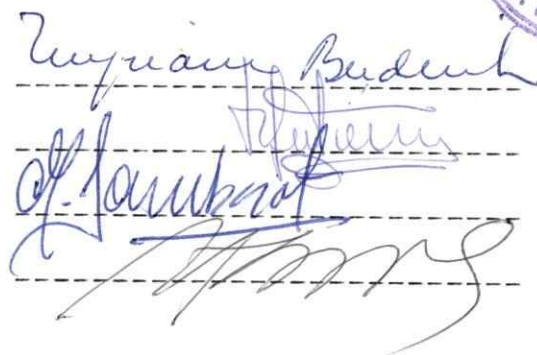
Comisión Informante de Tesis:

Dr. Miriam Budnik S.

Dr. Orlando Gutiérrez

Dr. Madeleine Lamborot

Dr. Fernando Lolas S.



A Fátima, mi compañera,

a nuestro hijo Santiago Andrés,

a mis padres y hermanos.



AGRADECIMIENTOS

A Raúl Godoy, que me incorporó a la genética del comportamiento, sin cuya gestión esta tesis no habría existido.

A Humberto Maturana R., por la generosidad de su quehacer científico y el afecto con que nos lo ha enseñado.

A los Profesores Myriam Budnick y Danko Brncic, que me permitieron el acceso a todos los recursos de su laboratorio de la Unidad de Genética y Evolución del Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, donde fué realizada esta tesis.

A mis profesores, compañeros y funcionarios de la Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, por la formación que me han entregado y por sus espíritus solidarios.

A la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias, por sus iniciativas de facilidades para sus estudiantes.

A la Universidad de Chile, que me ayudó con una Beca D. I. B. para tesis de postgrado.

A mis padres, que siempre han tenido fé en mí.

A mi compañera y a nuestro hijo Santiago, por el tiempo que me han dejado robarle a nuestro amor.



v

CONTENIDO

PAGINA DE TITULO EN CASTELLANO	i
INFORME DE APROBACION	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
CONTENIDO	v
LISTA DE TABLAS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xv
INTRODUCCION	1
1.1. Comportamiento animal y orientación espacial	1
1.2. Comportamiento animal y genética	2
1.3. Estudios con <i>Drosophila</i>	3
1.4. El problema	4
1.5. Objetivos	5
MATERIALES Y METODOS	6
2.1. Especies y cepas de <i>Drosophila</i>	6

2.2.	Condiciones de crianza	7
2.3.	Obtención de progenitores y progenies	7
2.4.	Obtención de larvas	7
2.5.	Cajas de experimentación	8
2.6.	Condiciones de experimentación	9
2.7.	Dispersión larval	9
2.8.	Dispersión bajo gradientes ortogonales de luz y gravedad	11
2.9.	Trayectoria larval	11
2.10.	Distribución de sexos en la dispersión	13
2.11.	Cruzamientos intraespecíficos	13
2.12.	Cruzamientos interespecíficos	14
2.13.	Análisis estadístico	14
RESULTADOS		16
3.1.	Dispersión bajo luz ambiental	16
3.2.	Dispersión en oscuridad	23
3.3.	Dispersión bajo gradientes ortogonales de luz y gravedad	23
3.4.	Actividad locomotora y ortocinesis bajo luz ambiental	23
3.5.	Clinocinesis bajo luz ambiental	29
3.6.	Orientación de las trayectorias individuales bajo luz ambiental	35
3.7.	Distribución de sexos luego de la dispersión en oscuridad	35
3.8.	Otras distribuciones de sexos luego de las dispersiones bajo luz y oscuridad	38
3.9.	Dispersión larval de híbridos intraespecíficos	38
3.10.	Dispersión larval de híbridos interespecíficos	43

DISCUSION 47

- 4.1. Dispersión bajo luz ambiental 47
- 4.2. Dispersión en oscuridad 48
- 4.3. Dispersión bajo gradientes ortogonales de luz y gravedad 49
- 4.4. Actividad locomotora y ortocinesis bajo luz ambiental 49
- 4.5. Clinocinesis bajo luz ambiental 51
- 4.6. Orientación de las trayectorias individuales bajo luz ambiental 52
- 4.7. Distribución de sexos luego de la dispersión en oscuridad 53
- 4.8. Otras distribuciones de sexos luego de las dispersiones bajo luz y oscuridad 53
- 4.9. Dispersión larval de híbridos intraespecíficos 54
- 4.10. Dispersión larval de híbridos interespecíficos 55
- 4.11. Conclusiones y comentarios finales 55

APENDICE 58

REFERENCIAS 62

LISTA DE TABLAS

1. Crecimiento en tamaño de las larvas de la cepa Oregon R-C de *D. melanogaster*. 10
2. Desarrollo de la dispersión en larvas Oregon R-C, de 24, 48, 72, 96 y 120 horas de edad. Se describe la dispersión en un plano vertical y en oscuridad. 26
3. Análisis de varianza de la dispersión de larvas Oregon R-C, de 24 horas de edad, bajo gradientes ortogonales de luz y gravedad. 27
4. Análisis de varianza de la actividad locomotora en larvas Oregon R-C de 24, 48, 72, 96 y 120 horas de edad. 28
5. Comparación, mediante análisis de varianza, entre actividades locomotoras según inclinación del plano, observadas en larvas Oregon R-C de 24, 48, 72, 96 y 120 horas de edad. 33
6. Desarrollo de la clinocinesis en trayectorias de larvas Oregon R-C, observadas bajo luz ambiental, sobre planos horizontal y vertical. 34
7. Desarrollo de la orientación en trayectorias de larvas Oregon R-C, observadas bajo luz ambiental, sobre planos horizontal y vertical. 36

8. Proporciones de machos y hembras observadas luego de la dispersión de larvas Oregon R-C de 24, 48, 72, 96 y 120 horas de edad, sobre el plano vertical y en oscuridad. 37
9. Distribución de sexos luego de la dispersión de larvas Oregon R-C con 24 y 120 horas de edad, sobre el plano vertical, bajo luz ambiental y en oscuridad. 39
10. Distribución de sexos durante la dispersión de larvas Oregon R-C y **white**, con 24 horas de edad, sobre el plano vertical, bajo luz ambiental y en oscuridad. 40
11. Análisis de varianza de la dispersión de larvas híbridas obtenidas al cruzar las cepas Oregon R-C y **white**, observada sobre el plano vertical y bajo luz ambiental. 44
12. Análisis genético-biométrico de la dispersión de larvas híbridas obtenidas al cruzar las cepas Oregon R-C y **white**, observada sobre el plano vertical y bajo luz ambiental. 45

LISTA DE FIGURAS

1. Dispersión promedio en función del tiempo, observada en larvas de *D. melanogaster* y de *D. simulans*, bajo luz ambiental, sobre los planos horizontal y vertical. 17
 - 1.A. y 1.F. 24 horas de edad. 18
 - 1.B. y 1.G. 48 horas de edad. 19
 - 1.C. y 1.H. 72 horas de edad. 20
 - 1.D. y 1.I. 96 horas de edad. 21
 - 1.E. y 1.J. 120 horas de edad. 22

2. Promedio de todas las medidas registradas entre el segundo y el tercer minuto de dispersión de larvas de *D. melanogaster* y de *D. simulans*, observadas a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas de edad, bajo luz ambiental, sobre los planos horizontal y vertical. 24
 - 2.A. Cepa Oregon R-C. 25
 - 2.B. Cepa Guillicura. 25

3. Actividad locomotora de larvas de *D. melanogaster* cepa Oregon R-C, observada bajo luz ambiental y sobre los planos horizontal y vertical. 30
 - 3.A. 24 horas de edad. 30
 - 3.B. 48 horas de edad. 31
 - 3.C. 72 horas de edad. 31
 - 3.D. 96 horas de edad. 32

- 3.E. 120 horas de edad. 32
4. Dispensión (4.A.) y actividad locomotora (4.B.) de larvas híbridas Oregon R-C x **white**, a las 24 horas de edad, sobre el plano vertical y bajo luz ambiental. 41
5. Dispensión de larvas híbridas, de 24 horas de edad, obtenidas al cruzar las especies **D. melanogaster** y **D. simulans**, sobre el plano vertical y bajo luz ambiental. 46

RESUMEN

Se registró el desarrollo de la dispersión relativa de grupos de larvas *Drosophila melanogaster* cepa Oregon R-C y *Drosophila simulans* cepa Quilicura, sobre superficies de agar (gel) dispuestas horizontal y verticalmente, bajo luz ambiental. En el plano horizontal la dispersión fué aleatoria, independientemente de la edad ó genotipo de las larvas. En el plano vertical, la dispersión de larvas Oregon R-C de 24, 48 y 120 horas de edad fué con tendencia a bajar; una conducta parecida se observó en larvas Quilicura de 72, 96 y 120 horas de edad. La interpretación de éstos resultados fué que las larvas de *Drosophila* presentan taxis u orientación de la locomoción. La hipótesis de trabajo fué que se trataba de una conducta de orientación determinada genéticamente, dado que existían diferencias conductuales en relación al desarrollo y al genotipo.

Para establecer si se trataba de orientación de la locomoción, se registraron trayectorias individuales de larvas Oregon R-C, mientras reptaban sobre superficies de agar dispuestas horizontal y verticalmente, bajo luz ambiental. Se encontró que a través del desarrollo, el patrón de orientación de los desplazamientos individuales coincidió con el patrón de orientación de la dispersión; además, aunque hubo otros cambios ontogenéticos de la locomoción (ortocinesis, clinocinesis y los atribuibles a reactividad), estos no pueden explicar las diferencias de

conducta dispersiva observadas sobre planos con diferente inclinación, ya que sus patrones de desarrollo son diferentes entre sí y con el patrón de desarrollo de la dispersión.

Para determinar la naturaleza de la taxis, se registró la dispersión de larvas Oregon R-C en oscuridad, sobre el plano vertical y a diferentes edades. Se encontró que a través del desarrollo, el patrón de dispersión en oscuridad fué distinto al observado con esta misma cepa bajo luz ambiental. Aunque la tendencia global fué la dispersión geopositiva en todas las edades (excepto a las 24 horas), ella fué significativa solamente a las 96 horas de edad. Para demostrar la determinación genética sobre la orientación de la locomoción, se hicieron dos experimentos: (i) Un análisis de las proporciones de sexos entre larvas Oregon R-C que dispersaron en oscuridad, sobre el plano vertical. La conducta de orientación de los machos casi no fué significativamente diferente de aquella observada en las hembras, excepto entre larvas de 96 horas de edad, donde las hembras fueron más geopositivas en comparación a los machos. Aunque discutible, ambos sexos exhibieron globalmente una geotaxis positiva. Estos hechos pueden interpretarse como si existiera una base genética para ésta conducta, porque además ella cambia durante el desarrollo. (ii) Un análisis de segregación genético-conductual, de la dispersión de larvas híbridas Oregon R-C x white (ambas *D. melanogaster*) y de larvas híbridas Oregon R-C x *Gullicura* (de *D. melanogaster* y *D. simulans*, respectivamente), sobre el plano vertical y bajo luz ambiental, a la edad de 24 horas (estado I del desarrollo). Los resultados apoyan la

hipótesis de un gen mayor ligado al cromosoma X, que "controla" la conducta dispersiva descrita. Un experimento adicional, de dispersión en el plano vertical bajo gradientes ortogonales de luz (lateral) y gravedad, reveló que a ésta edad la orientación de la locomoción corresponde a una fototaxis.

orientation observed between horizontal and vertical conditions, because each of their development patterns is different, and all are different from the developmental pattern of dispersal.

To determine the type of taxis, the development of larval behavior across vertical planes was measured in darkness. It was found that Oregon R-C larvae showed globally, though weakly, a bottom oriented locomotion, in four of the five ages tested (the exception was age 24 hours).

To demonstrate the genetical determination of orientation behavior, two experiments were performed: (i) comparisons between both sexes, among those Oregon R-C larvae who dispersed up and down in darkness. The orientation behavior between sexes was not significantly different, with the exception of those females with 96 hours of age who oriented them with clear geopositive sense. This fact could be thought as there would be a genetic basis in this behavior, because there is a developmental change too. (ii) behavioral segregation analysis according to a quantitative genetic model, for dispersal across the vertical plane under room light shown by *D.melanogaster* larvae in the first instar of development (24 hours old). Results support the hypothesis of at least one major gene linked to the X chromosome that controls the described orientation behavior. An additional experiment, of dispersal across orthogonal gradients of light and gravity, revealed that, for this age, orientation behavior corresponds to phototaxis.

ABSTRACT

Relative dispersal observed in groups of larvae from the sibling species *Drosophila melanogaster* (Oregon R-C strain) and *Drosophila simulans* (Quilicura strain) was measured under room light, over agar surfaces disposed horizontally and vertically. In the horizontal plane, dispersal behavior was random, for both species and all five ages of larvae tested. Nevertheless, in the vertical plane *D. melanogaster* larvae at 24, 48, and 120 hours old showed a bottom oriented dispersal; similar behavior was observed in *D. simulans* larvae but with 72, 96, and 120 hours of development. An interpretation of these results is that *Drosophila* larvae exhibit taxis or oriented locomotion that could be negative phototaxis (due to room light), positive geotaxis, or both. The working hypothesis is that observed behavior of orientation is dependent on inheritance, because of behavioral differences associated with genotype and development.

To establish whether locomotion is really oriented, larval paths were recorded while individuals (Oregon R-C strain) displaced across horizontal and vertical agar surfaces, under room light. Throughout development, the orientation pattern of individual displacements agrees with group orientation pattern of dispersal in the vertical plane. Although others behavioral changes were observed, attributable to reactivity, orthokinesis, and klinokinesis, these could not explain differences in dispersal

INTRODUCCION

1.1 Comportamiento animal y orientación espacial.

El comportamiento de un animal comprende casi todas las manifestaciones de su existencia (Schöne, 1984). La etología, o estudio biológico del comportamiento, se centra esencialmente en las manifestaciones que se traducen en movimientos (Schöne, op cit).

Las regularidades de movimiento se denominan "unidades del comportamiento" (Klopfer, 1974). Un ejemplo son los patrones de acción fijos, definidos como una secuencia de movimientos caracterizada por una configuración específica en el tiempo y en el espacio; otros ejemplos son las pautas de movimiento casi completamente susceptibles a cambios por la experiencia o, incluso, que se generan como consecuencia de ésta (Hinde, 1970; Mayr, 1974).

La existencia de patrones o pautas conductuales sugiere una organización del comportamiento individual, coherente con el ambiente en que vive cada animal. Comportamiento de orientación se refiere a aquellas conductas asociadas con la distribución en el espacio de especies animales. En casi todos los fenómenos conductuales se distinguen movimientos de orientación. Estos pueden consistir en la traslación y/o en la rotación de un animal. Pueden implicar al animal completo o sólo a una parte de

él (Carthy y Howse, 1979). Los movimientos de rotación y traslación se caracterizan por su relación geométrica específica con variables ambientales, tales como la aceleración de gravedad o una fuente de luz. Como ésta relación espacial es lo evidente para un observador que analiza los movimientos que realiza un animal, su nomenclatura se refiere a tales asociaciones espacio-geométricas, por ejemplo taxis y cinesis.

En esta tesis se utiliza la definición de taxis dada por Fraenkel y Gunn (1940), es decir, una taxis es una "traslación paralela a la dirección de incidencia de un estímulo, pudiendo ser positiva o negativa, según si el animal se aproxima o se aleja del estímulo. Una cinesis se define como cambios de rapidéz (ortocinesis) o de dirección (clinocinesis) durante la traslación de un animal, producto del cambio de una variable ambiental (Gunn, 1975). A diferencia de las taxis, las cinesis no se describen según una relación geométrica constante con alguna variable ambiental.

1.2. Comportamiento animal y genética.

El análisis genético de rasgos comportamentales ha establecido que diferencias individuales en comportamientos son relativas al genotipo y al ambiente en el cual los animales se desarrollan (Fuller y Thompson, 1978; Plomin et al, 1980; Burnet y Connolly, 1981; Hall et al, 1982).

Entre los análisis genético-conductuales realizados, existen estudios acerca de la orientación espacial, especialmente con

respecto a la gravedad (geotaxis) y con respecto a la luz (fototaxis). La mayor parte de este tipo de estudios de orientación se han efectuado en el comportamiento de moscas *Drosophila* adultas (Koref-Santibáñez, 1984).

1.3. Estudios con *Drosophila*.

Algunas especies del género *Drosophila* tienen amplia distribución geográfica, son fáciles de capturar, de manipular y de criar en laboratorio. Se conoce su anatomía, fisiología, reproducción y desarrollo (Demerec, 1950), así como también de su genética, ecología y diversidad (V. referencias en Strickberger, 1976, y Ehrman y Parsons, 1981).

En el ciclo de estos insectos holometábolos, que dura alrededor de un mes, dependiendo de la especie, disponibilidad de alimento y la temperatura de crianza, un mismo individuo presenta cuatro formas vitales completamente diferentes: huevo, larva, pupa e imago (mosca adulta, alada y sexualmente madura), con autoecologías también muy diferentes.

D. melanogaster y *D. simulans* están entre las especies más estudiadas del género (Parsons, 1975). Ambas son gemelas, cosmopolitas y forman parte de un grupo de especies estrechamente emparentadas (Bock y Wheeler, 1972) que bajo condiciones de laboratorio presentan diferentes grados de interfertilidad, pero con descendencia estéril y que además suele presentar severas desviaciones de la proporción 1/1 entre sexos. Por ejemplo, al cruzar machos *D. melanogaster* con hembras *D. simulans* se obtienen

híbridos adultos machos y hembras en proporción 3/1 y del cruzamiento recíproco se obtienen solamente imagos hembras; estos resultados pueden modificarse si se cruzan cepas con arreglos cromosómicos (traslocaciones) diferentes al tipo silvestre (Watabe et al, 1977).

Son varias las conductas de adultos y larvas que han sido analizadas genéticamente (Grossfield, 1978). Entre ellas encontramos la geotaxis y la fototaxis de los adultos: ambas conductas están influenciadas por genes ubicados en cromosomas distintos, entre ellos el X, y que al parecer constituyen sistemas de "control" genético diferentes, vale decir que no están involucrados los mismos genes (Hirsch y Erlenmeyer-Kimling, 1962; Rockwell y Seiger, 1973; Ehrman y Parsons, 1981; Ricker y Hirsch, 1985). Sobre las conductas de orientación de las larvas en general (geotaxis y fototaxis en particular) hay escasa información disponible. Según Godoy-Herrera (1982), la traslación de una larva durante la excavación del sustrato se ve afectada por la gravedad y la iluminación. Algo análogo estaría ocurriendo durante la elección del sitio de pupación (Markow, 1979, 1981; Schnebel y Grossfield, 1986), una conducta que además dependería del sexo de las larvas (Casares y Carracedo, 1987).

1.4. El problema.

La evidencia experimental mencionada en la sección precedente, indirectamente sugiere la ocurrencia de una geotaxis en la locomoción de larvas de *Drosophila* y que además podrían existir

diferencias intersexuales al respecto. Empero, no hay antecedentes de que se hayan efectuado experimentos especialmente encaminados a estudiar esta conducta de orientación.

Un estudio etológico y genético de la dispersión y de las trayectorias de larvas de *Drosophila*, al desplazarse a favor o en contra de la gravedad, podría ayudar a establecer si existe relación entre la orientación con respecto a la gravedad y otras conductas tales como la excavación del sustrato (Godoy-Herrera, 1982) y elección del sitio de pupación, contribuyendo a la formulación de una explicación etológica para la utilización de recursos ecológicos tales como la comida y el espacio (Godoy-Herrera, op cit).

1.5. Objetivos.

El objetivo general de ésta tesis fué investigar si existe orientación con respecto a la gravedad en la locomoción de larvas de *Drosophila*, y si está bajo una determinación genética. Los objetivos específicos fueron: (a) describir la traslación larval, tanto en grupos como individualmente, y establecer si la locomoción se orienta con respecto a la gravedad, (b) estudiar el desarrollo de esta conducta y (c) analizar genéticamente parte de su variabilidad poblacional.

MATERIALES Y METODOS

2.1. Especies y cepas de *Drosophila*.

En éste estudio se utilizaron las cepas Oregon R-C (tipo silvestre) y white, de *Drosophila melanogaster*. Esta última cepa es homocigota para el gen recesivo w, ligado al cromosoma X y que determina color de ojos blanco (V. referencias en Strickberger, 1976). De *D. simulans* se utilizó la cepa silvestre Quilicura, que fué colectada en ese lugar (Budnick y Brncic, 1983).

La cepa Oregon R-C fué elegida porque se conoce el desarrollo de la conducta excavatoria de sus larvas, de manera que podría relacionarse ésta conducta con la distribución espacial debida a una orientación por gravedad. Las cepas white (*D. melanogaster*) y Quilicura (*D. simulans*) se eligieron porque pueden formar híbridos con la cepa Oregon R-C, permitiendo así un exámen genético del comportamiento de las progenies de larvas.

Todas estas cepas se encuentran en el cepario del Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

2.2. Condiciones de crianza.

Las moscas se criaron a 24 ± 1 °C, bajo iluminación constante, en botellas de vidrio con tapón de algodón y gasa, llenadas con unos 100 ml de medio nutritivo de Burdick (1954). Cada 15 a 20 días, las moscas recién nacidas se traspasaron a botellas con medio fresco, a fin de obtener la siguiente generación.

2.3. Obtención de progenitores y progenies.

Se colectaron al azar grupos de 50 hembras recién nacidas, de la misma cepa, y se les conservó aisladas en tubos de vidrio con medio nutritivo durante 3 días. También se colectaron grupos de 50 machos. Al cuarto día, luego de constatar que ninguna hembra había puesto huevos, se les mezcló con machos de la cepa elegida y después de 48 horas se colectaron los huevos para obtener las progenies respectivas.

2.4. Obtención de larvas.

Grupos de 50 hembras fecundadas, de unos 5 días de edad y de la misma cepa, se traspasaron a tubos de vidrio de 10 x 2,5 cm taponados con algodón y gasa, privándolas de agua y alimento durante 3 o 4 horas; luego se introdujo en cada tubo una cucharilla de plástico llenada previamente con medio nutritivo fresco. Sobre este medio se esparció una gota de ácido acético al 50% V/V. La privación de alimento (Godoy-Herrera, 1982) y el

ácido acético (Weisbrot, 1966) estimulan la ovipostura.

Al cabo de unas 5 horas, se retiraron los adultos de los tubos y se conservaron los huevos que fueron puestos sobre la papilla de la cuchara. Aproximadamente 20 horas más tarde, la mayoría de los huevos encontrados en las cucharillas habían eclosionado. Para controlar la edad de las larvas se procedió a coleccionar aquellas nacidas entre 16:00 y 18:00 horas, ocupando una aguja de acero y una lupa binocular. Estas larvas de edad conocida (incerteza de una hora) se distribuyeron en grupos de 40 individuos sobre cucharillas con medio fresco, se les introdujo en tubos de vidrio con tapón y se les guardó en la cámara de crianza de las moscas. Al tercer y cuarto día de incubación se colocó una gota de crema de levadura viva en cada cucharilla, para suplementar el medio nutritivo.

2.5. Cajas de experimentación.

Se ocuparon cajas de acrílico transparente de 15 x 15 x 2,5 cm (largo x ancho x alto) para larvas de 24, 48 y 72 horas de edad. Para larvas de 96 y 120 horas se ocuparon cajas más grandes, de 25 x 25 x 2,5 cm, porque debido a su mayor tamaño su actividad locomotora aumenta (Godoy-Herrera et al, 1984). Dentro de cada caja fué esparcida una capa de agar al 3% fundido. En la parte posterior se pegó un papel de color gris que, desde la parte anterior, era visible por transparencia. Este fondo de papel tenía dibujadas unas líneas que sirvieron como marco de referencia para registrar los movimientos.

2.6. Condiciones de experimentación.

La temperatura de trabajo fué de 23 ± 2 °C. Antes de cualquier experimento, se dejó a las larvas sobre agar durante 10 minutos para habituarlas al nuevo ambiente y limpiarlas de restos de comida (Troncoso et. al., 1987). Cada larva fue usada una sola vez, a fin de descartar posibles efectos de aprendizaje en los resultados (V. Aceves-Piña y Quinn, 1979). Todos los registros se hicieron entre las 12:00 y 16:00, para descartar efectos de posible ritmicidad circadiana.

2.7. Dispersión larval.

Sobre el centro de la capa de agar se depositaron 10 larvas tomadas al azar, de la misma cepa o progenie y de la misma edad. El fondo del papel gris tenía dibujadas dos líneas paralelas separadas por una distancia equivalente a 14 veces el largo larval promedio de la respectiva edad; la separación entre paralelas divide la superficie en tres regiones virtuales (superior, media e inferior) y se va modificando en forma proporcional al crecimiento de las larvas (tabla 1).

Cuando una larva "cruzaba" cualquier línea, se iniciaba el conteo del tiempo y cada 15 segundos, durante 3 o 4 minutos, se midió la dispersión según el índice $i = (I-S)/T$, donde S e I fueron los números de larvas sobre las regiones superior e inferior y T el total de dispersantes; i es positivo si las

TABLA 1. Distancia (D) entre las líneas paralelas que definen regiones superior, media e inferior, según la longitud corporal promedio (L) y edad de larvas Oregon R-C.

Edad (hrs)	L (mm) ^a	D (mm)
24	1,0	14
48	1,2	18
72	1,4	20
96	2,3	32
120	5,0 ^b	70

^a: según Araneda y Godoy-Herrera (1986), excepto ^b.

larvas se dirigen preferentemente hacia la región inferior y viceversa.

Con este experimento se pretendía conocer el sentido del desplazamiento de un grupo de larvas sobre una superficie de agar dispuesta horizontalmente y compararlo con aquel que se observa cuando la superficie se dispone verticalmente, así como también hacer comparaciones entre edades a través del desarrollo de las larvas.

2.8. Dispersión bajo gradientes ortogonales de luz y gravedad.

Se observó la dispersión de grupos de 10 larvas *D. melanogaster* cepa Oregon R-C, de 24 horas de edad, sobre un plano vertical iluminado lateralmente (40 W de luz fría a 50 cm del borde izquierdo). Al cabo de cuatro minutos, se contó el número de larvas sobre cada cuadrante del plano cartesiano, definido por ejes de referencia (V. sección 2.5.). El propósito fué estudiar simultáneamente los efectos de la luz y de la gravedad sobre la orientación larval. La diferencia de frecuencias entre (cuadrantes) I+II y III+IV tiene que ver con la geotaxis y la diferencia entre II+III y I+IV tiene que ver con la fototaxis.

2.9. Trayectoria larval.

Se depositó una larva, tomada al azar, sobre el centro de la superficie de agar y se dibujó su trayectoria sobre un papel cuadriculado con 0,5 cm de arista, idéntico al cuadriculado del

fondo de papel gris pegado atrás de la caja y que sirve como sistema de referencia con dos ejes ortogonales (plano x,y). Se dibuja la trayectoria durante 4 minutos, marcando la ubicación precisa cada 15 segundos, repitiéndolo 50 veces con diferentes larvas de la misma edad y cepa (o progenie).

La actividad locomotora de las larvas fué estimada midiendo la separación existente entre puntos sucesivos, en el registro de cada trayectoria individual. La clinocinesis fué descrita cualitativamente (Green et al, 1983), nominando los giros existentes entre intervalos sucesivos de la trayectoria como levogiro, dextrogiro o agiro según si la larva dobló hacia la izquierda, hacia la derecha o si no volteó, respectivamente. La orientación también se describió cualitativamente. Se nominaron las direcciones del vector de cambio de posición en cada intervalo de trayectoria: si el desplazamiento fué hacia el eje Y+, hacia el Y- o si fué ambiguo, se nominó "arriba", "abajo" o "~~medial~~", respectivamente.

Para comparar la conducta clinocinética observada en una muestra de larvas sobre un plano horizontal con la clinocinesis observada sobre un plano vertical, se contrastaron las frecuencias de eventos componentes (levogiro, agiro y dextrogiro) observados en el plano vertical con aquellas frecuencias correspondientes observadas sobre el plano horizontal, tomando estas últimas como el modelo de conducta esperada, evaluando luego la discrepancia con el estadígrafo χ^2 . Para evaluar las diferencias de orientación observadas entre larvas sobre distintos planos, se procedió de manera análoga. Esta proposición

metodológica se basa en el concepto de organización del comportamiento, donde junto con las frecuencias de los eventos conductuales se toman en cuenta también las frecuencias de transiciones entre ellos (Green et al, 1983).

Con este experimento se quiso conocer algunas de las características de la locomoción individual sobre una superficie de agar dispuesta horizontalmente y compararlas con aquellas que se observen cuando la superficie se dispone verticalmente, así como también hacer comparaciones entre edades a través del desarrollo de las larvas.

2.10. Distribución de sexos en la dispersión.

Para saber si las larvas de un sexo se orientaban de manera diferente a las del otro, se colectaron aquellas larvas que al término del experimento de dispersión estaban sobre las regiones superior e inferior, se les conservó (separadas según región) en tubos con medio fresco y finalmente se contó los números de hembras y machos adultos desarrollados a partir de dichas larvas.

2.11. Cruzamientos intraespecíficos.

Se cruzaron progenitores de las cepas de *D. melanogaster* Oregon R-C y white en las cuatro combinaciones posibles (V. sección 2. 3.). Luego se colectaron las respectivas progenies F1 y se registraron la dispersión y las trayectorias de larvas híbridas de 24 horas de edad, sobre el plano vertical y bajo luz

ambiental. Con este experimento se pretendió cuantificar variación de la dispersión debida a factores genéticos.

2.12. Cruzamientos interespecíficos.

Se cruzaron adultos de las especies gemelas *Drosophila melanogaster* cepa Oregon R-C y *Drosophila simulans* cepa Quilicura, en las cuatro combinaciones posibles, se colectaron las respectivas progenies de larvas F1 y se midió su dispersión en el plano vertical bajo luz ambiental a las 24 horas de edad. Con este experimento se trató de averiguar si existe una segregación de la conducta dispersiva sobre el plano vertical que se corresponda con algún patrón de segregación genética, aprovechando la excepcional proporción de sexos que se obtiene en cada uno de los cruzamientos recíprocos entre estas especies (V. sección 1.3.).

2.13. Análisis estadístico.

Todos los métodos mencionados a continuación están descritos en el texto de Steel y Torrie (1985).

Para estimar la probabilidad de que una muestra hubiese sido extraída de una población con media cero, se usó la prueba t de Student. La probabilidad de que dos o más medias pertenecieran a muestras de una misma población, se estimó mediante análisis de la varianza. La homoscedasticidad fué probada con el método X^2 de Bartlett, el que también es un indicador de la normalidad.

Los contrastes de frecuencias se realizaron con pruebas de χ^2 , asumiendo igual probabilidad para todas las clases (homogeneidad), salvo que se mencione otro supuesto como modelo.

Las pruebas estadísticas tuvieron un nivel de significancia del 5 %. Se indicó con asteriscos solo si los estadígrafos tuvieron ésta significancia o una mejor. Todas las probabilidades fueron de una cola, excepto para la prueba t de Student que siempre fué de dos colas. Los grados de libertad asociados a un estadígrafo fueron escritos entre paréntesis.

Se ocupó la abreviatura "p" para indicar la probabilidad de que, por azar del muestreo, se obtenga un estadígrafo igual o mayor al observado.

RESULTADOS

3.1. Dispersión bajo luz ambiental.

Al graficar la dispersión promedio en función del tiempo (Figura 1, A a J) se observa que sobre el plano horizontal la dispersión de larvas *D. melanogaster* cepa Oregon R-C y de *D. simulans* cepa Quilicura oscila en torno al valor 0,0 (dispersión uniforme o al azar). No se registró completamente la dispersión de larvas Quilicura de 120 horas sobre el plano horizontal, porque excavan el agar. En cambio, sobre el plano vertical, la dispersión ocurre en sentido descendente con larvas Oregon R-C de 24, 48 y 120 horas de edad y en larvas Quilicura a las 72, 96 y 120 horas de edad. Es interesante la forma de hipérbola rectangular que tienen estas curvas, tal que al segundo minuto ya se alcanza una región asintótica, como si la dispersión alcanzara un valor estable. Por esta razón, pareció apropiado considerar para análisis aquellas medidas registradas entre el segundo y tercer minuto de dispersión, y valorar la probabilidad de una media igual a cero con la prueba t de Student, bajo el supuesto de que la dispersión se distribuye normalmente (sobre esto último V. sección 3.9).

En el plano horizontal, la dispersión promedio de todas las larvas fué prácticamente cero, mientras que en el plano vertical el promedio se alejó significativamente hacia valores positivos

FIGURA 1. Índice de dispersión promedio en función del tiempo, observado en larvas *D. melanogaster* cepa Oregon R-C y larvas *D. simulans* cepa Quilicura, bajo luz ambiental, sobre los planos horizontal (cuadrados) y vertical (cruces). Cada curva representa el comportamiento de una muestra de 10 grupos de 10 larvas cada uno (de la misma edad y tomadas al azar). A, B, C, D, y E son las curvas de larvas Oregon R-C de 24, 48, 72, 96 y 120 horas de edad, respectivamente. F, G, H, I y J son las curvas de larvas Quilicura de 24, 48, 72, 96 y 120 horas de edad, respectivamente.

LARVAS D. MELANOGASTER

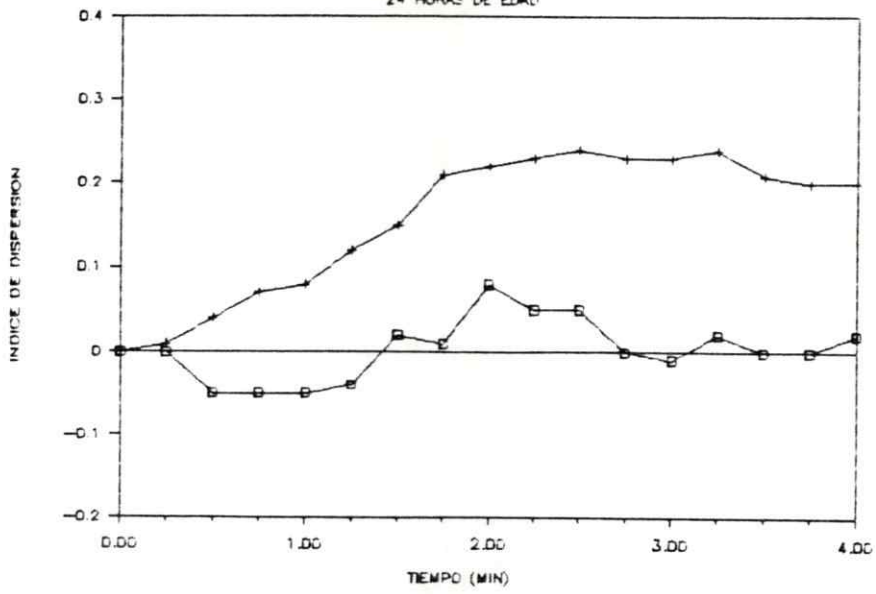
CEPA OREGON R-C
24 HORAS DE EDAD

FIGURA 1. A.

LARVAS D. SIMULANS

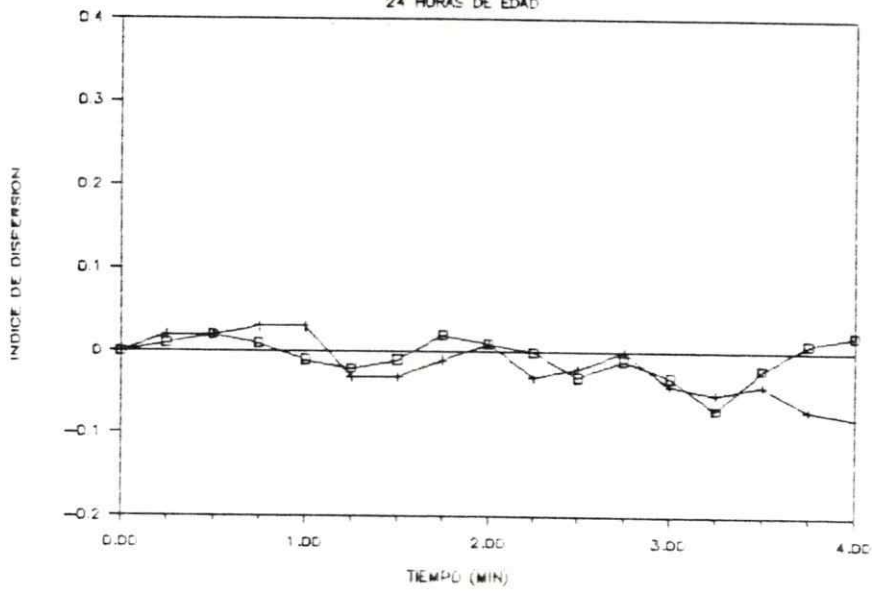
CEPA QUILICURA
24 HORAS DE EDAD

FIGURA 1. F.

LARVAS D. MELANOGASTER

CEPA OREGON R-C

48 HORAS DE EDAD

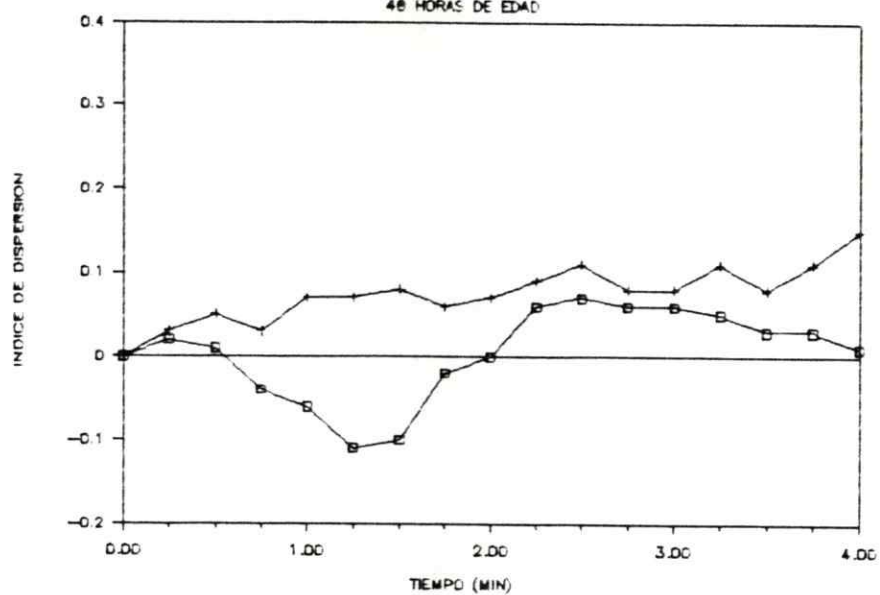


FIGURA 1. B.

LARVAS D. SIMULANS

CEPA QUILICURA

48 HORAS DE EDAD

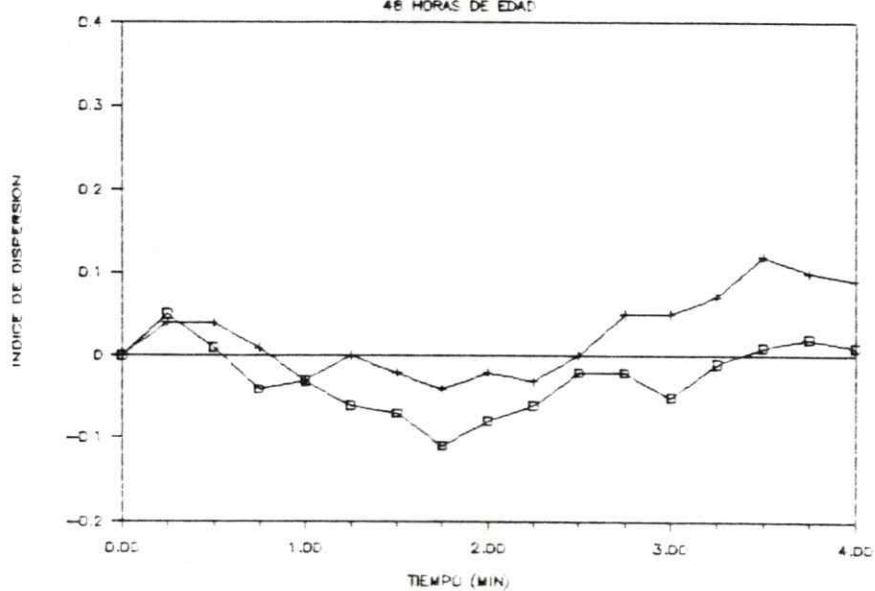


FIGURA 1. G.

LARVAS D. MELANOGASTER

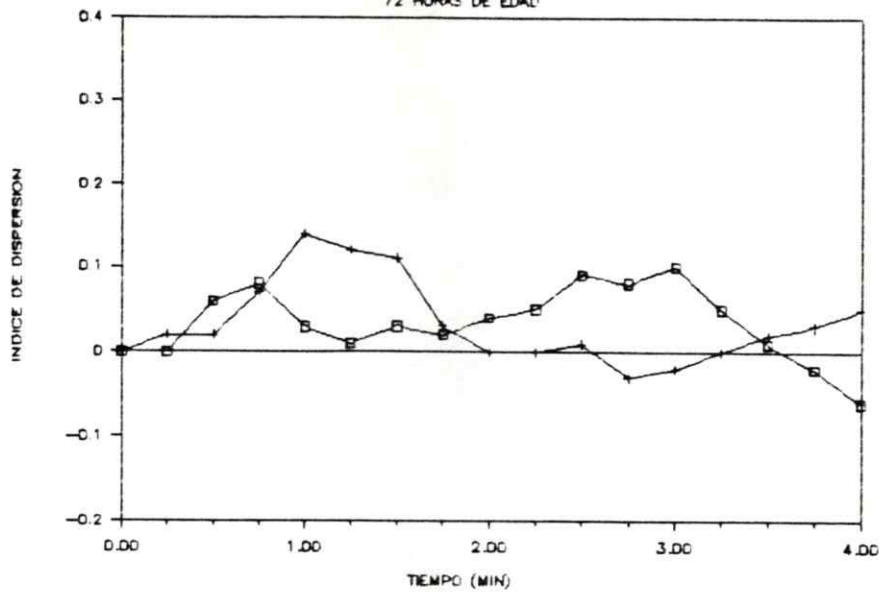
CEPA OREGON R-C
72 HORAS DE EDAD

FIGURA 1.C.

LARVAS D. SIMULANS

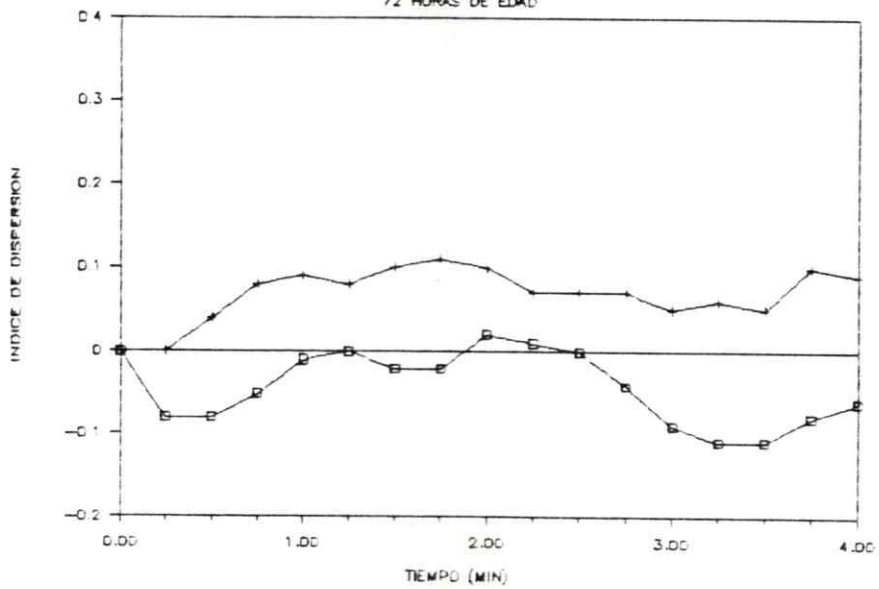
CEPA QUILICURA
72 HORAS DE EDAD

FIGURA 1.H.

LARVAS D. MELANOGASTER

CEPA OREGON R-C

96 HORAS DE EDAD

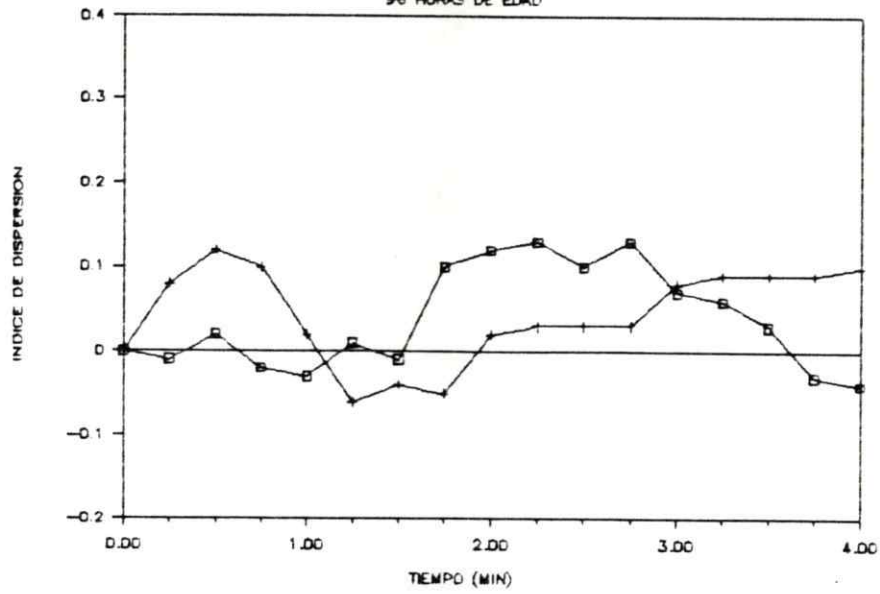


FIGURA 1. D.

LARVAS D. SIMULANS

CEPA QUILICURA

96 HORAS DE EDAD

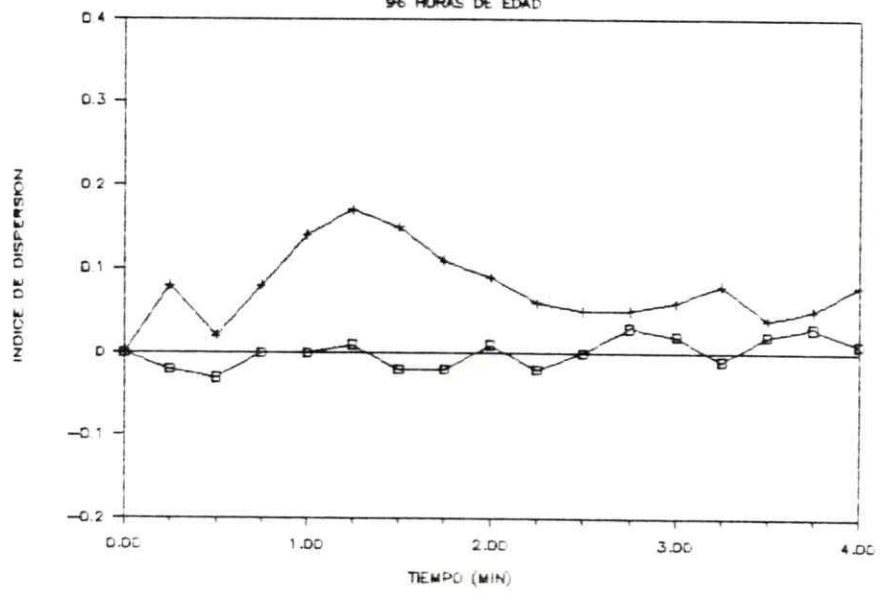


FIGURA 1. I.

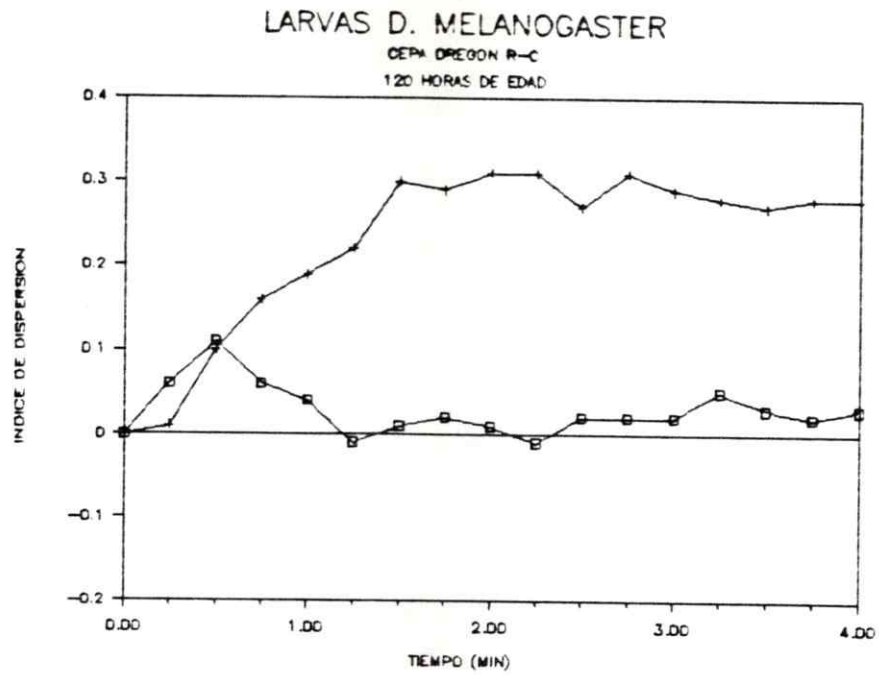


FIGURA 1.E.

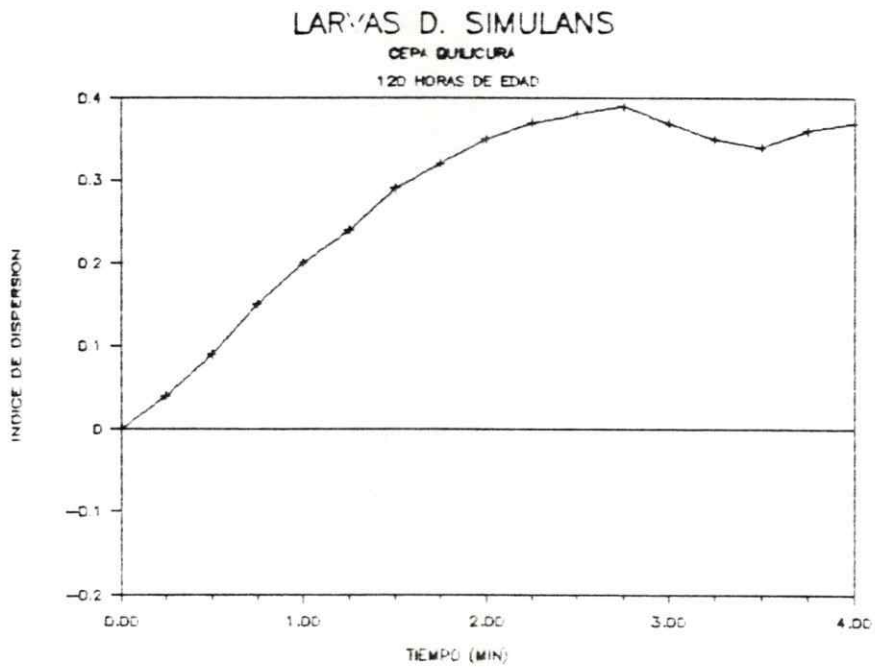


FIGURA 1.J.

(tendencia a bajar), dependiendo de la edad y de la especie (Figura 2).

Otro aspecto interesante del experimento, es que la varianza de la dispersión en el plano vertical fué menor en larvas *D. simulans*.

3.2. Dispersión en oscuridad.

Al efectuar un registro de la dispersión de larvas *D. melanogaster* cepa Oregon R-C sobre el plano vertical y en oscuridad (tabla 2), pareciera que la tendencia global es hacerlo a favor de la gravedad (excluyendo 24 horas de edad). Sin embargo, la geopositividad es evidente sólo a la edad de 96 horas.

3.3. Dispersión bajo gradientes ortogonales de luz y gravedad.

En larvas *D. melanogaster* cepa Oregon R-C, de 24 horas de edad, la orientación de su locomoción tiene que ver con la luz y no con la gravedad (tabla 3). Ambas variables espaciales actuarían por separado (no hay interacción).

3.4. Actividad locomotora y ortocinesis bajo luz ambiental.

El análisis de la varianza de las medidas de actividad locomotora demuestra que se dan diferencias interindividuales importantes dentro de todas las muestras (tabla 4). También

FIGURA 2. Índice de dispersión promedio según la edad de larvas *D. melanogaster* cepa Oregon R-C (figura 2.A.) y *D. simulans* cepa Quilicura (figura 2.B.), bajo luz ambiental, sobre los planos horizontal y vertical, tomando en cuenta la conducta observada entre el segundo y tercer minuto de registro (V. figura 1). Se indica la probabilidad significativa de que el promedio sea distinto de cero (*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,005$).

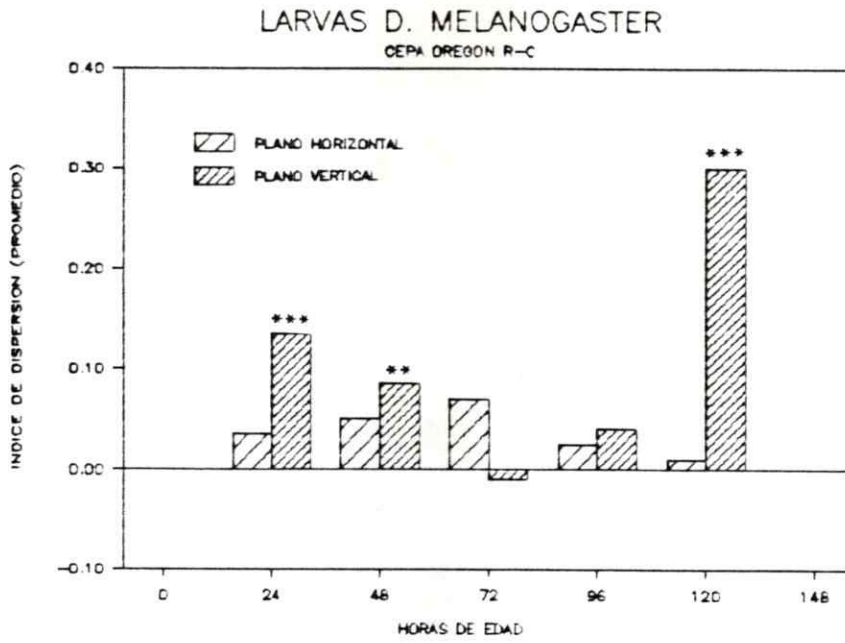


FIGURA 2. A.

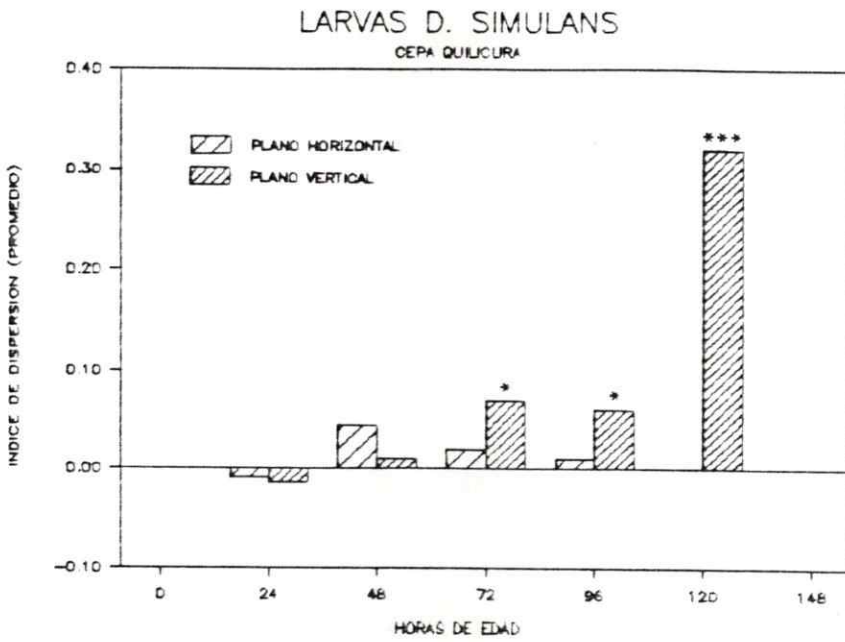


FIGURA 2. B.

TABLA 2. Frecuencias y orientación de larvas *D. melanogaster* cepa Oregon R-C, luego de dispersar durante cuatro minutos sobre el plano vertical y en oscuridad (10 larvas por muestra y 20 muestras por edad).

Edad (hrs)	FRECUENCIA POR REGION			INDICE DE DISPERSION		
	Superior	Inferior	X ² (1)	Media	Varianza	t
24	67	53	1,63	-0,070	0,072	-1,14
48	55	71	2,03	0,080	0,070	1,32
72	68	91	3,33	0,115	0,150	1,29
96	59	87	5,37 *	0,140	0,083	2,19 *
120	63	68	0,19	0,025	0,060	0,45

X²: chi cuadrado aproximado

t : t de Student

* : p < 0,05

TABLA 3. Análisis de la varianza de la dispersión de larvas *D. melanogaster* cepa Oregon R-C, de 24 horas de edad. Se comparan los promedios de frecuencias de larvas por cuadrante sobre un plano cartesiano dispuesto verticalmente, bajo gradientes ortogonales de luz y gravedad (10 larvas por muestra, 21 muestras).

FUENTE DE VARIACION	GL	CM	F
gravedad	1	2,333	1,25
luz	1	51,857	27,73 ***
gravedad x luz	1	1,190	0,64
cuadrantes	3	18,460	9,87 ***
error	80	1,870	

GL : grados de libertad

CM : cuadrado medio

***: $p < 0,005$

TABLA 4. Análisis de la varianza de la actividad locomotora de larvas *D. melanogaster* cepa Oregon R-C, según edad e inclinación del plano (50 larvas por muestra).

FUENTE DE VARIACION	GL	PLANO			
		Horizontal		Vertical	
		CM	F	CM	F

EDAD: 24 HORAS					
individuos	49	5,73	20,46 ***	7,25	24,17 ***
tiempo	15	1,15	4,11 ***	0,57	1,90 *
error	735	0,28		0,30	
EDAD: 48 HORAS					
individuos	49	15,05	27,87 ***	21,81	44,51 ***
tiempo	15	0,42	0,78	1,70	3,47 ***
error	735	0,54		0,49	
EDAD: 72 HORAS					
individuos	49	31,86	37,93 ***	18,99	24,99 ***
tiempo	15	2,03	2,42 ***	3,46	4,55 ***
error	735	0,84		0,76	
EDAD: 96 HORAS					
individuos	49	42,95	19,98 ***	37,15	19,55 ***
tiempo	10	2,15	1,04	27,12	14,26 ***
error	490	2,07		1,90	
EDAD: 120 HORAS					
individuos	49	50,32	16,61 ***	48,48	14,43 ***
tiempo	9	32,03	10,57 ***	24,81	7,38 ***
error	441	3,03		3,36	

GL : grados de libertad

CM : cuadrado medio

* : $p < 0,05$

***: $p < 0,005$

demuestra que la rapidéz promedio siempre sufrió cambios significativos a través del tiempo, excepto con larvas de 48 y 96 horas de edad que reptaron sobre el plano vertical (V. Figura 3).

La rapidéz de la locomoción también varía significativamente según la inclinación del plano, pero dependiendo de la edad de las larvas. Dicho cambio de rapidéz en contingencia con un cambio ambiental se ha denominado ortocinesis (V. sección 1.1). El análisis de varianza anidado (tabla 5) permite afirmar que estos resultados no son consecuencia del muestreo y que la ortocinesis ante el cambio de inclinación del plano depende de la edad de las larvas. La rapidéz de larvas Oregon R-C aumentó sobre el plano vertical, excepto a las 72 horas de edad (se produjo una disminución). A edades posteriores no hubo ortocinesis.

3.5. Clinocinesis bajo luz ambiental.

La tabla 6 muestra la conducta clinocinética de larvas *D. melanogaster* cepa Oregon R-C de diferentes edades, observada sobre los planos horizontal y vertical. Bajo el supuesto de que lo esperado para el plano vertical es lo observado en el plano horizontal, podemos decir que hubo clinocinesis significativa solamente a las 72 horas de edad.

FIGURA 3. Desplazamiento promedio en función del tiempo, observado en larvas *D. melanogaster* cepa Oregon R-C bajo luz ambiental, sobre los planos horizontal (cuadrados) y vertical (cruces). A, B, C, D y E son las curvas para 24, 48, 72, 96 y 120 horas de edad, respectivamente. Cada muestra comprende 50 registros de trayectoria.

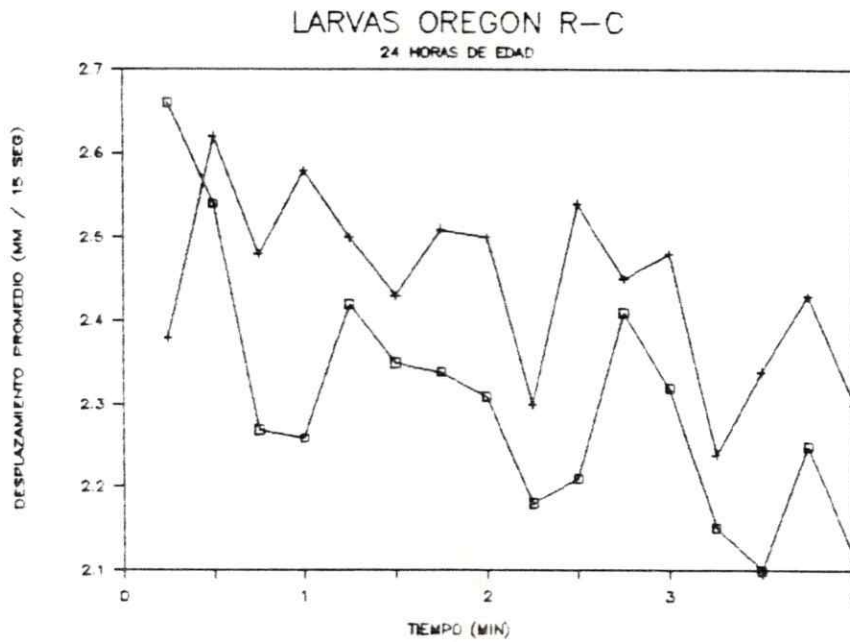


FIGURA 3. A.

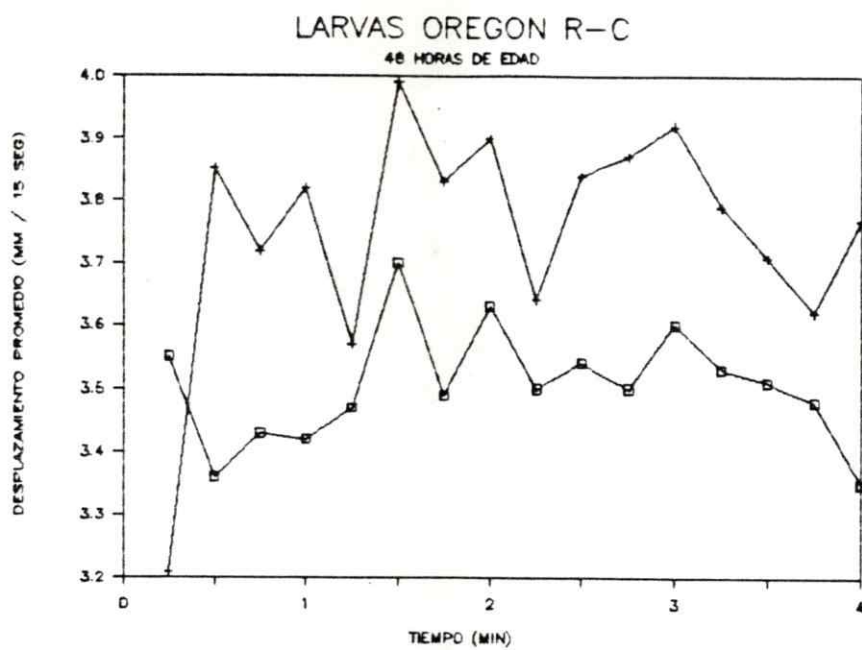


FIGURA 3. B.

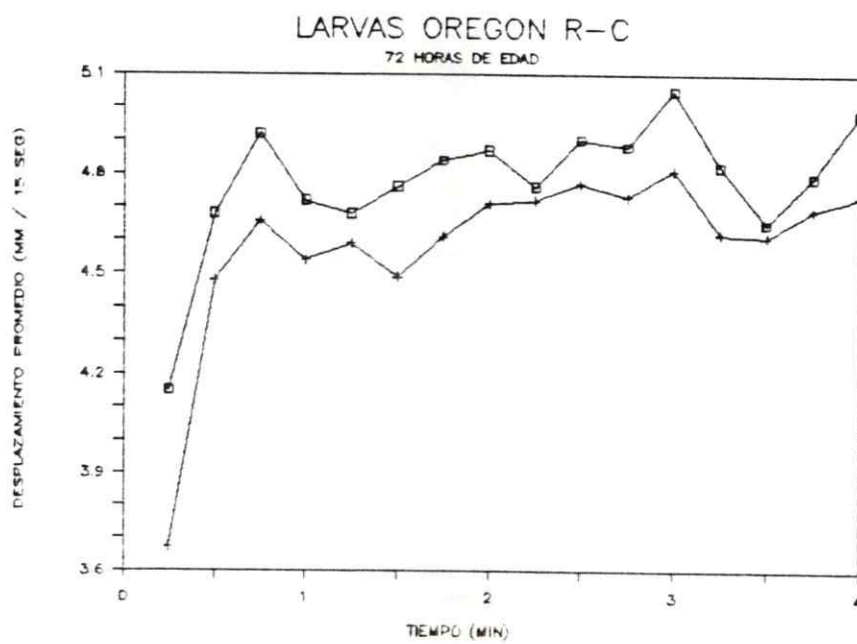


FIGURA 3. C.

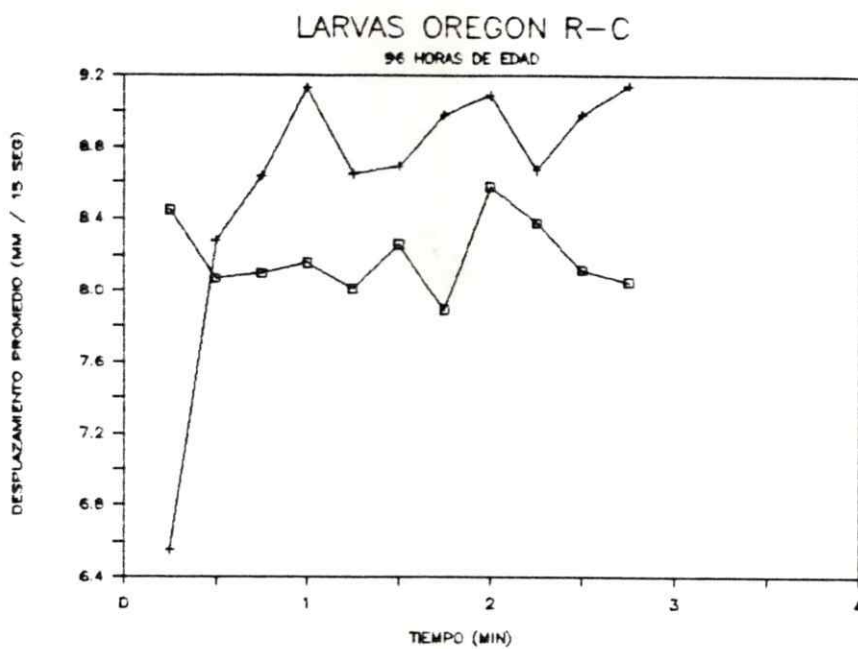


FIGURA 3. D.

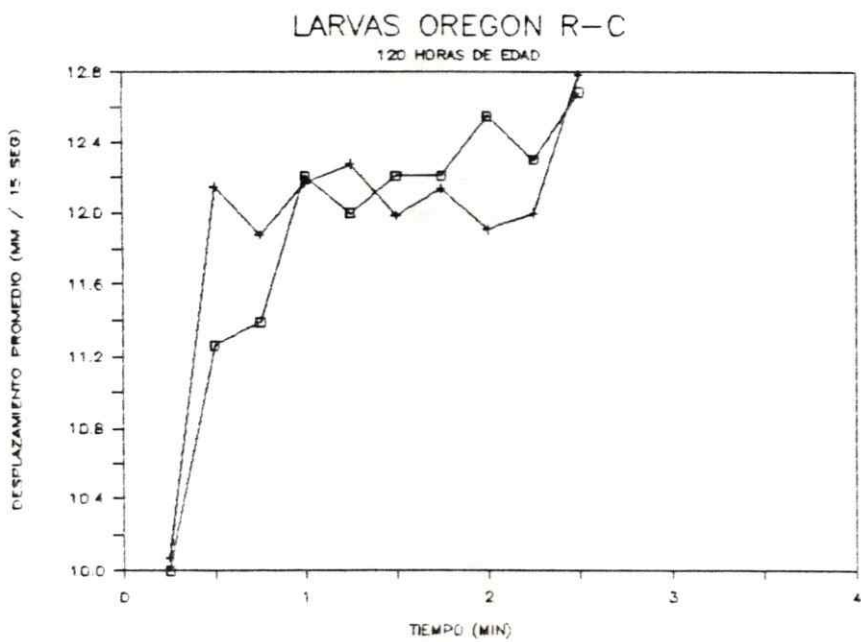


FIGURA 3. E.

TABLA 5. Comparación de las actividades locomotoras observadas en larvas *D. melanogaster* cepa Oregon R-C sobre los planos horizontal y vertical, según el muestreo y el patrón temporal de la rapidéz. Para cada edad se muestran los resultados de dos análisis de varianza jerarquizados.

Edad (hrs)	INDIVIDUOS		TIEMPO	
	GL	F	GL	F
24	1/98	1,17	1/30	8,82 **
48	1/98	1,35	1/30	23,44 ***
72	1/98	0,56	1/30	5,19 *
96	1/98	1,27	1/20	3,48
120	1/98	0,02	1/18	0,03

GL : grados de libertad

* : $p < 0,05$

** : $p < 0,01$

***: $p < 0,005$

TABLA 6. Frecuencias de eventos clinocinéticos observados en trayectorias de larvas *D. melanogaster* cepa Oregon R-C, según edad (hrs) e inclinación del plano, bajo luz ambiental. Se indica la significancia de X^2 para contrastes de giros dentro de muestras (levogiros y dextrogiros), y contrastes de agiros entre muestras. La columna de la derecha se basa en el supuesto de que lo esperado para el plano vertical es lo observado en el plano horizontal.

Edad	PLANO						X^2 (2)
	HORIZONTAL			VERTICAL			
	levo-	agiros	dextro-	levo-	agiros	dextro-	
24	197	351	202	190	368	192	1,57
48	289**	235	226	261	245	244	4,57
72	247	159	344***	228	227***	295***	37,52***
96	170	147	183	182	160	158	5,41
120	151	122	177	152	119	178	0,09

X^2 : chi cuadrado aproximado

** : $p < 0,01$

3.6. Orientación de las trayectorias individuales bajo luz ambiental.

Como al comenzar el experimento las larvas fueron dirigidas hacia el eje Y positivo, para comparar las orientaciones observadas en ambos planos pareció apropiado tomar en cuenta la direcciones seguidas durante la segunda mitad de la trayectoria total. En la tabla 7 están resumidos los resultados de la orientación de larvas *D. melanogaster* cepa Oregon R-C de diferentes edades. Suponiendo que lo esperado para el plano vertical es la misma conducta observada en el plano horizontal, podemos decir que la orientación depende de la inclinación del plano, pero además hay interacción con la edad. A las 24, 48, y 120 horas de edad las larvas que se desplazan por el plano vertical se dirigen preferentemente hacia la región inferior.

3.7. Distribución de sexos luego de la dispersión en oscuridad.

La tabla 8 muestra la distribución de frecuencias según sexo entre larvas *white* (solo 24 horas de edad) y larvas Oregon R-C (de 24, 48, 72, 96 y 120 horas de edad), capturadas sobre las regiones superior e inferior del plano vertical luego de dispersar durante 4 minutos en ausencia de luz. El patrón general es como si ambos sexos fuesen más bien geopositivos, especialmente las hembras de 96 horas de edad. Este patrón cambia a las 24 horas de edad, donde las larvas parecen ser más bien geonegativas, aunque no se alcanza la significancia estadística.

TABLA 7. Eventos de orientación observados en trayectorias de larvas *D. melanogaster* cepa Oregon R-C, según edad (hrs) e inclinación del plano, bajo luz ambiental. Se indica la significancia de X^2 para contrastes de eventos "abajo" y "arriba" dentro de muestras, y contrastes de eventos "medial" entre muestras. La columna de la derecha se basa en el supuesto de que lo esperado para el plano vertical es lo observado en el plano horizontal.

Edad	PLANO						X^2 (2)
	HORIZONTAL			VERTICAL			
	abajo	medial	arriba	abajo	medial	arriba	
24	131	74***	195***	187	39	17	42,75***
48	188***	75***	137	207**	38	155	22,54***
72	209	44	147	226***	36	138	3,39
96	111	28	111	108	39	103	4,98
120	117	34	99	141***	27	82	9,28**

X^2 : chi cuadrado aproximado

** : $p < 0,01$

***: $p < 0,005$

***: $p < 0,005$

TABLA 8. Número de larvas Oregon R-C machos y hembras, capturadas sobre el agar de las regiones superior e inferior de cajas dispuestas verticalmente, luego de dispersar durante cuatro minutos en oscuridad (10 larvas por grupo y 20 grupos por edad). Se incluye también una muestra de la cepa **white**.

Edad (hrs)	MACHOS POR REGION			HEMBRAS POR REGION		
	Superior	Inferior	X ² (1)	Superior	Inferior	X ² (1)
24(a)	24	25	0,02	35	26	1,33
24	28	22	0,72	33	27	0,60
48	27	38	1,86	27	30	0,16
72	33	44	1,57	35	41	0,47
96	35	44	1,03	24	41	4,45*
120	36	37	0,01	24	30	0,67

X² : chi cuadrado aproximado

a : larvas de la cepa **white**

* : p < 0,05

3.8. Otras distribuciones de sexos luego de las dispersiones bajo luz y oscuridad.

En la tabla 9 podemos observar que en larvas *D. melanogaster* cepa Oregon R-C de 24 y 120 horas de edad, la orientación significativa de la dispersión sobre el plano vertical que se dá en presencia de luz, desaparece con la oscuridad. También podemos ver que las diferencias conductuales dependen del sexo de las larvas: la proporción de machos que bajan es mayor bajo luz ambiental.

Por otro lado, en la tabla 10 se muestra que la dispersión de larvas Oregon R-C de 24 horas de edad, en el plano vertical, es orientada por la luz y no por la gravedad. En cambio las larvas white de la misma edad no orientaron su dispersión en ningún caso.

3.9. Dispersión larval de híbridos intraespecíficos.

Al examinar la dispersión de larvas híbridas de 24 horas de edad, de ambos cruzamientos recíprocos entre las cepas Oregon R-C y white, las dispersiones promedio parecen ser diferentes tanto entre híbridos como en comparación a los promedios de las cepas parentales (figura 4.A.). Por otro lado, los promedios de actividad locomotora tienen un patrón diferente (compare figuras 4.A. y 4.B.).

Los promedios de conducta dispersiva se pueden explicar como

TABLA 9. Frecuencias de sexos en la dispersión de larvas *D. melanogaster* cepa Oregon R-C de 24 y 120 horas de edad, sobre el plano vertical y según la iluminación (10 larvas por réplica). Se contrastaron también las frecuencias de larvas del mismo sexo sobre regiones diferentes.

Región	Sexo	EDAD 24 HORAS		EDAD 120 HORAS	
		Luz	Oscuridad	Luz	Oscuridad
SUPERIOR:	hembra	33	33	32	24
	macho	30	28	17	36
INFERIOR:	hembra	42	27	37	30
	macho	55**	22	39***	37
Réplicas		40	20	20	20
X ² homogeneidad (3)		9,45*	2,22	9,50*	3,43

X² : chi cuadrado aproximado

* : p < 0,05

** : p < 0,01

***: p < 0,005

TABLA 10. Frecuencias por sexo en la dispersión de dos cepas de larvas *D. melanogaster* a las 24 horas de edad, sobre el plano vertical y según la iluminación (10 larvas por réplica). Aparte de la homogeneidad se indica el único $X^2(1)$ significativo que resulta de comparar frecuencias de larvas del mismo sexo pero ubicadas en regiones diferentes.

Región	Sexo	BAJO LUZ		EN OSCURIDAD	
		Oregon R-C	white	Oregon R-C	white
SUPERIOR:	hembra	33	29	33	35
	macho	30	24	28	24
INFERIOR:	hembra	42	25	27	26
	macho	55**	23	22	25
Réplicas		40	30	20	20
X^2 homogeneidad (3)		9,45*	0,82	2,22	2,80

X^2 : chi cuadrado aproximado

* : $p < 0,05$

** : $p < 0,01$

FIGURA 4. Índice de dispersión promedio (figura 4.A.) y actividad locomotora promedio (figura 4.B.), observados en larvas de progenies intraespecíficas (*D. melanogaster*) de 24 horas de edad, sobre el plano vertical y bajo luz ambiental. (O: cepa Oregon R-C; W: cepa white).

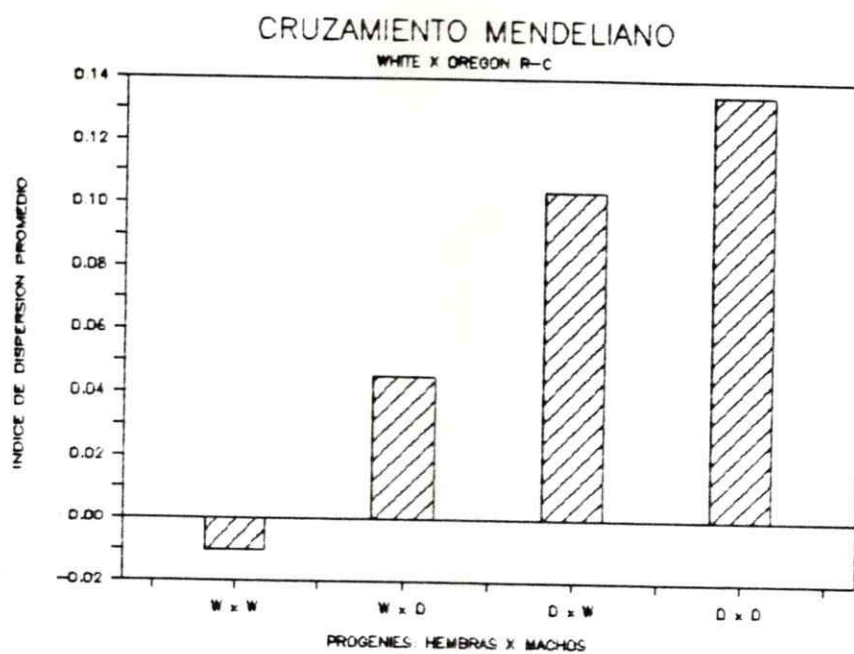


FIGURA 4. A.

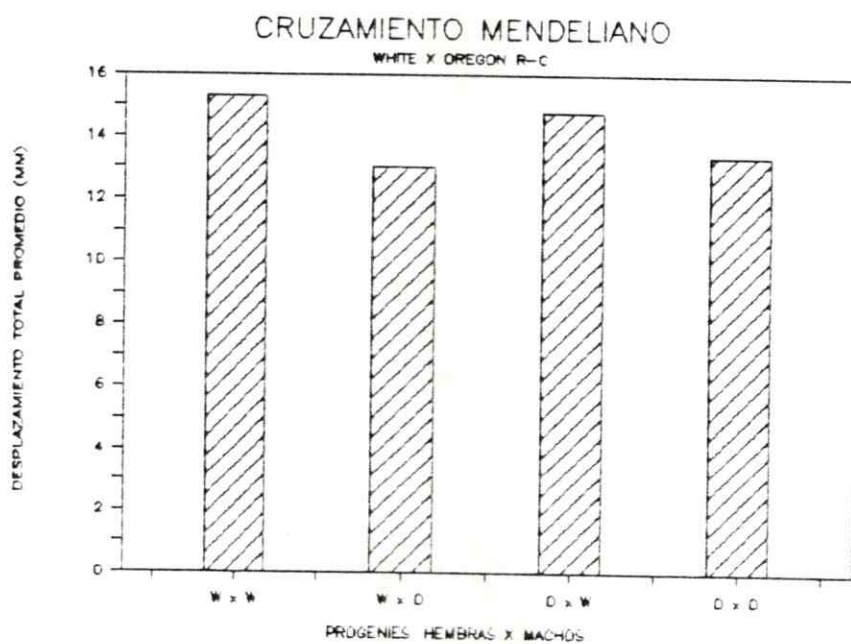


FIGURA 4. B.

combinaciones lineales de "efectos fijos" de los progenitores sobre las cuatro progenies posibles, a pesar de que el muestreo dentro de progenies es una fuente de variación significativa (tabla 11).

Una transformación $\ln(x + 2)$ no alteró los valores de F y la varianza es homogénea cuando se excluye la progenie **white** (que tiene la varianza más pequeña; V. tabla 12). Podemos concluir que la variable es suficientemente normal para los requerimientos del análisis expuesto (V. tabla 11 y también figura 2).

3.10. Dispersión larval de híbridos interespecíficos.

Se sabe que al cruzar *D. melanogaster* con *D. simulans* se obtienen híbridos estériles, tal que cruzamientos recíprocos difieren en proporciones de sexos (V. sección 1.3). En la figura 5 podemos ver que sobre el plano vertical y bajo luz ambiental, las dispersiones promedio de las progenies de híbridos son diferentes entre sí ($F(1/98) = 21,54 ***$). El carácter conductual parece segregarse de acuerdo a la conducta característica de la población del parental macho.

TABLA 11. Análisis de la varianza de las medidas de dispersión observadas en larvas *D. melanogaster*, progenies de los cruzamientos entre Oregon R-C y *white* (10 larvas por réplica, 55 réplicas por progenie).

FUENTE DE VARIACION	GL	CM	F		
hembras progenitoras	1	2,85091	70,18	***	a
machos progenitores	1	0,50632	12,46	***	a
interacción de progenitores	1	0,03960	0,97		a
progenies	3	1,13228	6,10	***	b
grupos (error experimental)	216	0,18572	37,14	***	b
medidas (error de muestreo)	880	0,00500			
error	1096	0,04062			
X ² de Bartlett: 15,66*** (progenies)					
0,43 (excluyendo la progenie <i>white</i>)					

GL : grados de libertad

CM : cuadrado medio

X² : chi cuadrado

a : modelo I

b : modelo II

*** : p < 0.005

TABLA 12. Contrastes entre los promedios observados y los promedios esperados teóricamente, según las combinaciones lineales (de los parámetros genéticos "m" y "d") deducidas del modelo genético, propuesto para explicar la fototaxis de larvas *D. melanogaster* de 24 horas de edad.

CRUCES		PARAMETROS		PROMEDIOS		P(O-E) ²	
He x Ma	Varianza	P	m	d	O		E
Or Or	0,0424	6481,263257	1	-1/2	0,1349	0,1426	0,384
Or Wh	0,0448	6143,878463	1	-2/3	0,1040	0,0929	0,757
Wh Or	0,0456	6037,321625	1	-5/6	0,0451	0,0432	0,022
Wh Wh	0,0297	9253,028264	1	-1	-0,0098	-0,0065	0,101

$$X^2 = 1,264$$

Grados de libertad = N(progenies) - N(parámetros) = 4 - 2 = 2

Estimaciones de "m" y "d" mediante mínimos cuadrados:

$$\begin{array}{l} \text{por m} \quad 27915,49161 \quad -21620,6802 \quad = \quad 1694,889302 \\ \text{por d} \quad \quad \quad \quad 17796,54119 \quad = \quad -999,359774 \end{array}$$

esto es

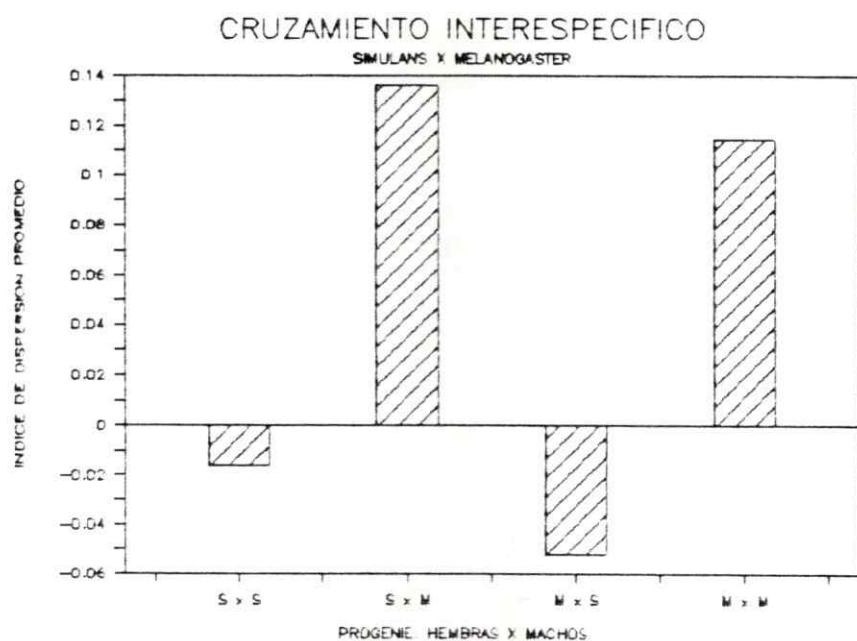
$$\begin{bmatrix} 27915,49161 & -21620,6802 \\ -21620,6802 & 17796,54119 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} m \\ d \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1694,889302 \\ -999,359774 \end{bmatrix}$$

$$\begin{array}{l} \text{y finalmente} \quad m = 0,2916 \pm 0,0246 \\ \quad \quad \quad \quad d = 0,2981 \pm 0,0308 \end{array}$$

He : hembras
 Ma : machos
 Or : cepa Oregon R-C
 Wh : cepa white

P : peso del promedio
 O : promedio observado
 E : promedio esperado

FIGURA 5. Índice de dispersión promedio (10 muestras, 10 larvas por muestra) observado en larvas de progenes interespecíficas de 24 horas de edad, sobre el plano vertical y bajo luz ambiental. (M: *D. melanogaster* cepa Oregon R-C; S: *D. simulans* cepa Quilicura).



DISCUSION

4.1. Dispersión bajo luz ambiental.

Las condiciones en que se observó la orientación de la dispersión no restringían las posibilidades de orientaciones distintas, pues se trataba de un campo abierto (Connolly, 1966). La dispersión observada sobre el plano vertical tiene la posibilidad de manifestar geotaxis y/o fototaxis. Lo mismo puede decirse para las trayectorias.

A medida que transcurre el desarrollo, el aumento del peso larval por crecimiento no estaría interfiriendo en la conducta descrita, ya que larvas Oregon R-C de 72 y 96 horas de edad se desplazaron en todas direcciones por igual, en tanto que las de 24 y 48 horas, que son más livianas, lo hicieron preferentemente hacia abajo.

Con respecto a las curvas del cambio temporal de la dispersión sobre el plano vertical, se pueden plantear dos hipótesis, no excluyentes entre sí (V. Kandel y Schwartz, 1985), para explicar su forma aproximadamente micaliana. La primera es que se trataría de curvas de habituación (aprendizaje). La segunda es una hipótesis fisiológica: el agotamiento o secuestro de un metabolito en alguno de los elementos celulares que constituyen el arco sensorio-motor implicado en la conducta de orientación descrita. Se ha encontrado una correlación entre niveles de

algunos neurotransmisores y las características que pueda tener la actividad locomotora de las larvas de *Drosophila* (Tunnickliff et al, 1969; Sewell et al, 1975; Thompson et al, 1983); bien podría ocurrir que uno o varios componentes celulares participaran de un mecanismo fisiológico que se manifiesta (Warburton, 1981) conductualmente como una orientación de la dispersión larval.

Un hallazgo interesante fué que la varianza de la dispersión sobre el plano vertical fué menor en larvas *D. simulans* que en larvas *D. melanogaster*. Esto coincide con otros estudios conductuales, fisiológicos, bioquímicos y genéticos, donde casi siempre la variabilidad de *simulans* es menor en comparación con *melanogaster* (Parsons, 1975; Ohnishi et al, 1979; Sokolowski y Hansell, 1983). En cuanto a la excavación del agar efectuada por larvas *D. simulans* de 120 horas de edad, sobre el plano horizontal, es un fenómeno también descrito en una cepa de larvas *D. melanogaster* en términos de una conducta de prepupación ("embedding", Wong et al, 1985).

4.2. Dispersión en oscuridad.

En ausencia de luz, la orientación de la locomoción sobre el plano vertical es atribuible a la gravedad. La tendencia global de las larvas Oregon R-C fué la geotaxis positiva. Estos resultados no pueden explicarse como una consecuencia del peso de las larvas, ya que los individuos de mayor tamaño (120 horas de edad) se comportaron como los de tamaño menor (24 horas de edad).

Además nos indican que la dispersión observada en larvas Oregon R-C de 24, 48 y 120 horas de edad, sobre el plano vertical y bajo luz ambiental, corresponde principalmente a fototaxis.

Algo importante de señalar es que la geotaxis positiva es máxima a las 96 horas de edad, lo que coincide bastante bien con el máximo de conducta excavatoria del sustrato observada en larvas de esta misma cepa (Godoy-Herrera, 1986).

4.3. Dispersión bajo gradientes ortogonales de luz y gravedad.

Las larvas Oregon R-C en estado I del desarrollo (24 horas de edad) orientan su locomoción alejándose de la fuente de luz (fototaxis negativa) y parecen insensibles a la gravedad. El diseño factorial empleado en este experimento parece ser el más adecuado para continuar investigando los efectos de la gravedad y la luz sobre la orientación de la locomoción de larvas de *Drosophila*, a través del desarrollo y para fines comparativos. Tiene las ventajas de permitir evaluar el efecto de cada variable por separado y también detectar su posible interacción.

4.4. Actividad locomotora y ortocinesis bajo luz ambiental.

Dentro de todas las muestras de trayectorias se dieron diferencias de actividad locomotora interindividuales. Según el conocimiento actual de la actividad locomotora larval (Sewell et al, 1975; Burnet et al, 1977; Thompson et al, 1983; Sokolowski et al, 1983; Godoy-Herrera et al, 1984), el genotipo es una variable

de importancia para explicar las diferencias individuales en locomoción .

Sin embargo, en la literatura hay escasa mención a los cambios temporales de la rapidéz del desplazamiento larval por un ambiente constante, como los observados al comienzo de las trayectorias de larvas Oregon R-C sobre el plano vertical. Estos cambios temporales podrían corresponder a lo que se ha definido como reactividad, esto es, cambios del comportamiento (e.g. locomoción) al transferir un individuo a un nuevo ambiente (Connolly, 1967; Burnet et al, 1984). El patrón de desarrollo de la reactividad sobre el plano vertical es muy diferente del observado sobre el horizontal, lo que podría estar indicando que la inclinación del sustrato puede inducir diferentes estados del sistema nervioso, que son importantes para determinar el tipo de orientación del animal (Schöne, 1984).

Con respecto a la ortocinesis hay que destacar dos aspectos. Primero, ésta siguió un patrón de desarrollo diferente al observado con la dispersión, en cualquier plano y en presencia o ausencia de luz, por lo tanto se trata de conductas que no están correlacionadas. Segundo, las larvas de 24 y 48 horas de edad exhiben una rapidéz mayor sobre el plano vertical que sobre el horizontal. Esta situación se invierte cuando estas larvas tienen 72 horas de desarrollo. A edades sobre las 72 horas no se registró ortocinesis. Esto último concuerda con lo sugerido por Godoy-Herrera et al (1984), en cuanto a que, en larvas *D. melanogaster*, los cambios en actividad locomotora más allá de las 72 horas de edad parecen reflejar cambios en relaciones

epigenéticas entre los genes envueltos en el "control" de este comportamiento.

4.5. Clinocinesis bajo luz ambiental.

Al comparar las frecuencias de eventos conductuales en el plano vertical versus el horizontal, se constató que sólo las larvas de 72 horas de edad modifican su forma de moverse. Larvas más juveniles o de mayor edad mantienen un patrón de movimiento similar en los planos vertical y horizontal.

Según lo comentado en la sección anterior, si hay cambios de relaciones epigenéticas entre los genes que influyen la locomoción (cepa Canton S; Godoy-Herrera et al, 1984) justamente a las 72 horas de edad, la clinocinesis podría también estar reflejando dichas modificaciones estructurales de las larvas.

Pero por otro lado, este resultado no concuerda con lo observado por Troncoso et al (1987) en larvas de *D. melanogaster*, aunque con cepas diferentes, esto es que hay una relación inversa entre clinocinesis y actividad locomotora. Sin embargo a las 72 horas sobre el plano vertical disminuyó la rapidez pero también disminuyó el número de giros, en tanto que a las otras edades no es evidente relación alguna. Posiblemente, dicha relación inversa se da siempre y cuando el animal no esté siendo afectado por una gradiente de luz y/o gravedad, como es el caso de los experimentos reportados por Troncoso et al (op cit).

4.6. Orientación de las trayectorias individuales bajo luz ambiental.

En el plano vertical y bajo luz ambiental, las larvas de la cepa Oregon R-C tienden a bajar. Esto es particularmente claro cuando las larvas tienen la edad en que el índice de dispersión promedio es positivo. Esta concordancia nos permite suponer que la interacción social, un fenómeno también observado en larvas de *Drosophila* (Pruzan y Bush, 1977), no sería un factor que participa en la dispersión descrita.

Otro hallazgo interesante es que la concordancia ontogenética observada entre la fototaxis medida en grupos de larvas y en individuos coincide muy bien con los niveles de ecdisona medidos durante el desarrollo de larvas *D. melanogaster* (Mandoy et al, 1980). Se ha demostrado que en larvas de *Smerinus ocellata*, un lepidóptero, existe una relación directa entre nivel de ecdisona y fototaxis negativa y otra relación inversa entre esta conducta y el nivel de neotenina (Beetsma et al, 1962), que son las hormonas reguladoras del desarrollo larval en todos los insectos holometábolos (Berril, 1974). Por lo tanto, es factible esperar que la variabilidad genética en relación a la fototaxis de larvas de *Drosophila* esté asociada al control genético de ecdisona y neotenina.

4.7. Distribución de sexos luego de la dispersión en oscuridad.

El comportamiento geopositivo parece ser un fenotipo de las larvas Oregon R-C de ambos sexos, aunque más acentuado en las hembras. Estos resultados sugieren un compromiso de los cromosomas sexuales. La escasa variabilidad conductual observada con respecto a los sexos puede deberse a que la geotaxis larval es un carácter poligenético, como la geotaxis de los adultos (V. Grossfield, 1978).

La gravedad afecta la altura del sitio de pupación en *Drosophila* (Schnebel y Grossfield, 1986) y los machos pupan a mayor altura que las hembras (Casares y Carracedo, 1987). Markow (1979) ha reportado que bajo luz u oscuridad *D. melanogaster* pupa a mayor altura que *D. simulans*, que no existe correlación entre dicha altura y la posterior geotaxis de los adultos y que larvas de una cepa de adultos geonegativos puparon a mayor altura que las de una cepa geopositiva, solamente en oscuridad. Estos fenómenos estarían indicando que la geotaxis larval en efecto presenta una variabilidad dependiente del sexo y que, posiblemente, los genes involucrados en dicha orientación no sean los mismos que influyen sobre la geotaxis del adulto.

4.8. Otras distribuciones de sexos luego de las dispersiones bajo luz y oscuridad.

Las semejanzas conductuales de orientación observadas entre larvas Oregon R-C de 24 y 120 horas de edad, pueden interpretarse

como manifestaciones de un mismo "control" genético que opera a diferentes edades.

4.9. Dispersión larval de híbridos intraespecíficos.

El resultado del análisis de la tabla 11 se puede resumir diciendo que la orientación (fototaxis) de larvas *D. melanogaster*, de 24 horas de edad, tiene una componente genética entre las "causas" de su variación. El modelo genético más adecuado para explicar la segregación conductual observada (figura 4.A.) es un gen mayor dialélico ligado al cromosoma X. Los resultados obtenidos son factibles con esta hipótesis (ver Apéndice).

En cambio, una herencia autosómica por sí sola no puede explicar la diferencia entre cruzamientos recíprocos. Así mismo, una herencia extracromosómica tampoco puede explicar por sí sola la gradación (aditividad) del carácter entre las progenies.

Tampoco es posible explicar estos resultados postulando un defecto en la fotosensibilidad de larvas con el alelo *white*, ya que las larvas de la cepa Quilicura (*D. simulans*), con esta misma edad (24 horas), dispersaron de manera semejante a las larvas de la cepa *white* pero no son portadoras de un alelo que se parezca al ya mencionado.

4.10. Dispersión larval de híbridos interespecíficos.

La orientación de larvas híbridas de 24 horas de edad sobre el plano vertical, obtenidas al cruzar machos y hembras de las especies *D. melanogaster* y *D. simulans*, parece apoyar la hipótesis de un gen mayor ligado al cromosoma X y que "controla" la fototaxis. Los híbridos de los cruzamientos recíprocos tienen dispersiones promedios diferentes entre sí y con la dispersión promedio del parental hembra, pero no con la dispersión promedio del parental macho. Estas progenies también difieren en las proporciones de sexos (V. sección 1.3), lo que refuerza la hipótesis de una implicación de los cromosomas sexuales en el "control genético" de la fototaxis.

Sin embargo, este tipo de resultados se deben tomar con cautela, dado que la naturaleza de un alelo puede cambiar cuando está en un nuevo fondo genético (Aroshtan et al, 1974; Robertson, 1982; Zullo, 1985), lo que podría estar explicando porqué el carácter recién descrito parece segregar según el cromosoma Y en vez del cromosoma X.

4.11. Conclusiones y comentarios finales.

Luego de analizar los resultados observados bajo las condiciones ya descritas, se pueden resumir las siguientes conclusiones:

- (1) La locomoción de larvas de *D. melanogaster* cepa Oregon R-C y

de *D. simulans* cepa Quilicura, puede ser "orientada" por la luz y la gravedad, cuando los individuos se desplazan sobre planos dispuestos verticalmente. La sensibilidad de estos preadultos frente a dichos factores ambientales depende de su edad y de su genotipo.

(2) El tipo de fototaxis de las larvas de *D. melanogaster* estaría influenciada por la expresión de un gen ubicado en el cromosoma X, sin descartar la posibilidad de que otros genes autosómicos participen en el "control" de esta conducta. Algo análogo podría estar sucediendo con la relación entre geotaxis y genotipo de las larvas.

(3) Las características del desarrollo de las conductas de orientación, clinocinesis y ortocinesis, observadas durante la locomoción de larvas Oregon R-C de diferentes edades, revelaron una coherencia con el conocimiento previo del desarrollo y genética de la actividad locomotora, así como también de la excavación del sustrato. En particular, la geotaxis positiva máxima, observada en larvas de 96 horas de edad, coincide con el máximo de su conducta excavatoria.

Para la continuidad del estudio emprendido en ésta tesis, propongo las siguientes posibilidades:

(1) Examinar el desarrollo de la orientación de larvas de otras cepas de *D. melanogaster* y de *D. simulans*, registrando la

dispersión sobre el plano vertical y bajo gradientes ortogonales de luz y gravedad, lo que permite medir la orientación en relación a cada factor por separado así como también la posible interacción entre ellos.

(2) realizar selección genética hasta producir líneas que difieran en las orientaciones de sus larvas, lo que permitiría otra contrastación de la idea de un "control" genético de estas conductas y también haría posibles algunos análisis genético - cuantitativos importantes, como estimación de la heredabilidad.

(3) registrar las conductas de orientación de larvas híbridas obtenidas de acuerdo a un diseño de cruzamiento dialélico, lo que haría posible aplicar un análisis genético - cuantitativo más riguroso, así como también someter a prueba la hipótesis que sustenta la conclusión 2.

(4) medir los niveles de ecdisona y neotenina a larvas de diferentes edades y comparar estos niveles entre líneas o cepas que difieren en fototaxis larval. Esto permitiría someter a prueba la hipótesis de correlación entre estas hormonas del desarrollo y la fototaxis de las larvas.

APENDICE

A continuación se desarrolla un análisis matemático para contrastar la factibilidad del modelo genético propuesto explicar la segregación conductual observada en la figura 4.A. (V. sección 4.9.).

El modelo se basa en un gen mayor, dialélico, aditivo y ligado al cromosoma X. Uno de los alelos (n) no contribuiría a la determinación del carácter **fototaxis**, pero el otro (N) "hace" que la larva se aleje de la fuente de iluminación. Según la teoría propuesta originalmente por K. Mather (V. Mather y Jinks, 1977), los genotipos y los valores fenotípicos guardarían entre sí las siguientes relaciones:

FENOTIPOS:	m-d	m	m+d
VALORES:	(-----) (-----)		
GENOTIPOS:	n nn	N nN	NN

La conducta dispersiva (orientación) de larvas Oregon R-C tiene una varianza mayor que la de larvas **white**, por lo tanto es posible suponer que Oregon R-C es más heterocigota que **white**. Esta última tiene un promedio que, según el modelo propuesto, sería consecuencia de una homocigosis del alelo n, y la varianza fenotípica sería 100 % de origen ambiental.

Las frecuencias de n y N , en la población Oregon R-C, se pueden estimar de la siguiente manera: los machos **white** son hemicígotos para n , por lo tanto la proporción de los que suben acercándose a la fuente de luz debe ser la misma proporción de los que bajan alejándose (24 y 23 larvas, respectivamente. Proporciones del total: 0,2376 y 0,2277. Tabla 10). Los machos Oregon R-C son también hemicígotos; si algunos de ellos llevan el alelo N , son precisamente los que crearán una diferencia con respecto a **white**, aumentando la proporción de machos que se alejan de la fuente luminosa (Proporción del total: 0,3438. Tabla 10). La diferencia con lo esperado, si todos los machos Oregon R-C fuesen de genotipo n , es: $0,3438 - 0,2277 = 0,1161 =$ frecuencia de N . De manera que en la población o progenie Oregon R-C: $n/N = 0,2277/0,1161 \approx 2/1$.

En base al ligamiento al sexo, aditividad y a la estimación de las frecuencias alélicas entre los individuos parentales, se pueden construir combinaciones lineales de los promedios esperados en las poblaciones de parentales e híbridos, de acuerdo a la composición genotípica teórica de cada población.

(i) Oregon R-C.

padres:		hembras	x	machos		
gametos:	n	N	x	n	N	Y
frecuencias:	$2/3$	$1/3$	x	$1/3$	$1/6$	$1/2$
genotipos:	nn	nN		NN	n	N
fenotipos:	$m-d$	m		$m+d$	$m-d$	m
frecuencias:	$4/18$	$4/18$		$1/18$	$6/18$	$3/18$
población:	$4/18(m-d)+4/18(m)+1/18(m+d)+6/18(m-d)+3/18(m)$					
promedio esperado:	$m - 1/2 (d)$					

(ii) Hembras Oregon R-C x machos **white**.

padres:		hembras	x	machos	
gametos:	n	N	x	n	Y
frecuencias:	2/3	1/3	x	1/2	1/2
genotipos:	nn	nN		n	N
fenotipos:	(m-d)	(m)		(m-d)	(m)
frecuencias:	2/6	1/6		2/6	1/6
población:	$2/6(m-d) + 1/6(m) + 2/6(m-d) + 1/6(m)$				
promedio esperado:	$m - 2/3 (d)$				

(iii) Hembras **white** x machos Oregon R-C.

padres:		hembras	x	machos	
gametos:		n	x	n	N Y
frecuencias:		1	x	1/3	1/6 1/2
genotipos:		nn		nN	n
fenotipos:		(m-d)		(m)	(m-d)
frecuencias:		2/6		1/6	1/2
población:	$2/6(m-d) + 1/6(m) + 1/2(m-d)$				
promedio esperado:	$m - 5/6 (d)$				

(iv) **white**.

padres:		hembras	x	machos	
gametos:		n	x	n	Y
frecuencias:		1	x	1/2	1/2
genotipos:		nn		n	
fenotipos:		(m-d)		(m-d)	
frecuencias:		1/2		1/2	
población:	$1/2(m-d) + 1/2(m-d)$				
promedio esperado:	$m - d$				

Los parámetros "m" y "d", que combinados linealmente darían cuenta de los promedios de dispersión, se pueden estimar mediante mínimos cuadrados (Mather y Jinks, 1977). Este procedimiento se

detalla en la tabla 12. La tabla muestra también, que la bondad de ajuste entre los promedios observados experimentalmente (O) y los promedios esperados teóricamente (E) muestra una discrepancia que no es relevante (χ^2 no significativo). Si se transforman los datos originales a escalas logarítmica o de raíz cuadrada, se llega a la misma conclusión, esto es, que no tenemos fundamento estadístico para dudar de la factibilidad del modelo genético propuesto para el "control" de la fototaxis descrita.

REFERENCIAS

- Aceves-Piña, E.O., and W.G. Quinn (1979). Learning in normal and mutant *Drosophila* larvae. *Science* 206: 93-96.
- Araneda, J.C. y R. Godoy-Herrera (1986). El crecimiento de las espículas de la cutícula larval de *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Rev.Chilena Entomol.* 14: 81-86.
- Aroshtan, A. A., B. A. Kuzin and L. I. Korochkin (1974). Some regularities of the phenotypical expression of alleles of gene Est-6 in hybrid *D. melanogaster* x *D. simulans*. *Dros.Inform.Serv.* 56: 57.
- Beetsma, J., L. de Ruiter, and J. de Wilde (1962). Possible influence of neotenine and ecdysone on the sign of phototaxis in the eyed hawk caterpillar (*Smerinus ocellata*). *J.Insect.Physiol.* 8: 251-257.
- Berril, N.J. (1974). *Developmental Biology*. Mc Graw-Hill.
- Bock, I.R., and M.R.Wheeler (1972). The *Drosophila melanogaster* species group. *Studies in genetics VII*. Univ.TexasPubl.7213, U.S.N.A.
- Budnick, M., and D. Brncic (1983). Preadult competition between colonizing populations of *Drosophila subobscura* and established populations of *Drosophila simulans*. *Oecologia (Berlin)* 58: 137-140.
- Burdick, A.B. (1954). New medium of reproductive quality stable at room temperature. *Dros.Inform.Serv.* 28: 170.
- Burnet, B., K. Connolly and M. Mallinson (1974). Activity and sexual behaviour of neurological mutants in *Drosophila melanogaster*. *Behav.Genet.* 4: 227-235.
- Burnet, B., D. Sewell and M. Bos (1977). Genetic analysis of larval feeding behaviour in *Drosophila melanogaster*. II. Growth relations and competition between selected lines. *Genet.Res.Camb.* 30: 149-161.
- Burnet, B., and K. J. Connolly (1981). Gene action and the analysis of behaviour. *Br.Med.Bull.* 37(2): 107-113.

- Casares, P., and M.C. Carracedo (1987). Pupation height in *Drosophila*: Sex differences and influence of larval developmental time. *Behav.Genet.* 17: 523-535.
- Carthy, J.D., and P.E. Howse (1979). *The study of behaviour.* 2nd Edition, Arnold, London, U.K..
- Connolly, K. (1966). Locomotor activity in *Drosophila*. II. Selection for active and inactive strains. *Anim.Behav.* 14: 444-449.
- Connolly, K. (1967). Locomotor activity in *Drosophila*. III. A distinction between activity and reactivity. *Anim.Behav.* 15: 149-152.
- Demerec, M. (1950). *Biology of Drosophila.* John Wiley and Sons, New York, U.S.N.A.
- Ehrman, L., and P.A. Parsons (1981). *Behaviour Genetics and Evolution.* Mc Graw-Hill.
- Fraenkel, G.S., and D.L. Gunn (1940). *The orientation of animals.* Oxford University Press, U.K.
- Fuller, J. L., and W. R. Thompson (1978). *Foundations of behavior genetics.* Mosby, St. Louis, U.S.N.A.
- Godoy-Herrera, R. (1982). *Estudios genético-etológicos y evolutivos de la conducta excavatoria de Drosophila (Diptera: Drosophilidae).* Tesis doctoral, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- Godoy-Herrera, R., B. Burnet, K. Connolly and J. Gogarty (1984). The development of locomotor activity in *Drosophila melanogaster* larvae. *Heredity* 52: 63-75.
- Godoy-Herrera, R. (1986). The development and genetics of digging behaviour in *Drosophila* larvae. *Heredity* 56: 33-41.
- Green, C.H., B. Burnet and K. Connolly (1983). Organization and patterns of inter- and intraspecific variation in the behaviour of *Drosophila* larvae. *Anim.Behav.* 31: 282-291.
- Grossfield, J. (1978). Non-sexual behaviour in *Drosophila*. In Ashburner, M., and T.R.F. Wright (ed.). *The genetics and biology of Drosophila*, Vol. 2a, Academic Press, London, U.K.
- Gunn, D.L. (1975). The meaning of the term "klinokinesis". *Anim.Behav.* 23: 409-412.
- Hall, J. C., R. J. Greenspan and W. A. Harris (1982). *Genetic neurobiology.* The MIT Press, Cambridge, Massachusetts and London, England.

- Hirsch, J., and L. Erlenmeyer-Kimling (1962). Studies in experimental behaviour genetics: IV. Chromosome analyses for geotaxis. *J.Comp.Physiol.Psychol.* 55(5): 732-739.
- Hinde, R. A. (1970). *Animal Behaviour: A synthesis of ethology and comparative psychology.* Second Edition. Mc Graw Hill, New York and London.
- Kandel, E.R., J.H. Schwartz (1985). *Principles of neural science.* Second edition. Elsevier. New York, Amsterdam and London.
- Klopfer, P.H. (1974). *Introducción al comportamiento animal.* Fondo de Cultura Económica, México.
- Koref-Santibañez, S. (1984). The present state of behaviour genetic analysis. *Biol.Zbl.* 103: 241-266.
- Markow, T.A. (1979). A survey of intra- and interspecific variation for pupation height in *Drosophila*. *Behav.Genet.* 9: 209-217.
- Markow, T.A. (1981). Light-dependent pupation site preferences in *Drosophila*: Behavior of adult visual mutants. *Behav.Neural Biol.* 31: 248-353.
- Maróy, P., K. Koczka, E. Fekete and J. Vargha (1980). Molting hormone titer of *D. melanogaster* larvae. *Dros.Inform.Serv.* 55: 98-99.
- Mather, K., and J.L. Jinks (1977). *Introduction to Biometrical Genetics.* Chapman and Hall, London, U.K..
- Mayr, E. (1974). Behavior programs and evolutionary strategies. *Am.Sci.* 62: 650-659.
- Ohrishi, S. (1979). Relation between larval feeding behaviour and viability in *D. melanogaster* and *D. simulans*. *Behav.Genet.* 9: 129-134.
- Parsons, P. A. (1975). The comparative evolutionary biology of the sibling species, *D. melanogaster* and *D. simulans*. *Q. Rev. Biol.* 50: 151-169.
- Plomin, R., J.C. DeFries and G.E. McLearn (1980). *Behavioral Genetics: A Primer.* W.H. Freeman and Company, San Francisco and London.
- Pruzan, A., and G. Bush (1977). Genotypic differences in larval olfactory discrimination in two *Drosophila melanogaster* strains. *Behav.Genet.* 7: 457-464.

- Ricker, J. P., and J. Hirsch (1985). Evolution of an instinct under long-term divergent selection for geotaxis in domesticated populations of *Drosophila melanogaster*. *J.Comp.Psychol.* 99(4): 380-390.
- Robertson, H. M. (1982). Polygenic autosomal control of male genitalic shape in *D. simulans* and *D. mauritiana*. *Dros.Inform.Serv.* 58: 129-130.
- Rockwell, R. F., and M. B. Seiger (1973). Phototaxis in *Drosophila*: a critical evaluation. *Am.Sci.* 61(3): 339-345.
- Schnebel, E.M. and J. Grossfield (1986). The influence of light on pupation height in *Drosophila*. *Behav.Genet.* 16: 407-413.
- Schöne, H. (1984). *Spatial Orientation: The spatial control of behaviour in animals and man.* Princeton University Press, Princeton, New Jersey, U.S.N.A.
- Sewell, D., B. Burnet and K. Connolly (1975). Genetic analysis of larval feeding behaviour in *Drosophila melanogaster*. *Genet.Res.Camb.* 24: 163-173.
- Sokolowski, M.B., and R.I.C. Hansell (1983). *Drosophila* larval foraging behaviour. I. The sibling species *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. *Behav.Genet.* 13: 159-168.
- Sokolowski, M.B., R.I.C. Hansell and D. Rotin (1983). *Drosophila* larval foraging behavior. II. Selection in sibling species *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. *Behav.Genet.* 13: 169-172.
- Steel, R.G.D., y J.H. Torrie (1985). *Biostatística: Principios y Procedimientos.* Mc Graw-Hill Latinoamericana S.A., Bogotá, Colombia.
- Strickberger, M., (1976). *Genetics*, 2nd Ed. Mc Millan, New York and London
- Thompson, J.N., F.B. Schnee and T.W. Seale (1983). Polygenic analysis of larval locomotor activity in *Drosophila melanogaster*. *Behav.Genet.* 13: 579-589.
- Troncoso, B., R. Godoy-Herrera and W. Mora (1987). The development of larval movement patterns in *Drosophila*. *Heredity* 58(3): 321-330.
- Tunnicliff, G., K. Connolly and J. T. Rick (1969). Locomotor activity in *Drosophila*. V. A comparative biochemical study of selectively bred populations. *Comp.Biochem.Physiol.* 29: 1239-1245.