

UCH-FC
LIC-B
6145

UNIVERSIDAD DE CHILE

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

FACULTAD DE CIENCIAS

EFFECTO DE UN SHOCK DE BAJA
TEMPERATURA SOBRE LA VIABILIDAD
EN D. PAVANI Y D. GAUCHA



INFORME DE SEMESTRE DE INVESTIGACION
PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO
EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN BIOLOGIA.

PROF. PATROCINANTE
DANKO BRNCIC J.

DIRECTOR DE INFORME:
PROF. MYRIAM BUDNIK SCH.

GONZALO GAJARDO GALVEZ

1976

El presente trabajo se realizó en la Unidad de Genética y Evolución Experimental, del Departamento de Biología Celular y Genética, Facultad de Medicina. Sede Norte. Universidad de Chile.

A MIS PADRES

Deseo expresar mi profundo reconocimiento a la Profesora Myriam Budnik, sin cuya generosa dedicación y constante guía no hubiera sido posible la realización de este trabajo. Igualmente al Profesor Danko Brncic, por sus valiosas sugerencias en la revisión del manuscrito y por sus permanentes consejos.

De la misma forma agradezco sinceramente a todos los miembros de la Unidad de Genética y Evolución Experimental, especialmente a Daniel Frías, Raúl Godoy y José Navarro, y a todos los miembros del Departamento de Biología Celular y Genética, que de una u otra forma intervinieron con su colaboración.

I. I N T R O D U C C I O N

La temperatura es uno de los factores ambientales más importantes en la sobrevivencia de los insectos. Su papel, como regulador del tamaño poblacional en la naturaleza, ha sido estudiado en numerosas especies. En todas ellas se observa un margen de variación de la temperatura, dentro del cual la especie tiene su desarrollo óptimo y su reproducción máxima.

En muchas partes del mundo las *Drosophilas* presentan una abundancia de carácter estacional, con un tamaño de población máximo durante la época estival, disminuyendo a prácticamente cero, durante la temporada fría. De particular interés son los trabajos pioneros de Timofeeff-Ressovsky (1940). Este autor, estudió la viabilidad relativa de *Drosophila funebris* en regiones que cubren las principales zonas climáticas de Europa, observando que poblaciones de distribución norte eran más resistentes a temperaturas frías, mientras que poblaciones de distribución sur eran más resistentes a temperaturas altas. Estos antecedentes fueron importantes, puesto que evidenciaron el efecto selectivo del medio ambiente (temperatura en este caso) sobre determinados genotipos, al señalar que el carácter resistencia a la temperatura fuese geográficamente variable.

Otras evidencias experimentales, señalaron la existencia de cepas de *Drosophila* sensibles a la temperatura. Tantawy y Mallah (1961) observaron que el porcentaje de emergencia de moscas, desde el estado huevo, es mayor para *Drosophila simulans*, en el rango de 18°C a 25°C, mien-

tras que en el rango de 10°C a 31°C, Drosophila melanogaster tiene una sobrevivida promedio mayor. Esta observación fué confirmada también por Hosgood y Parsons(1966). Un hecho importante es que estos datos, obtenidos en el laboratorio, se correlacionan con los de distribución reportados, para estas especies en Estados Unidos, por Wallace(1968).

La existencia de especies de Drosophilas y Dípteros, en general sensibles a cambios de temperatura y la correlación de estas observaciones con la distribución observada en la naturaleza, permite postular la existencia de mecanismos adaptativos, que permitan la sobrevivencia bajo condiciones ambientales de temperaturas extremas.

Uno de los mecanismos de resistencia a bajas temperaturas más conocido hasta ahora, es el estado de hibernación llamado diapausa.

La diapausa facilita la sobrevivencia de los insectos en estaciones desfavorables. Sin embargo poco se conoce acerca de ella, como así también sobre los factores ecológicos involucrados. Salt(1961) reconoce dos tipos principales de resistencia al frío en los insectos: 1) supercongelamiento, que es un mecanismo que permite que los insectos sopor ten temperaturas bajo el punto de congelación, sin que el agua de su organismo cristalice. 2) Estado de semicongelamiento: este mecanismo implica liberación de glicerol en la Hemolinfa.

Estos procesos han sido descritos para varias especies del género Drosophila, como también para otra gran cantidad de insectos, pudiendo observarse en cualquier estado del ciclo vital del desarrollo de una especie. Carson y Stalker(1948) indican que Drosophila robusta entra en

diapausa durante el período adulto, lo mismo le sucede a Drosophila tristis, mientras que en Drosophila reflexa la diapausa ocurre en el estado larval (Basden 1954).

Los mecanismos que controlan este fenómeno no están aún determinados claramente. Por un lado, se cree que es un proceso regulado exclusivamente por factores ambientales, como temperatura y cantidad de luz. Debido a la estrecha dependencia que presentan los insectos respecto del medio ambiente, una adecuada combinación de temperaturas y períodos de fotofases suficientemente largos podrían inducir o terminar el proceso. Así en Drosophila subartica, Drosophila littoralis y Drosophila bifasciata, que diapausan durante el estado adulto, el proceso parece depender del fotoperíodo. En Chymomyza costata, el fenómeno ocurre durante su período larval y parece depender de la temperatura (Lakovaara y col. 1972).

Por otra parte, se considera que la diapausa puede ser inducida o terminada por la presencia o ausencia de determinada hormona en la hemolinfa, cuya presencia sería necesaria para el crecimiento. En sentido estricto, ambas interpretaciones no son alternativas, sino que son complementarias, ya que en último término la liberación o represión de la hormona está regulada por un reloj biológico, que es accionado por las variaciones ambientales de temperatura y luminosidad.

En relación con las especies chilenas del género Drosophila, se conoce muy poco sobre las características del fenómeno de diapausa invernal. Sin embargo, muchas de las formas chilenas son abundantes solamen-

te en determinadas épocas del año(primavera y verano) y desaparecen en invierno. El problema que se presenta,es saber si desaparecen realmente y la presencia de ellas en las estaciones cálidas se debe a nuevas colonizaciones,o bien han permanecido en estado de latencia en alguno de los diferentes estados de su metamorfosis.

Drosophila pavani,Brncic(1957 a) es una especie endémica chilena, muy abundante en la zona central de Chile. Su área de distribución se extiende desde Copiapó a Valdivia,y a la zona oriental de la cordillera de Los Andes en Argentina(San Luis),donde sobrepone su área con la de su especie críptica Drosophila gaucha. La abundancia de D.pavani es de carácter estacional. Su tamaño poblacional máximo se presenta durante la primavera y verano,y disminuye hasta el punto de ser muy difícil encontrarla en invierno(Brncic 1958).

A través de numerosos estudios citogenéticos se ha podido establecer que D.pavani es una especie polimórfica,con respecto al orden de los genes en los cromosomas,debido a la presencia de inversiones en el cromosoma II y en los dos brazos del cromosoma IV. Este polimorfismo no parece ser dependiente de la temperatura,húmedad y otras condiciones climáticas. Las muestras obtenidas desde Copiapó a Valdivia no revelan cambio en la frecuencia de inversiones ni existen diferencias entre las muestras de una misma población,estudiadas en diferentes estaciones del año(Rev.en Brncic 1970,1973).

Ford(1945) define polimorfismo como "la ocurrencia conjunta,en el mismo medio ambiente y al mismo tiempo,de dos o más formas discontinuas de la misma especie,en tales proporciones que la más escasa de ellas no

puede ser mantenida exclusivamente por la tasa de mutaciones". De acuerdo a Dobzhansky(1962), las especies polimórficas pueden dividirse en dos grandes grupos: 1) aquellas donde el polimorfismo es "flexible". Es decir, donde la frecuencia de los diferentes ordenamientos genéticos en un cromosoma, puede ser modificada en la naturaleza o en el laboratorio por cambios ambientales, tales como clima, altura, humedad, etc. 2) especies o poblaciones cuyo polimorfismo es "estable" o "rígido", o sea, en las que las diferentes condiciones ambientales no modifican la frecuencia de los ordenamientos genéticos en un cromosoma. Dentro del primer grupo existe una serie de estudios que ilustran el fenómeno, entre ellos los realizados en Drosophila pseudoobscura y Drosophila persimilis (Dobzhansky 1956), Drosophila robusta (Carson 1958, 1965; Sperlich 1961). En Chile, Drosophila flavopilosa, Drosophila funebris y Drosophila gasici, exhiben también polimorfismo flexible (Rev. en Brncic 1970).

Dentro del segundo grupo: Drosophila willistoni (Dobzhansky 1962) y D. pavani (Brncic 1958) representan buenos ejemplos.

Para la mantención del polimorfismo rígido, se ha postulado un mecanismo de balance determinado por la superioridad selectiva de los heterocigotos estructurales. En este laboratorio, se han realizado una serie de experimentos que llevaron a confirmar la hipótesis de que los heterocigotos estructurales en D. pavani, son heteróticos para varios componentes de la adecuación darwiniana, como longevidad (Brncic y Del Solar, 1961); actividad sexual (Brncic y Koref-Santibañez, 1964 y Koref-Santibañez y Brncic, 1965); velocidad de desarrollo (Budnik y col. 1971a); ha-

bilidad competitiva(Budnik y col.1971 b);resistencia a la contaminación por detritus(Brncic y Budnik 1976).

Este trabajo,es un estudio preliminar en el que se ponen en marcha técnicas para estudiar en el futuro,el efecto de temperaturas muy bajas sobre la sobrevivencia de los diferentes estados de desarrollo en varias especies del género Drosophila.Esto es importante para llegar a entender la exclusión estacional observada en varias especies,tanto de Drosophilas,como de Dípteros en general.

En este trabajo se muestran los resultados obtenidos en la especie Drosophila pavani y en su especie críptica Drosophila gaucha.

II. M A T E R I A L Y M E T O D O S

II-1. Linajes empleados

En los experimentos que constituyen el objeto del presente trabajo, se utilizaron los siguientes linajes:

a) Drosophila pavani Brncic 1957, linaje "Bellavista", establecido en la localidad del mismo nombre, en la comuna de La Florida, Santiago en 1961.

Este linaje es polimórfico para sus ordenamientos genéticos en los cromosomas II y IV, debido a la presencia de inversiones (Fig. 1 y 2). En el cromosoma II, junto con la secuencia "Standard", existe otro ordenamiento que difiere del primero por la presencia de dos inversiones, una incluida dentro de la otra (Inv. A+B), las que siempre se han visto asociadas.

En el brazo derecho del cromosoma IV, existen tres inversiones sobrepuestas, además de la secuencia Standard (Inv. IV-R: A+B+C), las que jamás han sido encontradas separadamente, y en el brazo izquierdo del mismo cromosoma existe otro reordenamiento genético, que difiere del standard, también por tres inversiones siempre asociadas (Inv. IV-L: A+B+C). Las características y ubicación exacta de estas inversiones han sido descritas en detalle por Brncic (1957b).

En el momento de realizar estos experimentos la frecuencia de heterocigotos para el ordenamiento IV-R: A+B+C, era de 64% y para la secuencia en el brazo izquierdo, alrededor del 67%. En este estudio no se consideró el polimorfismo observado en el cromosoma II, debido a la gran variabilidad que presenta bajo condiciones de laboratorio.

b) Drosophila gaucha Jaeger y Salzano 1953, linaje proveniente de Rio



Grande do Sul, Brasil, proporcionado por el profesor Antonio R. Cordeiro, de la Universidad de Porto Alegre en 1955.

Las secuencias en los cromosomas II, III y IV de D. gaucha, corresponden a los ordenamientos standard de D. pavani. En cambio el ordenamiento genético en el cromosoma I (el par sexual) difiere en las dos especies por la presencia de dos inversiones sobrepuestas en el tercio basal.

Ambos linajes se han mantenido en el laboratorio a 25°C, durante varias generaciones en botellas de cultivo apropiadas de 250cc.

Con el objeto de evitar la endogamia y asegurar el máximo de heterogeneidad genética de la población, se recurrió al siguiente método de mantención (Fig. 3) (Brncic y Koref-Santibañez, 1964). Se sembraron individualmente en tubos con medio de cultivo, 100 hembras de D. pavani recolectadas en la naturaleza. La progenie obtenida de 10 de estos tubos se reunió en una botella. En la misma forma se procedió con los tubos restantes, de modo que se obtuvo un total de 10 botellas. La descendencia de ellas se mezcló en una sola, para luego distribuirse en otras 10. Este método se continuó en cada generación. De esta manera se logró un linaje que se estima bastante heterogéneo desde el punto de vista genético.

El método usado para la obtención de huevos fue el siguiente: 250-300 hembras vírgenes de cada especie, cuya edad fluctuaba entre los 8 y 12 días, fueron colocadas separadamente con los machos respectivos en cajas de poblaciones plásticas, cuyo interior contenía tubos con medio

de cultivo destinado a la ovoposición. Estos tubos se dejaron por un plazo de 48 horas, para que las moscas se aparearan. Después de ese tiempo se retiraron y se reemplazaron cada 24 horas por otros. Los huevos depositados se trasladaron en un número determinado, según el experimento, a tubos que contenían 10cc. de medio de cultivo.

II-2.- Experimentos

El estudio del efecto de la temperatura sobre la viabilidad, se realizó en tres situaciones experimentales diferentes, según el congelador usado y el número de tubos que se puso a congelar cada vez.

Experimento I.

Se usó un crióstato (I.E.C.): INTERNATIONAL HARRIS CRYOSTAT, MODEL CT., el que se mantuvo a una temperatura de -24°C . Se pusieron a congelar 25 tubos simultáneamente de cada una de las especies en forma independiente.

La variación de temperatura registrada entre el interior de los tubos y la del crióstato fue mínima. El crióstato tiene una superficie útil de $647,75 \text{ cm}^2$, de modo que al poner sólo 25 tubos, éstos quedan separados unos de otros. Cada estado de desarrollo se sometió al shock de baja temperatura por espacio de 4 horas. Se hicieron dos réplicas, de modo que se analizaron 1000 huevos, igual cantidad de larvas, pupas y adultos.

Estado huevo : Para estudiar el efecto del shock en este estado del desarrollo, se sembraron 25 tubos de 12 x 27 cm. con medio de cultivo, con

20 huevos cada uno (total 500 huevos)..Se mantuvieron en el crióstató durante 4 horas. Al cabo de ese tiempo se llevaron a una cámara de temperatura constante de 25°C, donde se mantuvieron hasta que se completó el desarrollo. Se contaron los individuos adultos que emergieron. (Serie experimental).

Simultáneamente se establecieron los grupos controles consistentes en 25 tubos con 20 huevos cada uno (total 500 huevos), los que fueron mantenidos a 25°C. Cuando se completó el desarrollo, se contaron los imagos emergidos.

Estado larva : Se sembraron 20 huevos por tubo (12x27 cm.), en un total de 25 tubos (500 huevos). Se permitió que se desarrollaran a larvas de 5 a 6 días en la cámara a 25°C. En seguida se sometieron al tratamiento de shock (-24°C) por 4 horas. Después se llevaron a una cámara de temperatura constante a 25°C, hasta que se completó el desarrollo. Se contaron los adultos emergidos (serie experimental). Para la serie control se sembraron 25 tubos, con 20 huevos cada uno. Se mantuvieron a 25°C, hasta que emergieron los adultos. Se contaron.

Serie pupa : En el momento de establecer las series anteriores se sembró una gran cantidad de huevos con el propósito de obtener pupas.

Se montaron 20 pupas sobre un papel filtro humedecido, en tubos de 12x27 cm. sin medio de cultivo. Se completaron 25 tubos (500 pupas). En seguida se sometieron a -24°C, por 4 horas. Al término de este período se trasladaron a la cámara de temperatura constante de 25°C. Se esperó y se contaron los adultos que emergieron. Los controles se mantuvieron

en la cámara de 25°C.

Estado adulto: Se pusieron simultáneamente 10 machos y 10 hembras en tubos con medio de cultivo. Se completó un total de 25 tubos (500 adultos). Se sometieron al shock durante 4 horas. Al término de este período se pusieron a 25°C. Se contaron los individuos que lograron resistir.

Experimento II

Se utilizó el crióstato ocupado en el experimento I. Se trataron ambas especies simultáneamente de manera que en la misma superficie habían ahora 50 tubos. De esta forma los tubos estaban en estrecho contacto. En estas condiciones, la temperatura en el interior de los tubos fué 2 a 3°C. superior a la del crióstato, que se encontraba a -24°C.

Las series controles y experimentales, para estudiar el efecto de la baja temperatura, en cada estado de desarrollo se establecieron siguiendo el mismo procedimiento señalado en el experimento I.

En cada estado de desarrollo se hicieron 3 réplicas, de manera que se analizaron un total de 1500 huevos e igual cantidad de larvas y de pupas. En el estado adulto se hicieron 2 réplicas, lo que significó analizar 1000 individuos.

Experimento III

Se utilizó un refrigerador vertical BAUKNECHT AUTOMATIC. Se trataron ambas especies simultáneamente, de modo que habían 50 tubos en una superficie de 1320 cm². Se sometió a -24°C. durante 4 horas.

En este experimento sólo se analizaron los estados de huevo y lar-

va. El montaje de cada serie experimental y control, para observar el efecto del shock en ambos estados, ya ha sido descrito para el experimento I.

Se hicieron 3 réplicas para cada estado (1500 huevos y 1500 larvas).

II-3.- Análisis citogenético

Se hizo análisis citogenético de los individuos nacidos posteriormente al shock durante el estado huevo y de los controles. Para ello, se cruzaron individuos de D.pavani de ambos sexos con machos y hembras de la especie D.gaucha.

Se consideró esta última especie por ser: 1) monomórfica, es decir, homocigota para los ordenamientos standard, en todos sus cromosomas. 2) por ser una especie críptica de D.pavani. 3) Da abundantes híbridos estériles con individuos D.pavani. 4) Las hembras híbridas que llevan un cromosoma sexual (X) de D.pavani y otro de D.gaucha, que poseen ordenamientos genéticos diferentes, son fáciles de reconocer a través del estudio de las glándulas salivales.

Los cruzamientos se realizaron en tubos con medio de cultivo y fueron mantenidos en una cámara de temperatura constante a 25°C. A medida que las larvas comenzaron a aparecer, se trasladaron a una cámara de temperatura constante de 16°C, enriqueciéndose previamente el medio con gotas de levadura para poder realizar en dichas larvas la preparación de los cromosomas de las glándulas salivales. Ocho larvas fueron examinadas en cada tubo, con el método de aplastamiento y tinción con orceína acética (Demerec 1950), para determinar si los progenitores pavani eran homocigotos para los ordenamientos St/St, In/In o heterocigotos St/In en los brazos derecho e izquierdo del cromosoma IV.

III. R E S U L T A D O S

En la Tabla I se da a conocer el número total y el porcentaje de individuos adultos de D.pavani emergidos desde los estados de huevo, larva y pupa, en los experimentos I, II y III. En cada experimento se observa una sobrevivencia diferencial según el estado de desarrollo. La que presentan los huevos, en los tres experimentos, es superior a la de los otros estados pre-adultos.

La Tabla también señala que el efecto más drástico se produce en el experimento I. En él se pusieron 25 tubos en el crióstato y sólo sobrevivieron el 17,1% de los huevos tratados. En cambio, en el experimento II, en el cual se pusieron 50 tubos simultáneamente, sobrevivieron individuos de los tres estados pre-adultos en porcentajes mayores. Es así que un 46,3% de los huevos sobrevive; en las larvas un 27% y en las pupas un 2,4%. En el experimento III, sobrevivió el 29,8% de los huevos y el 11,2% de las larvas.

La Tabla 2 muestra los resultados obtenidos en D.gaucho. Las condiciones experimentales para esta especie fueron las mismas que para D.pavani, y en ella se ve una tendencia análoga. En el experimento I, sólo sobreviven huevos en un 18,8%. En el experimento II sobreviven huevos en un 68,3%, larvas en un 43,5% y pupas en un 0,6%. En el experimento III sobreviven huevos en un 50,8% y larvas en un 20,1%. Las Figuras 4 y 5 muestran gráficamente el porcentaje de emergencia para D.pavani y D.gaucho, en los experimentos I y II.

De estos datos es importante señalar el hecho de que, a pesar de que las condiciones experimentales son diferentes, se observa una clara tendencia en ambas especies a disminuir la sobrevida a medida que se progresa en el desarrollo. Por otra parte, es interesante destacar el hecho de que D. gaucha muestra una viabilidad relativa mayor en relación a la de D. pavani, en los estados de huevo y larva, tanto en grupos con controles como experimentales.

La significación estadística de las diferencias en viabilidad, observada entre los diferentes grupos experimentales y controles en los tres estados de desarrollo ensayados en cada especie, se realizó mediante una prueba de contingencia de Ji-cuadrado (X^2) y se indica en las Tablas III y IV. En éstas, se observa que las diferencias son altamente significativas.

Las Tablas V y VI, muestran el análisis estadístico para las diferencias en viabilidad entre los grupos controles y experimentales, en cada estado del desarrollo y en los tres experimentos. El análisis se realizó por medio del test de Student (t) y se observa que las diferencias en el número promedio de adultos emergidos por tubo (\bar{X}), en los grupos controles, son significativamente mayores que en los grupos experimentales.

Como se ha descrito anteriormente, D. gaucha presenta una sobrevida superior a la de D. pavani en los diferentes estados de desarrollo, tanto en los grupos controles como experimentales. Estas diferencias analizadas a través del test de Student (t) (Tabla VII) son altamente signifi-

cativas en los grupos controles. En los grupos experimentales también lo son con excepción del estado pupa(Exp.II), donde sobreviven muy pocos individuos.

Respecto a la sobrevivida de adultos, todos los que fueron sometidos a las condiciones del experimento I murieron. En cambio en el experimento II sobrevivió el 62% de D.pavani y el 85% de D.gaucha. Esto se señala en la Figura 6. Las diferencias en sobrevivida de los adultos de D.pavani y D gaucha y el tratamiento estadístico de ellas (test de homogeneidad), se muestran en la Tabla VIII. Estas diferencias son significativas.

Los machos y las hembras no presentan una sobrevivida diferencial, tanto en los grupos controles como experimentales, en cada estado del desarrollo analizado.

Las Tablas IX y X muestran el número(N) de machos y hembras de D. pavani y D.gaucha emergidos y totales, el promedio de emergencia por tubo(\bar{X}) y la razón sexual. Tanto en estas tablas como en las Figuras 7 y 8, que ilustran gráficamente los resultados, se observa que no hay diferencias entre la cantidad de machos y hembras emergidos de los grupos controles y en los grupos experimentales. Esto se verifica en la relación $\frac{\text{Hembras}}{\text{Hembras} + \text{machos}}$, que debería ser 0.50.

En las Tablas XI y XII se analizan la significación estadística (test de Student) de las diferencias entre el promedio de hembras y de machos emergidos por tubo, para las dos especies y los tres experimentos. Se observa que las diferencias no son significativas.

La Figura 9, muestra el porcentaje de machos y hembras sobrevivien-

tes al ser tratados en el estado adulto. Igual a lo que ocurre en los estados pre-adultos, no hay diferencias significativas entre los sexos en ambas especies.

Con el objeto de observar si el shock térmico al estado de huevo seleccionaba ciertos genotipos en D.pavani, se realizó el estudio citogenético de los individuos sobrevivientes y de los controles respectivos. La Tabla XIII muestra que los heterocigotos para las inversiones en ambos brazos del cromosoma IV, presentan una tendencia a una mayor frecuencia, aunque ésta no es estadísticamente significativa.

IV. D I S C U S I O N

En la naturaleza los insectos están sometidos, en ciertos períodos a condiciones de temperatura y humedad sub-óptimas. Por ejemplo, en Drosophila melanogaster, las temperaturas óptimas fluctúan entre 16°C y 25°C. Sin embargo, Parsons (1969), en la misma especie, observó que cierto porcentaje de larvas llegaba al estado adulto a 30.5°C. Por otra parte Levins (1969), trabajando con varias especies de Drosophilas demostró que existía una aclimatación fisiológica que les permite desarrollarse a 38°C y que esta aclimatación ocurría con distinta rapidez, dependiendo de varios factores. Entre éstos se encuentra la constitución genética. Hosgood y Parsons (1968) observaron que moscas adultas de distintas poblaciones diferían en su capacidad para sobrevivir a un shock de 33.5°C, durante 24 horas.

Con respecto a las condiciones extremas de bajas temperaturas, trabajos de laboratorio en Drosophila, han demostrado que éstas exhiben una gran resistencia en estas condiciones y que la viabilidad depende del estado de desarrollo. Por ejemplo, en Drosophila pseudoobscura, Crumacker y Marinkovic (1967), encontraron que los adultos resistían más el shock frío que las larvas o pupas, siendo estas últimas más tolerantes que los huevos. Estos autores observaron el efecto a 16°C, 5°C, -3°C y -10°C. Estos resultados fueron confirmados por Jefferson y col. (1974).

En el presente trabajo, pudo demostrarse que D. pavani y D. gaucha resisten a condiciones de baja temperatura (-24°C) y esta resistencia es dependiente del estado de desarrollo. La mayor sobrevivencia se observó en los huevos, disminuyendo en larvas y aún más en las pupas. Sin embargo,

la sobrevivencia observada en los adultos fué muy superior a la de los huevos, en ambas especies.

Las dos especies difieren en cuanto a su viabilidad. D.gaucho presenta una viabilidad relativa mayor, para cada estado de desarrollo, en relación a D.pavani (Tabla I y II; Fig. 3 y 4). Este hecho confirma trabajos realizados en este laboratorio, en donde se analizó la viabilidad de ambas especies en diferentes condiciones experimentales. Siempre se observó que D.gaucho presenta una viabilidad superior a la de su especie críptica (Budnik y col. 1972).

Los resultados citados de resistencia a bajas temperaturas en otras especies sugieren que el estado adulto puede ser importante en la hibernación, especialmente en zonas con invierno frío.

Existe además, el antecedente de que los adultos colectados inmediatamente después del invierno, son individuos viejos sobrevivientes del otoño previo. Así ocurre en D.pavani Brncic (1958) y en D.robusta Carson (1958), cuyos adultos tienen períodos de hibernación. Este último autor ha observado que las hembras de D.robusta, capturadas en invierno, tienen ovarios muy pequeños y gran cantidad de grasa en el cuerpo. Este fenómeno también ha sido observado por Lakovaara y col. (1974), en numerosas especies y representaría un mecanismo fisiológico de adaptación para sobrevivir a las condiciones extremas de temperatura.

La diapausa ha sido descrita también, para otros estados de desarrollo. En Drosophila persimilis, Mohn y Spiess (1963) observaron que individuos adultos y pupas pueden sobrevivir mejor al invierno, mientras

que Ives(1970) encontró evidencia de que las larvas de Drosophila melanogaster pueden pasar el invierno en frutas podridas, en una región donde las temperaturas bajan el punto de congelación. Estas larvas llegan a ser las progenitoras de muchas de las moscas que emergen en la zona durante la época de primavera. En Drosophila suboscuro, se ha visto que los estados inmaduros, especialmente las larvas, sobrepasan mejor el invierno (Risch 1971).

Drosophila nigrospiracula, Lowe y col. (1967), es huésped del saguaro (Cereus giganteus). El exámen de las hojas del cactus reveló la presencia de larvas y pupas, cuando la planta estaba a una temperatura mínima de $-3^{\circ}\text{a } -5^{\circ}\text{C}$.

Con respecto al efecto seleccionador que pudiera ejercer el shock térmico sobre determinado sexo, no se observaron grandes diferencias en los grupos experimentales. Sin embargo, en algunos grupos controles las hembras parecen sobrevivir más. (Tablas X y XI ; Fig. 6 y 7).

Anxolahehere y Periquet (1970), no encuentran diferencias de resistencia de machos y hembras de Drosophila melanogaster a 4°C . Sin embargo a $5^{\circ}\text{y } 6^{\circ}\text{C}$, se constata una resistencia mayor de las hembras. Alrededor del 90 % de los individuos sobrevivientes de estos experimentos dan una descendencia viable. Estos datos concuerdan además con las observaciones ya citadas en D. pseudoobscura hechas por Crumpacker y Marinkovic, las que no revelaron diferencias a 5°C ., durante 21 días de tratamiento. Sin embargo, a 6°C después de 4 meses de tratamiento, las hembras manifiestan una sobrevida mayor.

Desde los clásicos experimentos de Wright y Dobzhansky(1946) y Dobzhansky(1948a), en cajas de poblaciones con D.pseudoobscura, donde estos autores observaron diferencias notorias en fitness, entre los homocigotos y los heterocigotos para inversiones, una serie de autores ha dado evidencias de las propiedades adaptativas que confieren ciertos ordenamientos genéticos a sus portadores. En la misma especie Heuts(1948), demostró la superioridad adaptativa de ciertos ordenamientos a bajas temperaturas. En Drosophila funebris, Dubinin y Tiniakov(1946) observaron cambios estacionales en la frecuencia de ciertas inversiones y sobrevivencia diferencial de heterocigotos a bajas temperaturas.

Dobzhansky(1948b) y Brncic(1966), en D.pseudoobscura y D.flavopilosa respectivamente, observaron fluctuaciones y gradientes geográficos en algunos ordenamientos cromosómicos. En cambio, en D.pavani no se han encontrado diferencias geográficas o estacionales de los ordenamientos genéticos del cromosoma IV(Brncic 1958,1968,1970). Esta especie presenta un polimorfismo rígido, y el mecanismo de mantención está dado por la superioridad en adecuación darwiniana de los heterocigotos estructurales. Este hecho ha sido revelado a través de numerosos experimentos, realizados por diversos autores, en este laboratorio(Brncic y Del Solar 1961; Brncic y Koref-Santibañez 1964; Koref-Santibañez y Brncic 1965; Budnik y col.1971a; Budnik y col.1971b; Brncic y Budnik 1976).

Los resultados del presente trabajo muestran que los individuos sobrevivientes al shock de baja temperatura, durante el estado huevo, ex-

híben una leve tendencia a ser heterocigotos para las inversiones en ambos brazos del cromosoma IV (Tabla XIII). Sin embargo estas diferencias no son estadísticamente significativas. Estos resultados concuerdan con los de Sotomayor (1965), quién estudió la resistencia de los homo y heterocariotipos, en D.pavani a 16°C. y 25°C., sin encontrar diferencias significativas.

Los resultados obtenidos en este trabajo, tendientes a estudiar el efecto de un shock térmico sobre el desarrollo de D.pavani y D.gaucha, permiten determinar algunos procedimientos experimentales que podrían ser de utilidad en las futuras investigaciones que se han proyectado en este campo. La técnica más conveniente, parece ser la utilizada en el experimento II. Es decir, emplear como fuente de baja temperatura el crióstato con 50 tubos simultáneamente. De esta forma no se obtiene una sobrevivencia huevo-adulto tan baja, como ocurre en el experimento I, donde se emplearon 25 tubos.

En el futuro se hará necesario utilizar rangos de temperatura y tiempos de exposición distintos, ya que la interacción de ambos factores de acuerdo con Salt (1961), es fundamental en la sobrevivencia observada. Se hará necesario también, determinar los límites de temperatura de estas especies.

Por otra parte, los resultados aquí presentados pueden tener interesantes implicancias biológicas. Debido al hecho, de que D.pavani es una especie preferentemente estival, con un tamaño de población máximo durante el verano y mínimo durante el invierno, es posible postular a la

luz de los resultados, que los individuos de D. pavani pasarían el invierno en un estado de hibernación, ya sea durante el estado de huevo, o bien adulto. Con estos antecedentes, es posible pensar que la población primaveral podría ser fruto de los individuos que han permanecido en estado de diapausa y no producto de nuevas colonizaciones, por parte de individuos provenientes de zonas más templadas.

V. RESUMEN

En el presente trabajo, se estudió el efecto de un shock de baja temperatura (-24°C.) sobre cada estado de desarrollo de dos especies crípticas del género Drosophila: D.pavani y D.gaucho.

El estudio se hizo en tres situaciones experimentales diferentes. En el experimento I, se utilizó un crióstato en donde se analizó el efecto del shock en cada estado de desarrollo, tratando 25 tubos cada vez. En el experimento II, en el mismo crióstato, se trataron simultáneamente 50 tubos. En el experimento III se utilizó un refrigerador vertical y se pusieron 50 tubos. Los resultados mostraron diferencias para cada experimento.

En el experimento I, el efecto del shock en la viabilidad de los individuos de ambas especies, fue muy drástico. Sólo sobrevivieron huevos. En los experimentos II y III la viabilidad fue mayor, y sobrevivieron individuos de todos los estados pre-adultos.

La tendencia general observada, en los pre-adultos, fue la de disminuir la capacidad de sobrevivencia a medida que el desarrollo se completaba. Las diferencias de emergencia observadas entre los estados huevo, larva y pupa fueron significativas para ambas especies. Las diferencias en emergencia entre los grupos controles (mantenidos a 25°C) y los grupos experimentales (-24°C.), para cada estado de desarrollo, fueron altamente significativas.

Los adultos presentaron una gran resistencia al shock. En ambas especies sobrevivió sobre el 50% de los adultos.

D.gaucho mostró una viabilidad mayor a la de D.pavani, para cada es-

tado de desarrollo.

No se observaron diferencias significativas en la emergencia de machos y hembras en el curso de los experimentos.

El análisis cromosómico de los adultos D.pavani sobrevivientes al shock de baja temperatura durante el estado huevo, reveló un ligero aumento de los individuos heterocigotos para inversiones en el cromosoma IV. Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Debido al hecho de que D.pavani es una especie que presenta una abundancia de carácter estacional, desapareciendo en invierno, los resultados obtenidos parecerían señalar que la población que se establece en primavera, se originaría de individuos que han permanecido en estado de diapausa, como adultos o como huevos embrionados.

VI. REFERENCIAS

- ANXOLABEHERE, D y PERIQUET, G. 1970. Resistance des imagos aux basses températures chez Drosophila melanogaster. Bulletin de la Société Zoologique de France. Tome 95, N°1: pag. 61.
- BASDEN, E. B. 1954. Diapause in Drosophila (Diptera: Drosophilidae). Proc. R. Ent. Soc. London, 29: 114-118.
- BRNCIC, D. 1957a. Las especies chilenas de Drosophilidae. Col. Monografías Biol. Univ. Chile. Imp. Stanley, Santiago (Chile).
- BRNCIC, D. 1957b. Chromosomal polymorphism in natural population of Drosophila pavani. Chromosoma, 8: 699-708.
- BRNCIC, D. 1958. Evolución en el grupo Mesophragmática del género Drosophila. Biológica (Chile) 26: 3-46.
- BRNCIC, D. 1966. Ecological and cytogenetic studies of Drosophila flavopilosa, a neotropical species living in Cestrum flowers. Evolution, vol. 20, N°1: pp. 16-29.
- BRNCIC, D. 1970. Studies on the evolutionary biology of chilean species of Drosophila. En essays in evolution and genetics in honor of Theodosius Dobzhansky (a Supplement to evolutionary biology). Edited by M. K. Hecht y W. C. Steere.
- BRNCIC, D. 1973. Further study of chromosomal polymorphism in Drosophila pavani. The Journal of heredity, 64: 175-180.
- BRNCIC, D y DEL SOLAR, E. 1961. Life cycle and the expression of heterosis in inversion heterozygotes in Drosophila funebris and Drosophila pavani. Amer. Naturalist 95: 211-216.

- BRNCIC, D y KOREF-SANTIBAÑEZ, S. 1964. Mating activity of homo and heterokaryotypes in Drosophila pavani. Genetics, 49:585-591.
- BRNCIC, D y BUDNIK, M., 1976. Effects of larval biotic residues on chromosomal polymorphism of Drosophila pavani. Evolution, 30:146-151.
- BUDNIK, M., KOREF-SANTIBAÑEZ, S., y BRNCIC, D. 1971a. Rate of development and inversion polymorphism in Drosophila pavani at two temperatures. Genetics 69 :227-233.
- BUDNIK, M., BRNCIC, D., y KOREF-SANTIBAÑEZ, S. 1971b. The effects of crowding on chromosomal polymorphism of Drosophila pavani. Evolution, 25:410-419.
- BUDNIK, M. y BRNCIC, D. 1972. The effects of intraspecific and interspecific larval competition on viability, developmental rate and chromosomal polymorphism in Drosophila pavani. Genetika, 4:281-295.
- CARSON, H.L. 1958. The population genetics of Drosophila robusta. Advan. Genet, 9:1-40.
- CARSON, H.L. 1965. Chromosomal morphism in geographically widespread species of Drosophila. En, Baker, H.G. y Stebbins, G.L. edd. "The genetics of colonizing species". Acad. Press. Inc. New York. PP. 503-531.
- CRUMPACKER, D.W y MARINKOVIC, D. 1967. Preliminary evidence of cold temperature resistance in Drosophila pseudoobscura. The American Naturalist, 101 :505-514.
- DEMEREK, M. 1950. Biology of Drosophila. N.York, John Wiley and Sons.
- DOBZHANSKY, TH. 1948a. Genetics of natural population. XVIII, Experiments on chromosomes of Drosophila pseudoobscura from different geographic regions. Genetics, 33 :588-602.

- DOBZHANSKY, TH. 1948b. Genetic of natural population XVI. Altitudinal and seasonal changes produced by natural selection in certain population of Drosophila pseudoobscura and Drosophila persimilis. Genetics, 33 :158-176.
- DOBZHANSKY, TH. 1956. Genetics of natural populations. XXV. Genetics changes in populations of Drosophila pseudoobscura and Drosophila persimilis in some localities in California. Evolution, 10 :82-92.
- DOBZHANSKY, TH. 1962. "Rigid" vs. "flexible" chromosomal polymorphism in Drosophila. American Naturalist, 96:321-326.
- DUBININ, N.P. y TINIAKOV, G.G. 1964. Natural selection and chromosomal variability in populations of Drosophila funebris. Journal Heredity, 37 :39-44.
- FORD, E.B. 1945. Polymorphism. Biol. Rev., 20:73-88.
- HEUTS, N.J. 1948. Adaptative properties of carriers of certain gene arrangements in Drosophila pseudoobscura. Heredity, 2 :63-75.
- HOSGOOD, S.M. y PARSONS, P.A. 1966. Differences between D. simulans and D. melanogaster in tolerances to laboratures. Drosoph. Inf. Serv. 41, 176.
- HOSGOOD, S.M. y PARSONS, P.A. 1968. Polymorphism in natural population of Drosophila for the ability to withstand temperature shocks. Experientia, 24 :727-728.
- IVES, P.T. 1970. Further genetic studies of the south Amherst population of Drosophila melanogaster. Evolution, 24:507-518.
- JAEGER, G.P. y SALZANO, F.M. 1953. Drosophila gaucha a new species from Brazil. Rev. Bras. Biol., 13:205-208.

- JEFFERSON, M. C., CRUMPACKER, D. W., y WILLIAMS, J. S. 1974. Cold temperature resistance, chromosomal polymorphism and interpopulation heterosis in Drosophila pseudoobscura. Genetics, 76:807-822.
- KOREF-SANTIBAÑEZ, S y BRNCIC, D. 1965. Mating activity and chromosomae polymorphism in Drosophila pavani females. Genetics, 52:453.
- LAKOVAARA, S., SAURA, A., KOREF-SANTIBAÑEZ, S., y EHRMAN, L. 1972. Aspects of diapause and its genetics in northern drosophilids. Hereditas, 70:89-96.
- LEVINS, R. 1969. Thermal acclimation and heat resistance in Drosophila species. The American Naturalist, 103:483-499.
- LOWE, C. H., HEED, W. B., y HALPERN, E. A. 1967. Supercooling of the saguaro species Drosophila nigrospiracula in the Sonoran desert. Ecology, 48:984-985.
- MOHN, N y SPIESS, E. B. 1963. Cold resistance of karyotypes in Drosophila persimilis from Timberline of California. Evolution, 17:548-563.
- PARSONS, P. A. 1969. A correlation between the ability to withstand high temperatures and radio resistance in Drosophila melanogaster. Experientia, 25:1000
- RISCH, P. 1971. Die Ueberwinterung als adaptative Leistung, geprueft an verschiedenen karyotypen der inversions polymorphen art Drosophila subobscura. Genetica, 42, 79-103.
- SALT, R. W. 1961. Principles of insect cold-hardiness. Ann. Rev. Entomol. 6:55-74.

- SOTOMAYOR, R.E. 1965. Resistencia al frío de los homo y heterocariotipos en Drosophila pavani. Teis de grado. Facultad de Filosofía y Educación.
- SPERLICH, D. 1961. Untersuchungen ueber den chromosomalen polymorphismus einer population von Drosophila suboscuro auf den héparischen Inseln. Z, Vererbungsl, 92:74-84.
- TANTAWY, A.O y MALLAH, G.S. 1961. Studies on natural population of Drosophila. I. Heat resistance and geographical variations in Drosophila melanogaster and Drosophila simulans. Evolution, 15:1-14.
- TIMOFEEFF-RESSOVSKY, N.W. 1940. Mutations and geographical variation. En The new Systematics (ed. J. Huxley), pp. 73-136. Oxford University Press.
- WALLACE, B. 1968. Topics in population genetics. Norton, New York
- WRIGHT, S y DOBZHANSKY, TH. 1946. Genetics of natural populations. XII. Experimental reproduction of some of the changes produced by natural selection in certain population of Drosophila pseudoobscura. Genetics 31:125-156.

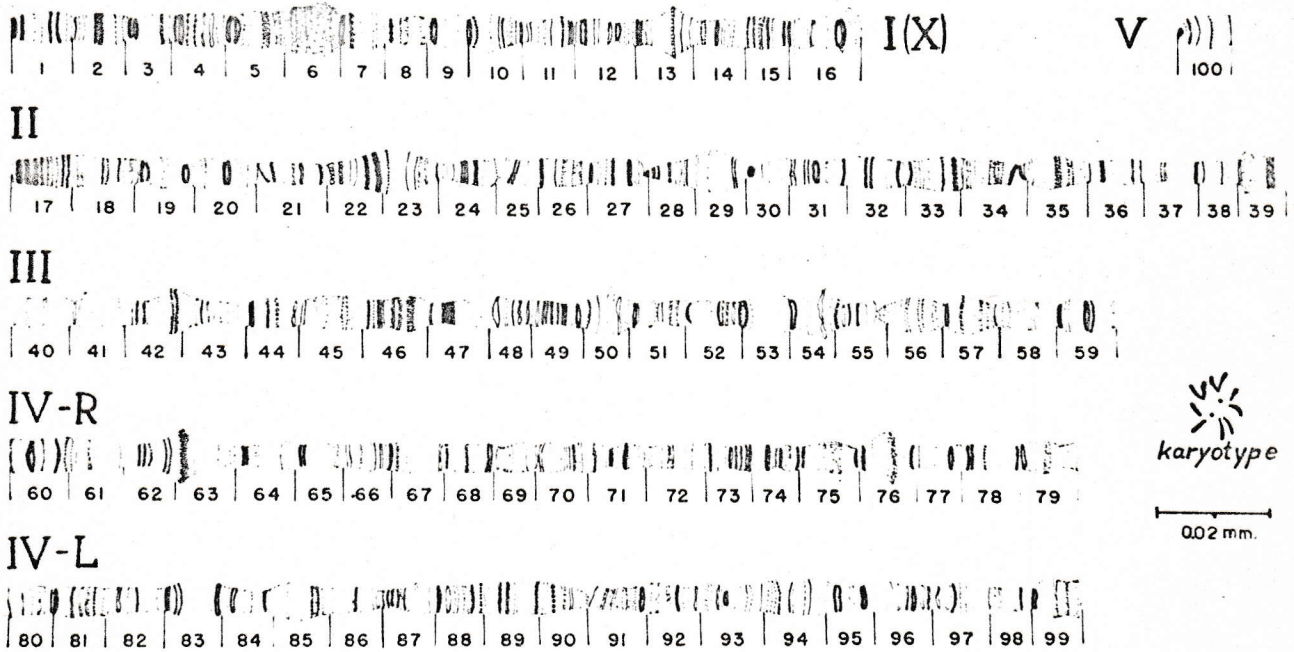


FIGURA N° 1. Mapa de los cromosomas gigantes de Drosophila pavani.
Fotografía tomada de Brncic(1957b)

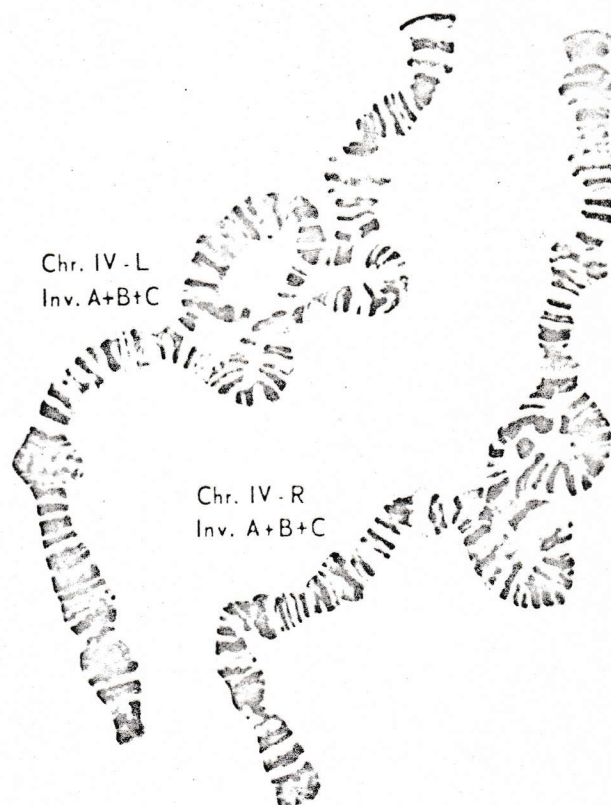


FIGURA N° 2. Fotomicrografía de heterocigotos para inversiones en ambos brazos del cromosoma IV, en Drosophila pavani. Fotografía obtenida de Brncic 1973. Journal of Heredity, 64:173-180.

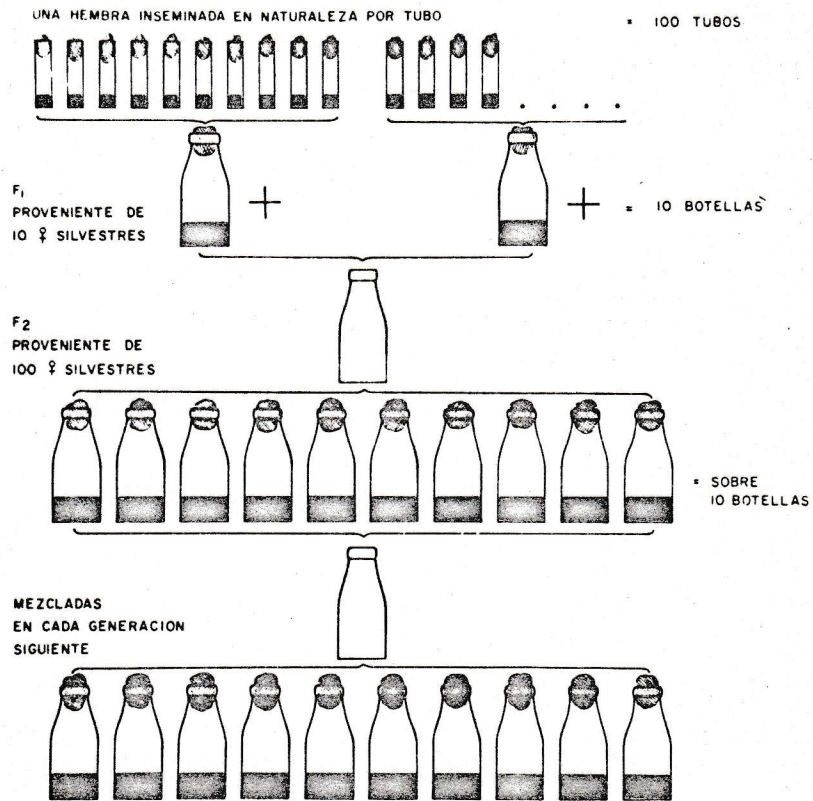


FIGURA N° 3. Sistema de mantención del linaje de Drosophila pavana utilizado en el presente trabajo. Obtenida de Budnik, 1969. (Tesis).

TABLA 1. Proporción y porcentajes de D. pavani adultos, emergidos en los grupos controles (25°C) y grupos experimentales (-24°C) y promedios de emergencia por tubo (\bar{X}). En los grupos de sobrevida de huevos y larvas se sembraron 20 huevos por tubo. La sobrevida de pupas se estudió a partir de 20 pupas por tubo. Las diferencias entre experimentos se explican en el texto.

Estado	GRUPOS CONTROLES			GRUPOS EXPERIMENTALES		
	N tubos	total emergido	% \bar{X} + e.s.	N tubos	total emergido	% \bar{X} + e.s.
exp. I						
HUEVO	50	567	56.7 11.34 [†] -0.48	50	171	17.1 3.42 [†] -0.32
LARVA	50	567	56.7 11.34 [†] -0.48	50	---	---
PUPA	50	780	78.0 15.55 [†] -0.32	50	---	---
exp. II						
HUEVO	75	831	55.4 11.08 [†] -0.43	75	695	46.3 9.24 [†] -0.55
LARVA	75	831	55.4 11.08 [†] -0.43	75	405	27.0 5.38 [†] -0.49
PUPA	75	873	58.2 11.64 [†] -0.65	75	36	2.4 0.48 [†] -0.22
exp. III						
HUEVO	75	939	62.6 12.52 [†] -0.12	75	447	29.8 11.92 [†] -0.41*
LARVA	75	939	62.6 12.52 [†] -0.12	75	168	11.2 2.24 [†] -0.25

* 5.96 ± 0.41.

TABLA II. Proporción y porcentajes de D.gaucho adultos, emergidos en los grupos controles (25°C) y grupos experimentales (-24°C) y promedios de emergencia por tubo (\bar{X}). En los grupos de sobrevivida de huevos y larvas se sembraron 20 huevos por tubo. La sobrevivida de pupas se estudió a partir de 20 pupas por tubo.

GRUPOS CONTROLES			GRUPOS EXPERIMENTALES					
Estado	N tubos	Total emergido	%	\bar{X} + e.s.	N tubos	Total emergido	%	\bar{X} + e.s.
exp. I								
HUEVO	50	705	70.5	14.10 [±] 0.26	50	188	18.8	3.76 [±] 0.36
LARVA	50	705	70.5	14.10 [±] 0.26	50	---	----	-----
PUPA	50	768	76.8	15.36 [±] 0.32	50	---	----	-----
exp. II								
HUEVO	75	1162	77.5	15.49 [±] 0.44	75	1025	68.3	13.66 [±] 0.38
LARVA	75	1162	77.5	15.49 [±] 0.44	75	652	43.5	8.69 [±] 0.58
PUPA	75	1236	82.4	16.48 [±] 0.69	75	10	0.6	0.13 [±] 0.04
exp. III								
HUEVO	75	1107	73.8	14.76 [±] 0.28	75	762	50.8	10.16 [±] 0.48
LARVA	75	1107	73.8	14.76 [±] 0.28	75	301	20.1	4.01 [±] 0.56

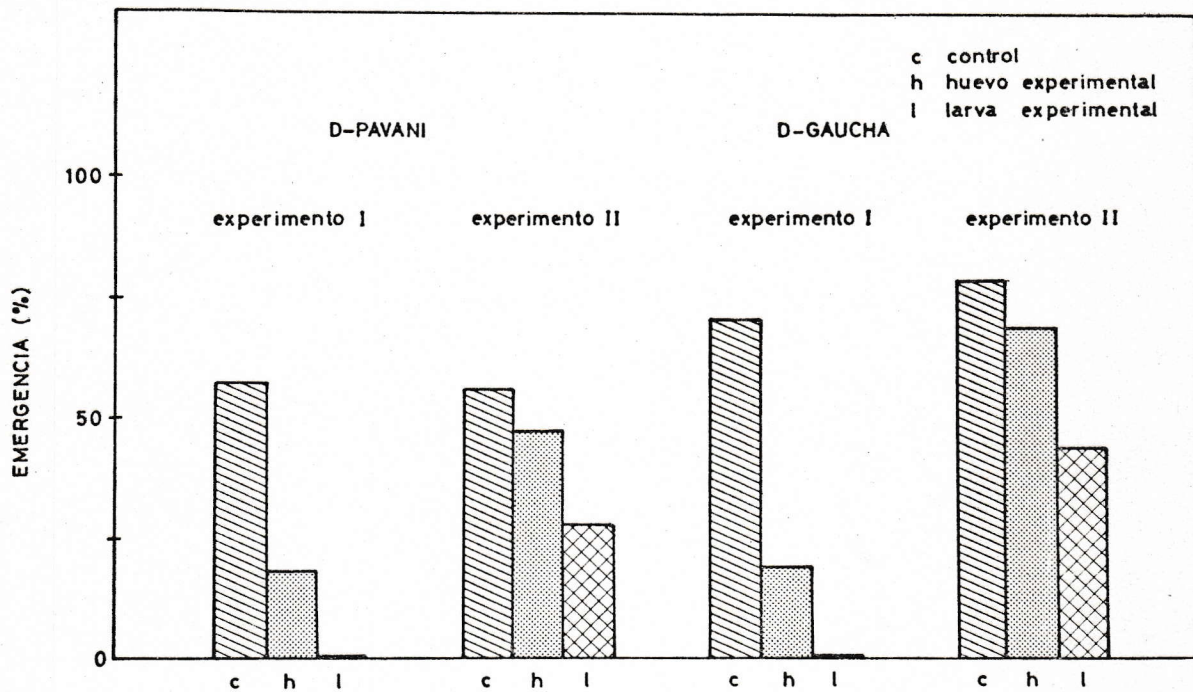


FIGURA N° 4. Porcentaje de emergencia huevo-adulto de D.pavani y D.gaucha en los grupos experimentales y en los controles, en los experimentos I y II. (c corresponde a los controles no tratados; h corresponde a los grupos en que los huevos fueron sometidos a -24°C ; l corresponde a los grupos en que las larvas de 5-6 días se sometieron al tratamiento de -24°C).

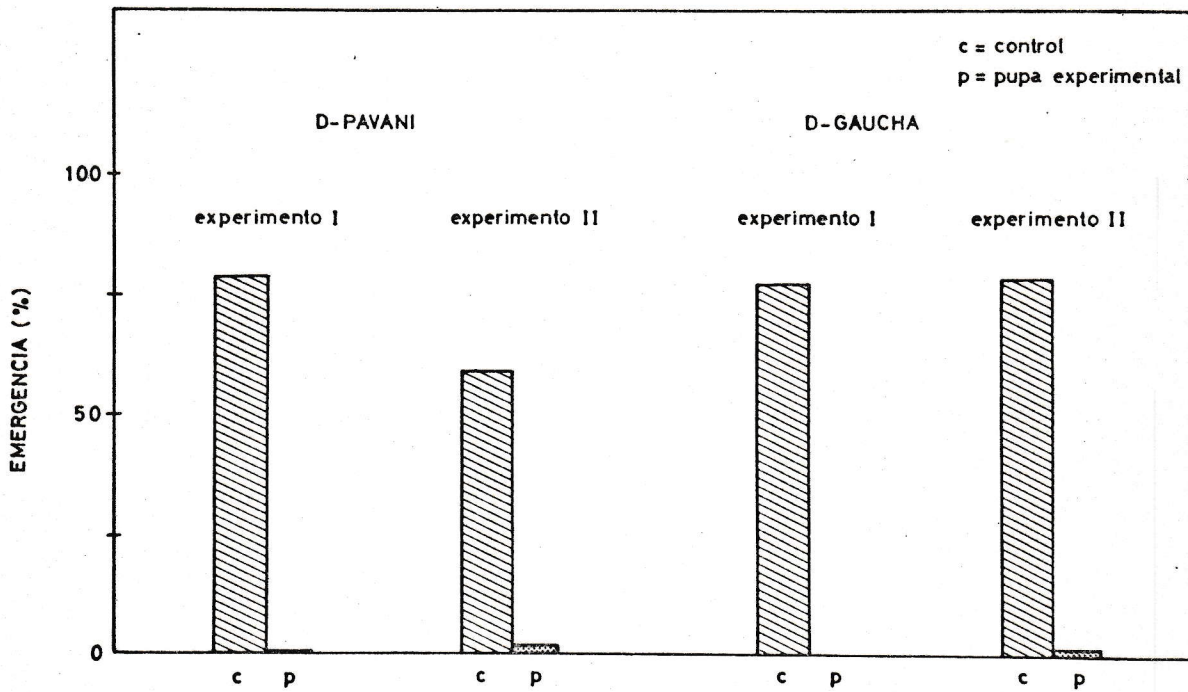


FIGURA N° 5. Porcentaje de emergencia de adultos a partir de pupas de D.pavani y D.gaucha controles(c) y sometidas a shock de -24°C (p), en los experimentos I y II.

TABLA III. Prueba X^2 para las diferencias en sobrevivencia de huevos, larvas y pupas en D. pavani, en grupos controles y experimentales en los experimentos I, II y III.

	GRUPO CONTROL		GRUPO EXPERIMENTAL		Total		
	Estado	O	E	O			E
exp. I	HUEVO	567	677.47	171	60.52	738	
	LARVA	567	520.49	---	46.50	567	
	PUPA	780	716.03	---	63.97	780	$X^2 : 340.04$
	TOTAL	1914		171		2085	G.L:2 P : <0.001
exp. II	HUEVO	831	1053.77	695	472.22	1526	
	LARVA	831	853.51	405	382.48	1236	
	PUPA	873	627.70	36	281.29	909	$X^2 : 463.87$
	TOTAL	2535		1136		3671	G.L:2 P : <0.001
exo. III	HUEVO	939	1044.08	447	341.91	1386	
	LARVA	939	1033.91	168	273.08	1107	$X^2 : 96.55$
	TOTAL	1878		615		2493	G.L:1 P : <0.001

TABLA IV. Prueba X^2 para las diferencias en sobrevivencia de huevos, larvas y pupas en D. gaucha, en grupos controles y experimentales en los experimentos I, II y III.

	GRUPO CONTROL		GRUPO EXPERIMENTAL		Total		
	Estado	O	E	O			E
exp. I	HUEVO	705	822.04	188	70.95	893	
	LARVA	705	648.98	---	56.01	705	$X^2 : 336.90$
	PUPA	768	706.97	---	61.02	768	G.L: 2
	TOTAL	2178		188		2366	P: < 0.001
exp. II	HUEVO	1162	1483.84	1025	703.15	2187	
	LARVA	1162	1230.76	652	583.23	1814	
	PUPA	1236	845.38	10	400.61	1246	$X^2 : 790.426$
	TOTAL	3560		1687		5247	G.L: 2 P: < 0.001
exp. III	HUEVO	1107	1262.43	761	605.56	1868	
	LARVA	1107	951.56	301	456.43	1408	$X^2 : 137.35$
	TOTAL	2214		1062		3276	G.L: 1 P: < 0.001

TABLA V. Prueba de Student(t) para determinar la significación estadística para las diferencias de sobrevivencia en grupos controles y grupos experimentales en D.pavani, en cada estado de desarrollo, en los experimentos I, II y III.

Estado	grupo	Total emergido	$\bar{X} \pm e.s.$	t	P(98 G.L)	
exp.I	HUEVO	control	567	11.34 [±] 0.48	28.555	<0.001
		experim.	171	3.42 [±] 0.32		
	LARVA	control	567	11.34 [±] 0.48	---	---
		experim.	---	-----		
	PUPA	control	780	15.60 [±] 0.32	---	---
		experim	---	-----		
exp.II	HUEVO	control	831	11.08 [±] 0.43	8.348	<0.001
		experim	695	9.26 [±] 0.55		
	LARVA	control	831	11.08 [±] 0.43	26.667	<0.001
		experim.	405	5.40 [±] 0.49		
	PUPA	control	873	11.64 [±] 0.65	11.840	<0.001
		experim	36	0.48 [±] 0.23		
exp.III	HUEVO	control	939	12.52 [±] 0.309	38.006	<0.001
		experim.	447	5.96 [±] 0.42		
	LARVA	control	939	12.52 [±] 0.30	47.005	<0.001
		experim.	168	2.24 [±] 0.25		

TABLA VI. Prueba de Student(t) para determinar la significación estadística para las diferencias de sobrevivencia en grupos control y experimentales en D. gaucha, en cada estado de desarrollo, en los experimentos I, II y III.

Estado	grupo	Total emergido	$\bar{X} \pm e.s.$	t	P(98 G.L)
exp.I	HUEVO control	705	$14.10^{\pm} 0.26$	67.582	<0.001
	HUEVO experim.	188	$3.76^{\pm} 0.36$		
	LARVA control	705	$14.10^{\pm} 0.26$		<0.001
		---	-----		
PUPA	control	768	$15.36^{\pm} 0.32$		<0.001
	experim.	---	-----		
exp.II	HUEVO control	1162	$15.49^{\pm} 0.44$	11.708	P(148 G.L)
	HUEVO experim.	1025	$13.66^{\pm} 0.37$		<0.001
	LARVA control	1162	$15.49^{\pm} 0.44$	32.242	<0.001
LARVA experim.	652	$8.69^{\pm} 0.58$			
PUPA	control	1236	$16.48^{\pm} 0.69$	8.161	<0.001
	experim.	10	$0.13^{\pm} 0.04$		
exp.III	HUEVO control	1107	$14.76^{\pm} 0.27$	30.082	P(148 G.L)
	HUEVO experim.	762	$10.16^{\pm} 0.48$		<0.001
	LARVA control	1107	$14.76^{\pm} 0.27$	53.750	<0.001
LARVA experim	301	$4.01^{\pm} 0.55$			

TABLA VII. Test de Student(t) para la significación estadística de las diferencias de emergencia por tubo(\bar{X}) de huevo, larva y pupa, entre D. pavani y D. gaucha, en los grupos controles y experimentales, en los experimentos I, II y III.

estado	especie	total emergido	\bar{X}	t	P	total emergido	\bar{X}	t	P (98 G.L)
exp. I									
HUEVO	pavani	567	11.34			171	3.42		
	gaucha	705	14.10	18.52	0.001	188	3.76	1.63	0.20-0.10
LARVA	pavani	567	11.34			---	----		
	gaucha	705	14.10	18.52	0.001	---	----		
PUPA	pavani	780	15.60			---	----		
	gaucha	768	15.36	2.61	0.01	---	----		
exp. II									
P (148 G.L)									
HUEVO	pavani	831	11.08			695	9.26		
	gaucha	1162	15.49	25.47	0.001	1025	13.66	22.56	<0.001
LARVA	pavani	831	11.08			405	5.40		
	gaucha	1162	15.49	25.47	0.001	652	8.69	10.90	<0.001
PUPA	pavani	873	11.64			36	0.48		
	gaucha	1236	16.48	18.71	0.001	10	0.13	0.55	0.50
exp. III									
P (148 G.L)									
HUEVO	pavani	939	12.52			447	5.96		
	gaucha	1107	14.76	19.93	0.001	762	10.16	17.79	<0.001
LARVA	pavani	939	12.52			168	2.24		
	gaucha	1107	14.76	19.93	0.001	301	4.01	4.48	<0.001

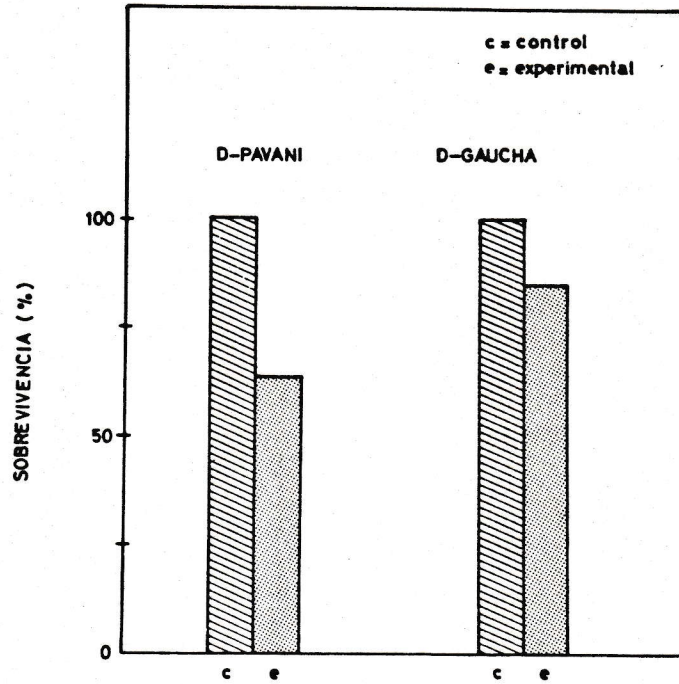


FIGURA Nº 6. Porcentaje de individuos adultos de D.pavani y D.gau-
cha que sobrevivieron a un shock térmico de -24°C (e),
y sus controles(c), en el Experimento II.

TABLA VIII. Prueba de homogeneidad(X^2) para las diferencias de supervivencia de adultos de D.pavani y D.gaucha, sometidos a shock térmico(-24°C).

	TOTAL	SOBREVIVIENTES		NO SOBREVIVIENTES	
		O	E	O	E
<u>D.pavani</u>	1000	626	738	374	262
<u>D.gaucha</u>	1000	850	738	150	262
TOTAL	2000	1476		524	

X^2 : 129.75

G.L: 1

P : <0.001

TABLA IX. Número de individuos(N) machos y hembras de D.pavani y totales; promedio de emergencia por tubo(\bar{X}) con los errores tipos(e.s) y razón sexual, en los estados de huevo, larva y pupa, en grupos controles y experimentales, en los experimentos I, II y III.

estado	grupo	HEMBRAS		MACHOS			TOTAL	
		N	$\bar{X} + e.s.$	N	$\bar{X} + e.s.$	$\varphi/\varphi+\sigma$	N	$\bar{X} + e.s.$
exp. I								
HUEVO	control	272	5.44 ± 0.35	295	5.90 ± 0.37	0.48	567	11.34 ± 0.48
	experim.	95	1.90 ± 0.23	76	1.52 ± 0.21	0.55	171	3.42 ± 0.33
LARVA	control	272	5.44 ± 0.35	295	5.90 ± 0.37	0.48	567	11.34 ± 0.48
	experim.	---	---	---	---	---	---	---
PUPA	control	385	7.70 ± 0.34	395	7.90 ± 0.25	0.49	780	15.60 ± 0.32
	experim.	---	---	---	---	---	---	---
exp. II								
HUEVO	control	421	5.61 ± 0.26	410	5.46 ± 0.31	0.51	831	11.08 ± 0.43
	experim.	344	4.58 ± 0.31	351	4.68 ± 0.34	0.49	695	9.26 ± 0.56
LARVA	control	421	5.61 ± 0.26	410	5.46 ± 0.31	0.51	831	11.08 ± 0.43
	experim.	239	3.19 ± 0.32	166	2.21 ± 0.22	0.54	405	5.40 ± 0.49
PUPA	control	415	5.53 ± 0.34	458	6.11 ± 0.41	0.48	873	11.64 ± 0.65
	experim.	12	0.16 ± 0.07	24	0.32 ± 0.06	0.30	36	0.48 ± 0.29
exp. III								
HUEVO	control	490	6.53 ± 0.26	449	5.98 ± 0.26	0.52	939	12.52 ± 0.31
	experim.	232	3.09 ± 0.23	215	2.86 ± 0.25	0.52	447	5.96 ± 0.42
LARVA	control	490	6.53 ± 0.26	449	5.98 ± 0.26	0.52	939	12.52 ± 0.31
	experim.	96	1.28 ± 0.28	72	0.96 ± 0.23	0.57	168	2.24 ± 0.25

TABLA X. Número de individuos(N) machos y hembras de D.gaucho y totales; promedio de emergencia por tubo(\bar{X}) con los errores tipos(e.s.) y razón sexual, en los estados de huevo, larva y pupa, en grupos controles y experimentales, en los experimentos I, II y III.

estado	grupo	HEMBRAS		MACHOS			TOTAL	
		N	$\bar{X} + e.s.$	N	$\bar{X} + e.s.$	$Q/Q+\sigma$	N	$\bar{X} + e.s.$
exp. I								
HUEVO	control	371	7.42 ± 0.30	334	6.68 ± 0.31	0.52	705	14.10 ± 0.26
	experim.	89	1.78 ± 0.21	99	1.98 ± 0.23	0.47	188	3.76 ± 0.36
LARVA	control	371	7.42 ± 0.30	334	6.68 ± 0.31	0.52	705	14.10 ± 0.26
	experim.	---	---	---	---	---	---	---
PUPA	control	410	8.20 ± 0.33	358	7.16 ± 0.29	0.53	768	15.36 ± 0.32
	experim.	---	---	---	---	---	---	---
exp. II								
HUEVO	control	604	8.05 ± 0.30	558	7.44 ± 0.30	0.52	1162	15.49 ± 0.44
	experim.	509	6.78 ± 0.26	516	6.88 ± 0.28	0.49	1025	13.66 ± 0.38
LARVA	control	604	8.05 ± 0.30	558	7.44 ± 0.30	0.52	1162	15.49 ± 0.44
	experim.	330	4.40 ± 0.38	322	4.29 ± 0.38	0.51	652	8.69 ± 0.58
PUPA	control	632	8.42 ± 0.43	604	8.05 ± 0.41	0.51	1236	16.48 ± 0.69
	experim.	6	0.08 ± 0.04	4	0.05 ± 0.05	0.50	10	0.13 ± 0.04
exp. III								
HUEVO	control	553	7.37 ± 0.28	554	7.38 ± 0.23	0.49	1107	14.76 ± 0.28
	experim.	382	5.09 ± 0.29	379	5.05 ± 0.31	0.50	762	10.16 ± 0.48
LARVA	control	553	7.37 ± 0.28	554	7.38 ± 0.23	0.49	1107	14.76 ± 0.28
	experim.	148	1.97 ± 0.31	153	2.04 ± 0.30	0.49	301	4.01 ± 0.56

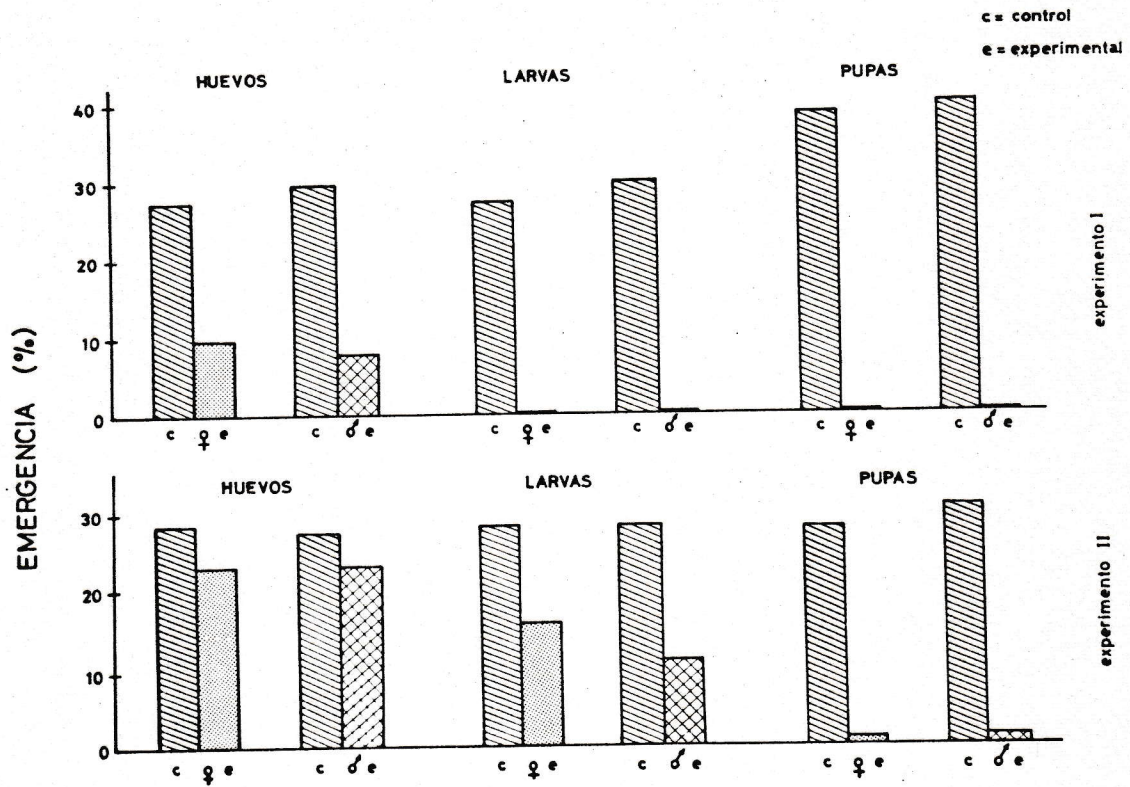


FIGURA N° 7. Porcentaje de emergencia de machos y hembras D.pavani en los grupos experimentales(-24°C) y en los controles a partir de huevos, larvas y pupas, en los experimentos I y II

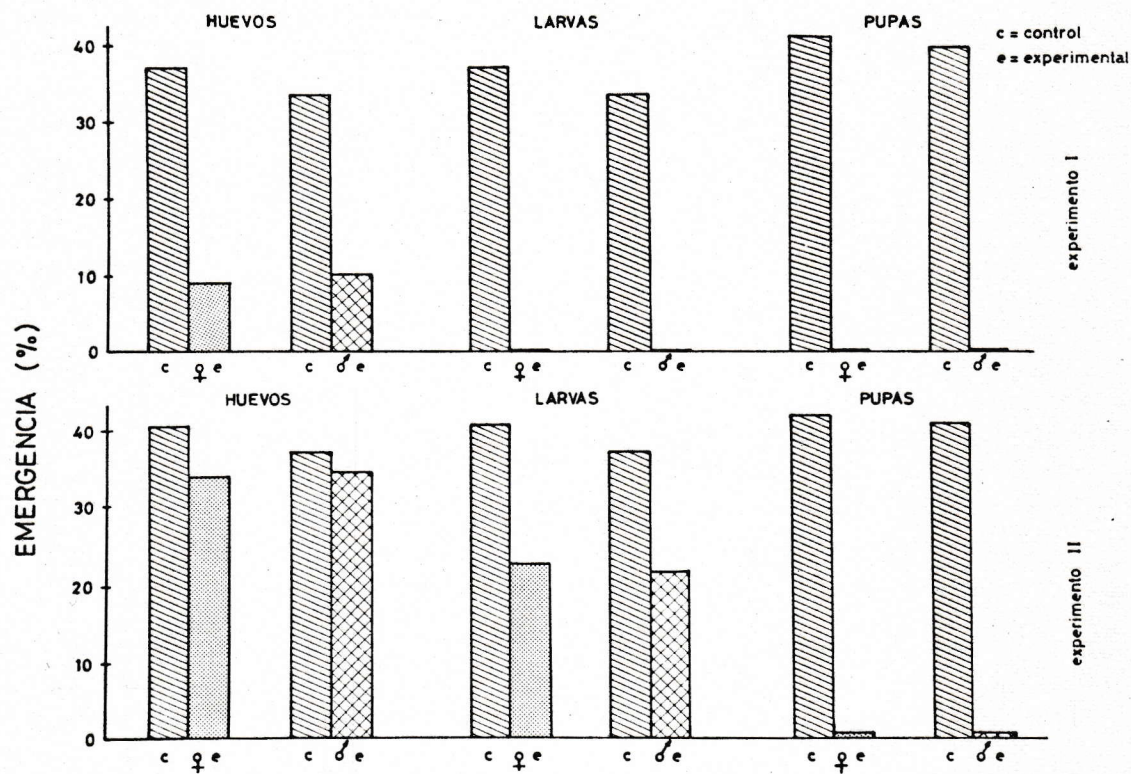


FIGURA N° 8. Porcentaje de emergencia de machos y hembras *D. gaucho*, en los grupos experimentales (-24°C) y en los controles a partir de huevos, larvas y pupas, en los experimentos I y II.

TABLA XI. Prueba de Student(t) para la significación estadística(P) de las diferencias en emergencia entre machos y hembras en D.pavani, en los estados de huevo, larva y pupa, tanto en los grupos controles como experimentales, en los experimentos I, II y III.

estado	grupo	HEMBRAS	MACHOS	t	P(98 G.L)
		\bar{X}	\bar{X}		
exp. I					
HUEVO	control	5.44	5.90	1.957	0.05
	experim.	1.90	1.52	1.545	0.10
LARVA	control	5.44	5.90	1.957	0.05
	experim.	---	---	---	---
PUPA	control	7.70	7.90	1.333	0.20
exp. II					
					P(148 G.L)
HUEVO	control	5.61	5.46	0.955	0.40
	experim.	4.58	4.68	0.459	0.40
LARVA	control	5.61	5.46	0.955	0.40
	experim.	3.19	2.71	0.403	0.40
PUPA	control	5.53	6.11	2.802	0.01
	experim.	0.16	0.32	0.769	0.50
exp. III					
					P(148 G.L)
HUEVO	control	6.53	5.98	3.873	<0.001
	experim.	3.09	2.86	1.168	0.20
LARVA	control	6.53	5.98	3.873	<0.001
	experim.	1.28	0.96	0.912	0.40

TABLA XII. Prueba de Student(t) para la significación estadística de las diferencias en emergencia entre machos y hembras en D - gaucha, en los estados de huevo, larva y pupa, tanto en los grupos controles como experimentales, en los experimentos I, II y III.

		HEMBRAS		MACHOS		
estado	grupo	\bar{X}	\bar{X}	t	P(98 G.L)	
exp. I	HUEVO	control	7.42	6.68	4.431	<0.001
		experim.	1.78	1.98	0.881	0.40
	LARVA	control	7.42	6.68	4.431	<0.001
		experim.	---	---	---	---
	PUPA	control	8.20	7.16	6.500	<0.001
		experim.	---	---	---	---
						P(148 G.L)
exp. II	HUEVO	control	8.05	7.44	3.742	<0.001
		experim.	6.78	6.88	0.805	0.40
	LARVA	control	8.05	7.44	3.742	<0.001
		experim.	4.40	4.29	0.437	0.40
	PUPA	control	8.42	8.05	1.623	0.10
		experim.	0.08	0.05	0.103	0.40
						P(148 G.L)
exp. III	HUEVO	control	7.37	7.38	0.072	0.40
		experim.	5.09	5.05	0.199	0.40
	LARVA	control	7.37	7.38	0.072	0.40
		experim	1.97	2.04	0.226	0.40

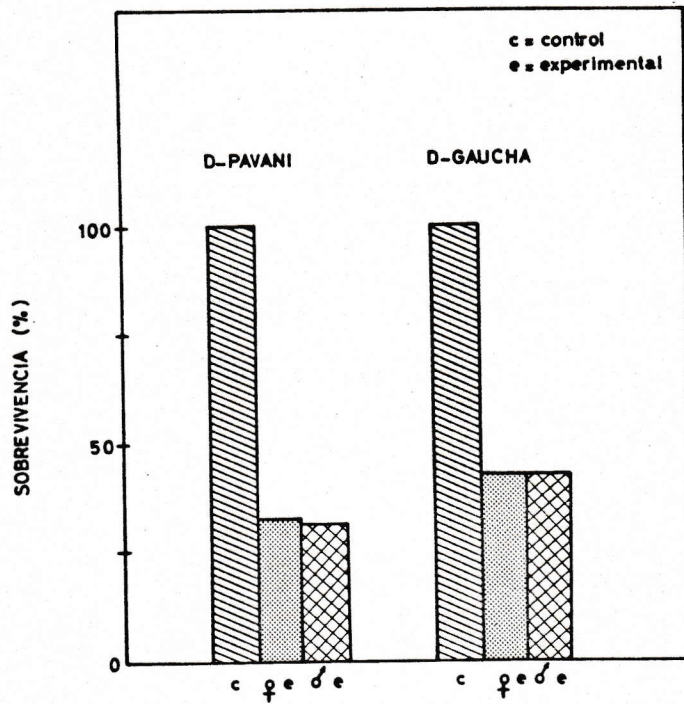


FIGURA N°9. Porcentaje de machos y hembras adultos, de D.pavani y de D.gauchia que sobrevivieron al shock térmico de -24°C . y sus correspondientes controles.

TABLA XIII . Diferencias entre el número observado(O) y esperado(E) de individuos homocigotos y heterocigotos, para los ordenamientos genéticos del brazo derecho y del brazo izquierdo, en el cromosoma IV de D.pavani.

	TOTAL	CROMOSOMA IV- R				CROMOSOMA IV - L			
		homocigotos	heterocigotos	homocigotos	heterocigotos	homocigotos	heterocigotos	homocigotos	heterocigotos
CONTROL	100	33	30	67	70	31	29	69	71
HUEVCS	100	27	30	73	70	27	29	73	71
TOTAL	200	60		140		58		142	

X^2 : 1.2

G.L: 1

P: 0.30

X^2 : 0.52

G.L: 1

P: 0.50

I N D I C E

	Páginas
I Introducción	7
II Material y métodos	13
III Resultados	19
IV Discusión	23
V Resumen	29
VI Referencias	31

