

## EFFECTO DEL DOBLE MUTANTE $e//e\ w//w$ Y DEL MEDIO DE CULTIVO EN LA PRODUCTIVIDAD DE *Drosophila melanogaster*

Effect of the double mutant  $e//e\ w//w$  and the culture medium on the productivity of *Drosophila melanogaster*

Francisco Mora, Fabiola Santos y Héctor Aníbal Campos  
Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia,  
A. A. 14490, Santafé de Bogotá.  
E-mail: hcampos@ciencias.ciencias.unal.edu.co

### RESUMEN

Se investigó el efecto de dos medios de cultivo, maíz y trigo, en la productividad del doble mutante ebony - white ( $e//e\ w//w$ ) de *Drosophila melanogaster*, como parte de un trabajo desarrollado con el fin de mejorar las condiciones de mantenimiento y manejo del Cepario de *Drosophila* del Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia. Se encontró que la productividad se ve afectada por el tipo de medio, obteniéndose una mayor productividad en el medio de maíz que en el de trigo; también se observó que la productividad depende de los tipos de cruces que se realicen y del mutante en cuestión. El cruce  $\text{♀}+//+ +//+ \times \text{♂}e//e\ w/$  es más productivo que su recíproco, siendo el efecto del alelo ebony el factor determinante. Por otra parte el alelo white cuando es portado por el macho no tiene efecto sobre la productividad. Finalmente se detectó un efecto negativo sobre las hembras  $+//e +//w$  en el medio de trigo.

**Palabras claves:** *Drosophila*, ecogenética, productividad.

### ABSTRACT

We investigated the effect of two culture media on the productivity of the double mutant ebony-white ( $e//e\ w//w$ ) of *Drosophila melanogaster*, aimed at improving the conditions for maintenance of *Drosophila*'s collection, Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia. The results indicate that the productivity is affected by the culture medium, being the maize culture medium more productive than the wheat one; it was also shown that the productivity depends both, on the crosses type that is realize and on the mutant. The  $\text{♀}+//+ +//+ \times \text{♂}e//e\ w/$  cross is more productive than its reciprocal cross, where the position of the ebony allele is the most important factor. With respect to the white allele, when carried by males it does not have effect on the productivity. In addition, we detected a negative effect of wheat culture medium on females  $+//e +//w$ .

**Key words:** *Drosophila*, ecogenetics, productivity

## INTRODUCCIÓN

Algunos estudios acerca de *Drosophila melanogaster* han tenido como objetivo encontrar medios de cultivo que permitan obtener altos niveles de productividad, así como un mantenimiento adecuado de las líneas de parentales y/o cepas puras (Offermann y Schmidt, 1935; Spencer, 1936; Kyoto Lab., 1936; Mevedev, 1936; Lewis, 1960). Los medios de banano y harina de maíz han sido los de más amplia utilización en laboratorios de todo el mundo debido a que han mostrado los mejores resultados con respecto a los factores anteriormente mencionados (Bridges, 1936; Parker, 1936; MacKnight y Herschel, 1937), reportándose sus efectos benéficos sobre todo cuando se adiciona en su preparación una pequeña cantidad de levadura como fuente de aminoácidos y nucleótidos (Wilson, 1951; Bos y Boerema, 1982; Barclay, 1982; Ushakumari y Ranganat, 1985). Sin embargo, para algunas cepas de *D. melanogaster* y aún para algunas especies del mismo género los medios de maíz y banano no permiten obtener buenos resultados, por lo cual algunos investigadores se han dado a la tarea de encontrar medios diferentes que resuelvan tales deficiencias. Es así como a los medios originales de maíz y banano se les ha agregado otros ingredientes tales como extracto de cactus para mejorar la viabilidad de los huevos de *Drosophila mulleri* y *D. aldrichi* (Richardson y Kambisellis, 1968) y de otras especies cactófilas que tienen restricciones en sus requerimientos nutricionales (Vacek et al., 1985), y sorgo para el mantenimiento de cepas (Gravett, 1936). Además, se han propuesto algunos medios basados en harina de trigo o harina de arroz, pero no existe aún ningún estudio comparativo de la productividad con respecto al medio de maíz.

Otro factor que influye en la productividad es el tipo de mutante empleado en el cruce. En el caso específico de la mutación *ebony* se generan efectos pleiotrópicos que afectan el comportamiento de cortejo y la capacidad de cópula (Sondergaard, 1983) y la oviposición (Jacobs, 1961; Moree, 1962). En otros casos se afecta la viabilidad del esperma así como de los diferentes estadios de la metamorfosis (Ashburner, 1989); de hecho, cepas silvestres de diverso origen pueden generar resultados diferentes en estudios de diversa índole (Singh, 1973; Gould y Clark, 1982). Sin embargo existen pocas o ninguna referencia acerca de la incidencia de mutantes dobles en la productividad.

El presente estudio está enmarcado dentro de una serie de trabajos realizados con el fin de mejorar las condiciones de cultivo del Cepario de *Drosophila* del Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia, y pretende evaluar la productividad de la doble mutación *ebony-white* (*e/e w/w*) cuando esta es portada ya sea por el macho o la hembra, como también el efecto relativo generado por el medio de trigo con respecto al medio de maíz.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para evaluar la productividad del doble mutante *ebony-white*, y el efecto del medio de cultivo se siguió la metodología mendeliana, y se montó un diseño factorial con

dos factores, cada uno con dos niveles: a. medio de cultivo: trigo y maíz; y b. tipo de cruce: ♀e//e w//w x ♂+//+ +/, y ♀+//+ +//+ x ♂e//e w/, obteniéndose un total de cuatro tratamientos. De cada tratamiento se realizaron 5 repeticiones, cada una conformada por cuatro parejas de individuos vírgenes cuya edad no fue superior a tres días. Las cepas fueron proporcionadas por el Cepario de *Drosophila* del Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia. Los individuos vírgenes fueron obtenidos haciendo revisiones cada ocho horas, tiempo en el cual no han adquirido su madurez sexual. Las parejas fueron dejadas doce días en los frascos y posteriormente retiradas, luego de lo cual se procedió a revisar diariamente los frascos durante los once primeros días posteriores a la eclosión del primer adulto de la F1. Estos individuos se sexaron y clasificaron según su fenotipo, y la productividad fue estimada como el número de individuos adultos que emergieron en cada réplica. Procediendo de idéntica forma se montó una filial 2 usando como parentales individuos vírgenes provenientes de la F1 obtenida. Todos los montajes fueron realizados a 26°C y 72% de humedad relativa. Los medios de cultivo, maíz y trigo, fueron preparados siguiendo la propuesta de Ashburner (1989), con algunas modificaciones: 1 L de agua, 64 g de harina de maíz o trigo, 25.6 g de levadura, 9.8 g de Agar, 53.0 g de azúcar y 10 ml de ácido propiónico.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los valores promedio de la productividad obtenida bajo cada tratamiento para la filial F1. Para esta generación se realizó un análisis de varianza cuyos resultados (Tabla 2), muestran la existencia de un efecto en la productividad debido al medio de cultivo ( $p = 0.0068$ ) y al tipo de cruce ( $p = 0.0044$ ), así como una interacción entre estos dos factores ( $p = 0.0113$ ). Con estos resultados se infiere que en el medio de maíz la productividad es mayor que en el medio de trigo, indicando esto que el primero proporciona mejores requerimientos nutricionales y que sus características físico-químicas lo hacen más apto para la oviposición y el desarrollo larval. Si bien las diferencias obtenidas podrían deberse a comportamientos diferentes de las curvas de productividad a través del tiempo (Figura 1), se observa que el área bajo la curva de productividad para el medio de maíz es muy superior al área en el caso del medio de trigo. Aún más, si este último medio mantuviera la productividad obtenida en el día número 31, durante varios días no podría llegar a igualar el área bajo la curva del medio de maíz en poco tiempo, corroborando los resultados obtenidos en el análisis de varianza. Se puede decir entonces que la productividad en el medio de maíz es en general superior a la productividad en el medio de trigo.

Medio	♀e//e w//w x ♂+//+ +/	♀+//+ +//+ x ♂e//e w/
Trigo	47,2 ± 46,4	52,6 ± 25,7
Maíz	57,0 ± 48,1	187,2 ± 66,2

Tabla 1. Valores medios de productividad en la F1, con sus desviaciones estándar.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Nivel de significancia
Medios	1	22984.20	22984.200	9.665	0.0068
Cruce	1	26064.20	26064.200	10.960	0.0044
Medio-Cruce	1	19468.80	19468.800	8.187	0.0113
Residual	16	38048.80	2378.05		

Tabla 2. Análisis de varianza de la F1.

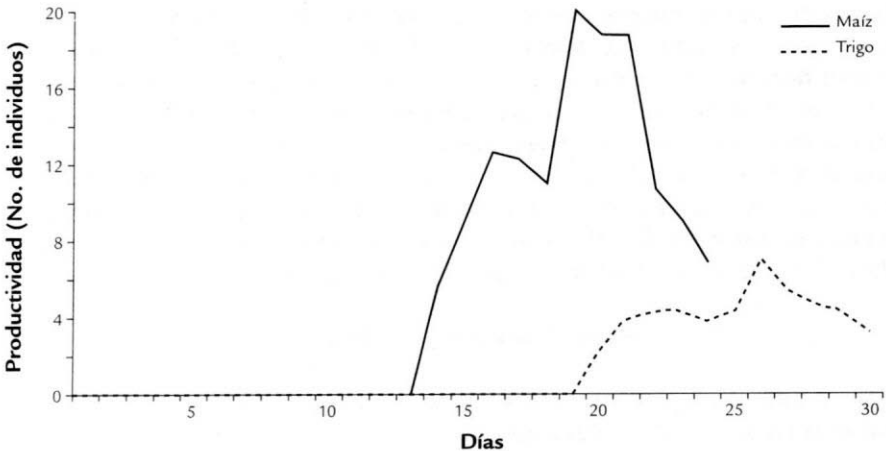


Figura 1. Productividad promedio diaria de la F2 vs. días desde la siembra de los parentales.

Se observa también que las curvas poseen la misma forma general, pero los picos de máxima productividad obtenidos en maíz son muy superiores a los de trigo. La forma general de la gráfica es una curva con un pico máximo de productividad dentro de los siete primeros días luego de lo cual empieza a descender, lo que coincide a grandes rasgos con las gráficas de oviposición presentadas por Ashburner (1989), sin embargo se observa en ambas curvas que no hay un crecimiento constante en los días anteriores al máximo, comportamiento al que no le encontramos explicación.

Por otra parte, durante la realización del experimento se encontró que la obtención de los individuos adultos era más lenta en el medio de trigo, como se observa en la misma figura, donde el tiempo que se requirió para obtener los primeros adultos fue de  $13.9 \pm 1.1$  días para el maíz y  $21.3 \pm 1.2$  días en trigo. Así, para un nivel de significancia de 5%, existe una diferencia mínima de 2.8 días entre los dos eventos, siendo la diferencia promedio entre estos de 7.4 días. Así mismo, la diferencia promedio entre puntos similares de las dos curvas aumenta si se tiene en cuenta el máximo de productividad, donde la diferencia promedio es de 8.4 días. De esto se puede aseverar que el medio de trigo tiene un efecto sobre la duración del ciclo de desarrollo de *D. melanogaster* haciéndolo más largo. Como una nota adicional se observó que las larvas que se desarrollaban en los medios de cultivo de maíz eran de mayor tamaño

respecto a las que se encontraban en los medios de trigo, lo cual coincidiría con lo reportado por Economos y Lintz (1984).

Sondergaard (1983) en su estudio acerca de la capacidad de cópula del mutante ebony encontró que un cruce de homocigotos ebony es superior a un cruce de homocigotos silvestres, y aún cuando la homocigosis se presentaba solamente en uno de los individuos de la pareja, la capacidad de cópula se veía aumentada: el  $\sigma^+e//e$  tiene una mayor capacidad de cópula en presencia de una  $\varphi+//+$  que la que tiene un  $\sigma+//+$  en presencia de una  $\varphi e//e$ . Sin embargo, Moree (1962) en su trabajo sobre fecundidad relativa concluye que un cruce de homocigotos silvestres es superior a uno de homocigotos ebony y aún más de un cruce donde sólo la hembra es homocigota ebony; a pesar de ello, encontró que un cruce  $\varphi+//+ \times \sigma^+e//e$  tiene una productividad significativamente mayor que cualquiera de los anteriormente mencionados. Observamos entonces que ebony presenta efectos pleiotrópicos que en algunos casos parece aumentar el potencial reproductivo y en otros parece disminuirlo; sin embargo, para los cruces realizados en este experimento la capacidad de cópula y la fertilidad son mayores en el caso de un cruce  $\varphi+//+ \times \sigma^+e//e$  que en su recíproco. La acción conjunta de estos dos factores puede entonces explicarnos el efecto en la productividad debido al cruce.

El efecto debido al alelo white no ha sido fácil de observar, pero como se verá más adelante la presencia del alelo white en el macho no parece tener un efecto significativo sobre la productividad. El cruce  $\varphi+//+ +//+ \times \sigma^+e//e w/$  en el medio maíz es significativamente más productivo que los otros cruces en trigo y maíz, los cuales en promedio son similares.

La Tabla 3 muestra la productividad promedio total en la F2. La primera observación que se debe hacer es que al momento de finalización del experimento no se obtuvieron resultados de la productividad para la F2 en el medio de cultivo con trigo del cruce  $\varphi+//e +//w \times \sigma+//e w/$ , debido a su tiempo de desarrollo más largo (como ya se refirió). Por esta razón, se hicieron dos análisis de varianza a una vía en los cuales se evaluaron los efectos del medio y del cruce por aparte (Tablas 4 y 5).

Medio	$\varphi+//e w//w \times \sigma+//e +/$	$\varphi+//e +//w \times \sigma+//e w/$
Trigo	63,2 $\pm$ 12,8	-----
Maíz	152,8 $\pm$ 39,4	222,5 $\pm$ 77,3

Tabla 3. Valores medios de productividad en la F2, con sus desviaciones estándar.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Nivel de significancia
Medios	1	15931.125	15931.125	18.590	0.0050
Residual	6	5141.750	856.958		

Tabla 4. Análisis de varianza para la comparación entre medios en la F2.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor de F	Nivel de significancia
Cruce	1	9730.125	9730.125	2.584	0.1591
Residual	6	22593.750	3765.625		

Tabla 5. Análisis de varianza para la comparación entre cruces en la F2.

La Tabla 4 registra un efecto significativo en la producción debido al tipo de medio ( $p = 0.0050$ ), confirmando los resultados obtenidos para la filial F1; por el contrario, la Tabla 5 muestra que no hay efecto debido al tipo de cruce. Teniendo en cuenta que la única diferencia de los dos cruces es la presencia o ausencia del alelo *white* en el macho, se podría plantear que la presencia de dicho alelo no tiene efecto cuando es portado por el mismo. Sin embargo no se puede descartar el efecto de la hembra portadora de dicho alelo en la productividad.

Finalmente se observa que en el medio de trigo existe un efecto negativo sobre las hembras *+//e +//w* en la F1 (Tabla 6), pues la proporción obtenida para los sexos (1 : 1.367) difiere significativamente de la proporción esperada en una ji-cuadrado ( $X^2$ ) para un nivel de significancia de  $p = 0.001$ . El genotipo parece no tener ningún efecto sobre la viabilidad de los individuos en este caso, pues como se observa en la tabla las proporciones esperadas en el medio maíz se cumplen, a diferencia del medio de trigo, lo que lleva a pensar que este último medio carece de algún requerimiento nutricional que es más importante para el desarrollo de las hembras que para los machos. Tal ausencia de dicho requerimiento nutricional ya había sido postulada cuando se reportó que en *D. melanogaster* el medio de trigo presenta una productividad menor que el medio de maíz. Por tanto la predilección por un medio de cultivo en particular, así como la nutrición en los estadios de larva, influenciada por las características fisicoquímicas del medio de cultivo, pueden causar variaciones en el tiempo de desarrollo y la productividad de los mutantes en estudio, así como en la tasa de crecimiento.

Medio de Cultivo	Hembras	Machos	Proporción obtenida	$X^2$
Maíz	579	642	1 : 1.108	3.250
Trigo	177	242	1 : 1.367	10.083

Tabla 6. Ji-cuadrado para la proporción de sexos en los medios de cultivo de la F1.

## CONCLUSIONES

- La productividad de los cruces  $\text{♀}e//e w//w \times \text{♂}+//+ +//+$ , y  $\text{♀}+//+ +//+ \times \text{♂}e//e w//w$ , es significativamente afectada por el tipo de medio de cultivo, siendo mayor en el medio de maíz que en el medio de trigo, lo que además está asociado a un tiempo de desarrollo más corto.
- En la primera generación filial se encontró una mayor productividad del cruce  $\text{♀}+//+ +//+ \times \text{♂}e//e w//w$ .
- Se detectó un efecto selectivo en contra de las hembras heterocigotas *+//e +//w* de la F1 en el medio de cultivo de trigo.

## AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.

## BIBLIOGRAFÍA

- ASHBURNER, M. *Drosophila*. A laboratory hand book. Cold Spring Harbor, Laboratory Press. USA, 1989.
- BARCLAY, H. 1982. Yeast quality and the fertility of *D. melanogaster*, *Drosoph. Inf. Serv.* 58: 24.
- BOS, M. y A. BOEREMA. 1982. *Drosophila* and yeast conditions, *Drosoph. Inf. Serv.* *Drosoph. Inf. Serv.* 58: 26 - 27.
- BRIDGES, C. B. 1936. Food formula. *Drosoph. Inf. Serv.* 6: 62.
- ECONOMOS, A. C. y F. A. LINTZ. 1984. Growth rate and life span in *D. II*. A biphasic relationship between growth rate and lifespan. *Mech. Ag. Dev.* 27: 143 - 151.
- GOULD, A. B. y A. M. CLARK. 1982. Stability of adult life span in laboratory stocks of *D. melanogaster*, *DIS* 58: 67 - 68.
- GRAVETT, H. L. 1936. Food formulae, *DIS* 6: 62.
- KYOTO LABORATORY. 1936. Food formulae, *DIS* 6: 63.
- JACOBS, M. E. 1961. Influence of ebony and + alleles on oxygen consumption and egg production in *D. melanogaster*, *DIS* 35: 89.
- LEWIS, E. B. 1960. A new standard food medium, *DIS* 34: 117 - 118.
- MACKNIGHT, R. H. y R. HERSCHEL. 1937. A culture medium without agar, *DIS* 7: 91.
- MASING, R. y A. I. ZUITIN. 1936. Food formulae, *DIS* 6: 63.
- MEVEDEV, N. N. 1936. Food formulae, *DIS* 6: 65.
- MOREE, R. 1962. Relative fecundity involving the *e* locus in *D. melanogaster*, *DIS* 36: 92.
- OFFERMANN, C. A. y I. K. SCHMIDT. 1935. Culture media for *Drosophila*, *DIS* 3: 52 - 54.
- PARKER, D. R. 1936. Food formula, *DIS* 6: 65.
- RICHARDSON, R. H. y M. P. KAMBYSELLIS. 1968. A cactus-supplemented banana food for cultures of Repleta group *Drosophila* *DIS* 43: 187.
- SINGH, B. N. 1973, Studies on the fecundity of *Drosophila ananassae*, *DIS* 50: 129.
- SONDERGAARD, L. 1983, Mating capacity of *e/e* and *e/+* males under non-competitive conditions, *DIS* 59:120.
- SPENCER, W. P. 1936. Food formula, *DIS* 6: 65.
- USHAKUMARI, A. y H. A. RANGANAT. 1985. Importance of sugar and yeast in the nutrition of *Drosophila*, *DIS* 61: 177.
- VACEK, D. C., P. D. EAST, J. S. F. BARKER y M. H. SOLIMAN. 1985. Feeding and oviposition preferences of *D. buzzatii* for microbial species isolated from its natural environment. *Biol. J. Amer. Soc.* 24: 175 - 187.
- WILSON, L. 1951. Deterioration of brewers' yeast as a factor in comparative growth studies on *Drosophila*, *DIS* 25: 138.