

**Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación
ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de
Gamboa**

Karina Esther Zurique Mendoza

3-733-1494

Panamá Field Semester Study

Host: Smithsonian Tropical Research Institute

**Centro de Investigación y Conservación de Anfibios de Gamboa, Proyecto de Rescate
y Conservación de Anfibios, STRI, Gamboa, Provincia de Colón.**

Número Telefónico: (507) 212-8000

fax: (507) 212-8148

Apartado postal: 0843-03092, Panamá, República de Panamá.

Correo electrónico: ibanezr@si.edu

10 de febrero, 2018 - 24 de abril, 2018.

Introducción

La *Drosophila melanogaster* es considerada una de las especies existentes más importantes para el estudio de la biología. Esto se debe principalmente a su facilidad de cultivo, corto tiempo de generación, grandes cantidades de descendencia, tamaño pequeño, bajo costo en su manejo y mantenimiento (Mora et al., 2000).

La especie *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (*D. melanogaster*), es un díptero con distribución cosmopolita. El género *Drosophila*, cuenta con 1.146 especies distribuidas alrededor del mundo y está dividido en nueve subgéneros, entre estos *Sophophora* con 300 especies (O'Grady y Kidwell 2002) y *Drosophila* con más de 700 especies (Brake y Bächli 2008).

1.1 Ciclo de vida de *D. melanogaster*

La *Drosophila* es un insecto holometábolo, presenta varios estadios dentro de su desarrollo ontogénico (Ramos, 1993). Esta mosca tiende a desarrollarse completamente, en un tiempo aproximado de nueve a diez días en condiciones ambientales óptimas (Sandhyarani, 2010); el mismo es en extremo prolífico y fácil de mantener (Fong *et al.*, 2008), esta tiene un ciclo vital muy corto.

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

1.2 Selectividad trófica de *Drosophila melanogaster*.

Este díptero tiene un nicho ecológico específico, pues se alimenta y cría principalmente de frutos en descomposición (Wilson, 1978; Sandhyarani, 2010). Esta tiene la tendencia a desarrollarse en líquidos ácidos como el vinagre; así, las larvas se maduran en los líquidos ácidos de los materiales en la fermentación; alimentándose cerca de la superficie y sobre todo en la levadura (Sandhyarani, 2010).

Entre los principales alimentos incluyen el plátano, duraznos, tomates y líquidos de la fermentación tales como cerveza, vino, sidra y vinagre; Así pues, que las hembras adultas ponen sus huevos cerca de la superficie de las frutas.

1.3 Factores que influyen en el desarrollo de las *Drosophila*.

Se ha evidenciado que factores ambientales como la temperatura, la humedad relativa y el tipo de medio de cultivo, ejercen una influencia en la productividad y desarrollo de *Drosophila melanogaster* (Alvarado, 2000). La influencia que ejerce el medio de cultivo se debe principalmente a sus características fisicoquímicas y microbiológicas, tales como el porcentaje de nutrientes, el pH y la interacción existente entre microorganismos como bacterias y levaduras (Balbín et al., 2000). Llamas, 2011 dice que las temperaturas superiores a 30 °C e inferiores a 10 °C pueden provocar la esterilización y muerte de las moscas, además de producir efectos sobre el fenotipo, variaciones en la penetración o expresividad de

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

determinados genes. Otro factor de gran influencia en la productividad es el genotipo de los individuos. Se han reportado diferencias marcadas, en términos tanto de productividad como de la viabilidad entre los diferentes mutantes utilizados en *Drosophila melanogaster* (Bonnier & Jonson, 1957; Díaz et al, 2008).

1.4 Desarrollo de *Drosophila melanogaster*.

Britton & Edgar en 1998, confirman que los aminoácidos esenciales son importantes en la dieta de *Drosophila*, de modo que su ausencia puede producir alteraciones fisiológicas en futuras generaciones (Díaz et al, 2008). De este mismo modo, la síntesis de proteínas y la degradación continua aseguran una población de forma adecuada, así como el correcto funcionamiento de proteínas críticas, involucradas en el mantenimiento de la homeostasis celular (Stadtman, 2004).

Es importante saber que la *Drosophila melanogaster* presenta simbiosis con bacterias que pueden ejercer mecanismos nutricionales que posibilitan suplementar una dieta pobre con algún componente o la digestión de recursos alimenticios como la celulosa (Gündüz & Douglas, 2009). Otro aspecto importante es que *Drosophila melanogaster* tiene la capacidad de alimentarse de sustancias en fermentación sin padecer el efecto de patógenos externos. Los nutrientes ingeridos tienen que aportar la suficiente energía para apoyar el crecimiento y desarrollo durante las etapas postembrionarias donde se exige al organismo participar activamente en la ingesta de éstos (Zinke *et al.*, 1999). La *Drosophila* se ve obligada a que reconozca cuándo hay escasez o exceso de nutrientes en el organismo y así traduce esta

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

información en alteraciones específicas en la alimentación y otras respuestas de comportamiento (Zinke *et al.*, 1999). También debe hacer frente a las demandas cambiantes de crecimiento durante las diferentes fases del ciclo de vida y las respuestas regulatorias especializadas que deben existir para maximizar la supervivencia en condiciones ambientales diferentes (Zinke *et al.*, 1999).

Esta investigación tuvo como objetivo general conocer el rendimiento de la especie *Drosophila melanogaster* con respecto a los tratamientos control, vitamina y calcio del Centro de investigación y Conservación de Anfibios de Gamboa (ARCC). Esto se realizó midiendo la productividad del peso en gramos (g) de *Drosophila melanogaster* con los tratamientos ya mencionado. La pregunta de investigación fue: cuál tratamiento obtiene más producción y/o mejor rendimiento en el desarrollo biológico de las especies *Drosophila melanogaster* en el (ARCC).

Este centro desea mejorar la producción de la especie *Drosophila melanogaster*. Esta especie son utilizadas para alimentar a las ranas que se encuentran en cautiverio por el ARCC; para reducir el impacto del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (quítrido), que afecta a los anfibios en su hábitat natural.

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

Materiales y Método

2.1 Tipo de estudio

Para este estudio se realizó un diseño experimental, de dos variables, la variable dependiente es el peso en gramos (g) de *D. melanogaster* y la variable independiente los tratamientos de control, vitaminas y calcio suministrada a la especie *Drosophila* estudiada.

Este estudio se llevó a cabo en 4 meses, iniciando el 12 de enero al 24 de abril del año en curso.

2.2 Área de estudio

Este estudio se llevará a cabo en el Centro de Investigación y Conservación de Anfibios (ARCC) ubicado en Gamboa, Provincia de Colón, República de Panamá (Figura. 1). El centro tiene la misión de salvaguardar las especies de anfibios, que se encuentra en los Bosque Húmedo Tropical de la República de Panamá, para así reducir el impacto del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* y mejor conocido como quítrido, para así un día los anfibios en cautiverio puedan ser reintroducidos en su hábitat natural.

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

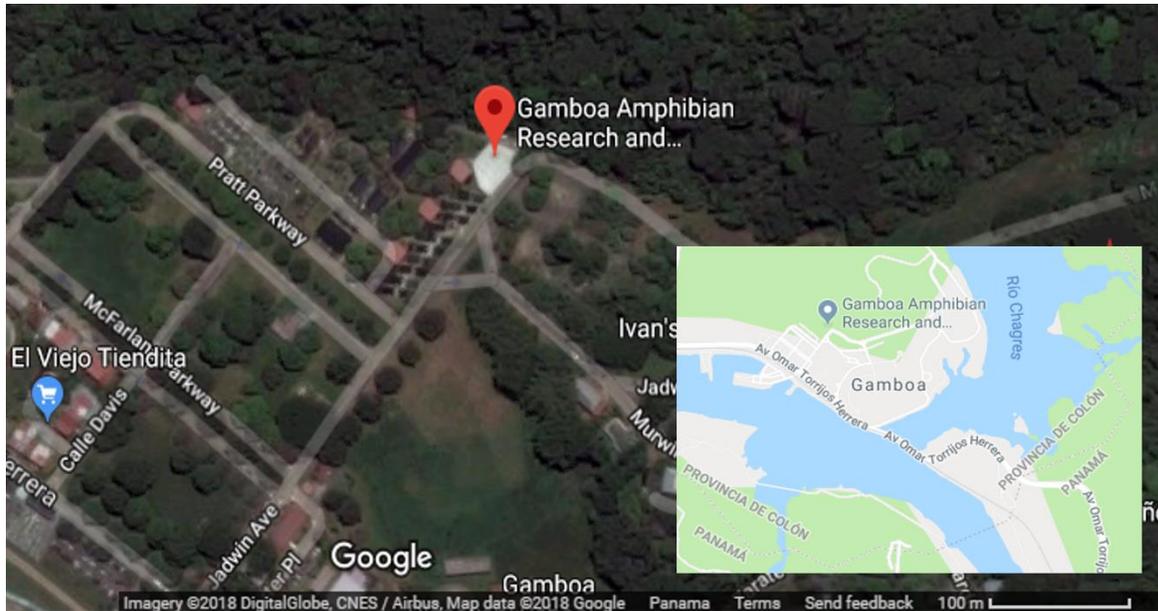


Figura 1. Sitio de estudio: Centro de Investigación y Conservación de Anfibios ubicado en Gamboa, Provincia de Colón, República de Panamá.

2.3 Descripción del área de estudio

El centro cuenta con 7 contenedores de los cuales 5 están acondicionados para albergar una población de 1300 ranas pertenecientes a 9 especies (Figura 2.), los otros dos contenedores están acondicionados para la cría del alimento de insectos (Figura 3.) entre ellos : grillos de la especie *Acheta doméstica*, cucarachas perteneciente al género *Blaberus* sp.y *Blatica*, una especie de Collembola y dos especies de moscas de la fruta, *D. melanogaster* y *D. hydei*, la primera fue el objeto de la investigación. Se mantienen a una temperatura entre 21- 23 °C y entre 55-60% de humedad relativa; se producen a la semana 190 medios para las moscas, 50 medios se les agrega la vitamina (Spirulina) y Calcio (Mazuri Betterbug) como suplemento para agregar valor nutricional a las moscas, a la hora de ser utilizadas como alimento para las ranas .

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.



Figura 2. Contenedores acondicionados para albergar la población Población de anfibios y la producción de alimentos para los anfibios del ARCC



Figura 3. Contenedor número 5 acondicionado para la cría de *D. melanogaster* y *D. hydei* del ARCC.

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

Metodología

La especie mosca *Drosophila melanogaster* pueden ser cultivadas fácilmente en envases de plástico, con volumen de 1 Litro y con 100 % de transparencia; el único requisito que debe tener el recipiente es que sea fácil de cerrar y hermético; el cual debe contener un trozo de tela de nylon o papel de cocina (Figura 4.).



Figura 4. Recipiente de 1 litro de volumen para los cultivos de *D. melanogaster* en el ARCC.

Se realizaron dos tratamientos y un control, estos son a base de Vitaminas (Spirulina contiene: Sodio, carbohidrato, proteína y vitamina A y Calcio (Mazuri Betterbug contiene: nutrientes, minerales y vitaminas). Se tomaron treinta envases plásticos para cada tratamiento, de los cuales diez se utilizaron para vitaminas, diez para calcio y diez para el control; en tres ensayos, teniendo un total de 90 réplicas para este estudio (Figura 5.).

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.



Figura 5. Réplica de los tratamientos suministrada a *D. melanogaster*.

2.4 Contenido de los tratamientos de *D. melanogaster*:

El contenido de los tratamientos suministrados a *D. melanogaster* es a base de puré de papa, azúcar Micro pulverizada, levadura de cerveza, vinagre spirulina y calcio Mazuri Betterbug.

Cada tratamiento contiene las mismas proporciones de mezcla seca y mezcla líquida, más el agregado de vitamina y calcio correspondiente a cada tratamiento (Tabla 1.).

<u>Contenido de los tratamientos de <i>D. Melanogaster</i>:</u>
Mezcla Natural para el control:
16 tazas de puré de papa
1 libra de azúcar micro pulverizada

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

2 tazas de levaduras de cerveza
Mezcla Líquida para control:
2 litros de vinagre al 4 %
2 litros de agua caliente
Mezcla con Vitaminas:
2 litros de vinagre al 4 %
2 litros de agua caliente
3 tazas de Spirulina
Mezcla con Calcio:
2 litros de vinagre al 4 %
2 litros de agua caliente
3 tazas de Mazuri Betterbug diet

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

2.5 Etiquetado del envase:

Se etiquetaron todos los envases plásticos de 1 litro, con el nombre *D. melanogaster*, la fecha del día de siembra y el tratamiento correspondiente; luego se roció el envase, con Vinagre esto es importante para reducir el riesgo de contaminación por hongos, antes de colocar la mezcla con la dieta.

Preparación de los tratamientos:

Para la preparación de los tratamientos de *D. melanogaster*, se mezcló $\frac{1}{3}$ de taza de mezcla seca y $\frac{2}{3}$ de taza de mezcla líquida para cada tratamiento respectivamente en cada envase de 1 litro, de cada réplica. Luego se colocó cuatro hojas de filtro de café, para aumentar la superficie de las larvas y una malla de tergal, con una tapa que tiene un orificio en el centro, para que las larvas tengan más oxigenación.

2.6 Siembra de *D. melanogaster* en los tratamientos:

Se tomó $\frac{1}{2}$ cucharada de moscas de *D. melanogaster* que contuvo aproximadamente 0.60 gramos de peso promedio (Figura 6.) el cual fue colocado en el envase réplica para cada tratamiento.

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.



Figura 6. Peso en gramos de *D. melanogaster* para la siembra de las réplicas de los tratamientos Control, vitamina y calcio.

2.7 Monitoreo de la siembra de la dieta:

En este estudio se realizaron tres ensayos, de 90 réplicas en total; en donde el ensayo número uno inicia el 2 de febrero, el ensayo número dos el día 16 de febrero y el número tres el 23 de febrero del año en curso. Los mismo fueron monitoreados tomando el peso (g) (Figura 7.) de la especie *D. melanogaster* al cumplir los 15 días de sembrado, siguiendo el patrón de la literatura que dice “las *D. melanogaster* emergen las primeras moscas al cumplir los 15 días de sembrado”, también se tomará en cuenta los pesos en (g) el día 22 y 29 de siembra; de igual manera se tomara referencia de las temperaturas y humedad relativa para tener un control de parámetros, pero estos no serán tomados en cuenta en la estadística.

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.



Figura 7. Monitoreo de *D. melanogaster* tomando el peso en (g) de las réplicas de los ensayos.

2.8 Método Estadístico:

Para cuantificar la producción de mosca *D. melanogaster*, Se hizo en una base de datos donde se registró el peso en gramos, en el programa de Microsoft **Excel 2016**.

Para sacar la producción de *D. melanogaster* se realizó un test estadístico de ANOVA y post hoc, con el test de Tukey del paquete estadístico Systat Software Inc. para Windows ® y una ANOVA de doble vía y de una vía.

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

Resultados

3. Producción de *D. melanogaster* según ANOVA de doble vía:

3.1 Producción de los ensayos entre los tratamientos de *D. melanogaster*.

Los ensayos de *D. melanogaster*, se sometieron tres tratamientos de 90 réplicas en tres ensayos; se realizó un análisis de ANOVA de doble vía, mostrando una interacción entre la producción de los tratamientos y los ensayos de 29.63; obteniendo una mayor productividad en el control con un 1.8 % y un 1.2 % para vitaminas, en comparación con un 0.9 % para el tratamiento con calcio (Figura 8.)

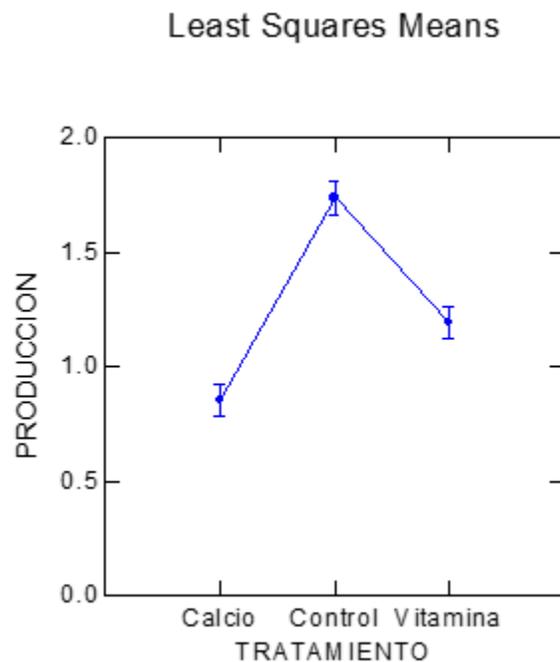


Figura 8. Producción de todas las réplicas de *D. melanogaster* suministradas de los tratamientos control, vitamina y calcio.

3.2 Producción de tratamientos en los diferentes ensayos de *D. melanogaster*.

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

La figura número 9, nos muestra que los tratamientos, alcanzan la mayor productividad en el ensayo 2 con un 2.9 % en comparación con el ensayo 1 que alcanza un 0.9 % y el ensayo 3 solo un 0.1 %.

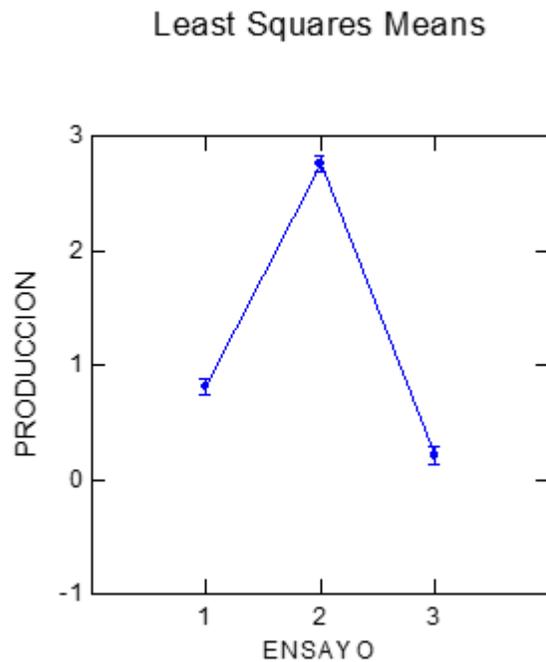


Figura 9. Producción del tratamiento proporcionado a *D. melanogaster*, en los ensayos realizados.

3.3 Producción del peso en (g) de los tratamientos del ensayo 1.

El ensayo 1 se obtuvieron muestras iguales, alcanzando un 1.0 % en los tratamientos con calcio y control y solo un 0.9% en el tratamiento de vitaminas (Figura 10.).

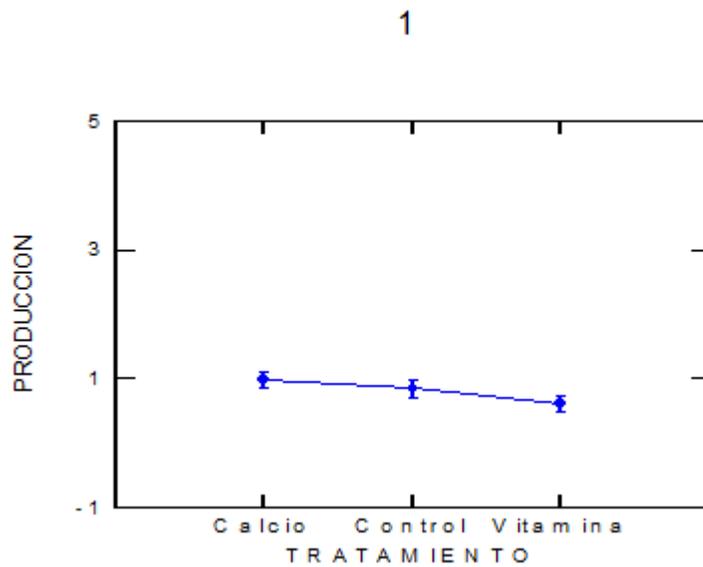


Figura 10. Productividad de los tratamientos control, vitamina y calcio del ensayo número 1.

3.4 Producción del peso en (g) de los tratamientos del ensayo 2.

La producción de los tratamientos del ensayo 2, muestra diferencias en la producción; siendo la producción más alta del resto de los otros ensayos; el tratamiento control alcanzó un 3.4 %, el de vitaminas un 2.9 y un 1.1 % para el calcio (Figura 11.)

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

2

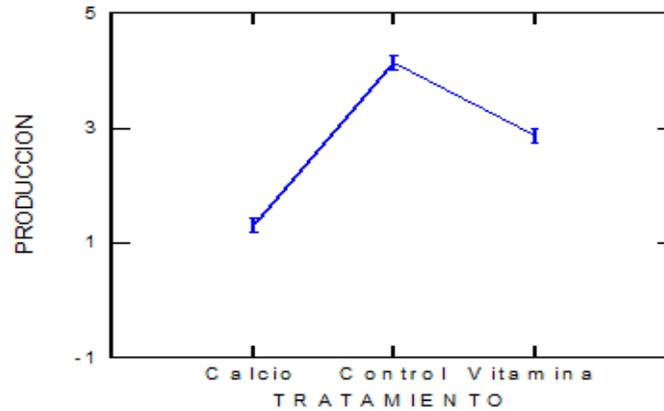


Figura 11. Producción de los tratamientos control, vitamina y calcio en el ensayo 3.

3.5 Producción del peso en (g) de los tratamientos del ensayo 3.

En comparación el ensayo 3 es parecido al ensayo 1, ya que no muestra diferencias en su producción; son iguales para tratamiento, con un 0.8 % para calcio y control y solo un 0.7 % en las vitaminas Figura 12.

3

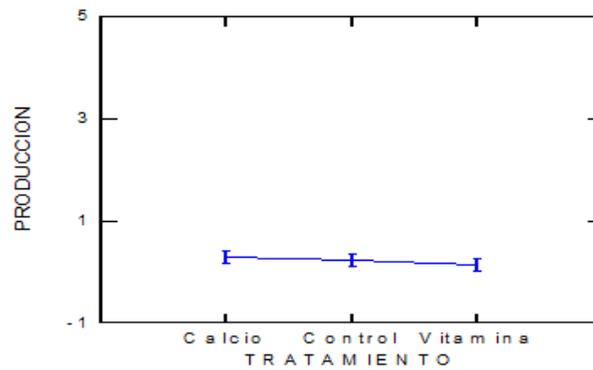


Figura 12. Producción del peso en (g) de control, vitamina y calcio del ensayo 3.

3.6 Comparación de las medidas del peso en (g) de *D. melanogaster*, según el análisis del ANOVA del Test de Tukey de acuerdo con los tratamientos.

Según el análisis del test de Tukey, *D. melanogaster*. con respecto al peso (g), entre los tratamientos control, vitamina y calcio, es estadísticamente significativo en el tratamiento con vitaminas con un 0.028 de producción en comparación con control y calcio (Tabla 2.).

Tukey HSD Multiple Comparisons.
Matrix of pairwise comparison probabilities:

	1	2	3
1	1.000		
2	0.028	1.000	
3	0.575	0.246	1.000

Tabla 2. Comparación de las medias del peso (g) de *D. melanogaster* según el análisis del Test de Tukey de acuerdo con los tratamientos.

3.7 Comparación de las medidas del peso (g) de *D. melanogaster* según el análisis del Test de Tukey de acuerdo con los ensayos.

Según el análisis del test de Tukey, *D. melanogaster*. con respecto a las réplicas de los ensayo, mostró diferencias estadísticamente significativa en el ensayo número dos y número tres, con una $p > 0.00$ y una $p > 0.012$ teniendo productividades en estos dos ensayos realizados con respecto al ensayo 1 (Tabla 2.).

Tukey HSD Multiple Comparisons.
Matrix of pairwise comparison probabilities:

	1	2	3
1	1.000		
2	0.000	1.000	
3	0.012	0.000	1.000

Tabla 3. Comparación de las medidas del peso (g) de *D. melanogaster* según el análisis del Test de Tukey de acuerdo con los ensayos.

3.8 Promedios del tratamiento control en los ensayos.

La figura 13, muestra que el control 2 (ensayo 2), obtuvo el mayor promedio de peso en (g) con respecto al ensayo 1 y ensayo 3. El promedio más alto del tratamiento control fue el de la réplica 5 del ensayo 2 con 5.07 g, seguido de la réplica 8 con 4.85 g y la réplica 4 con 4.44 g.

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

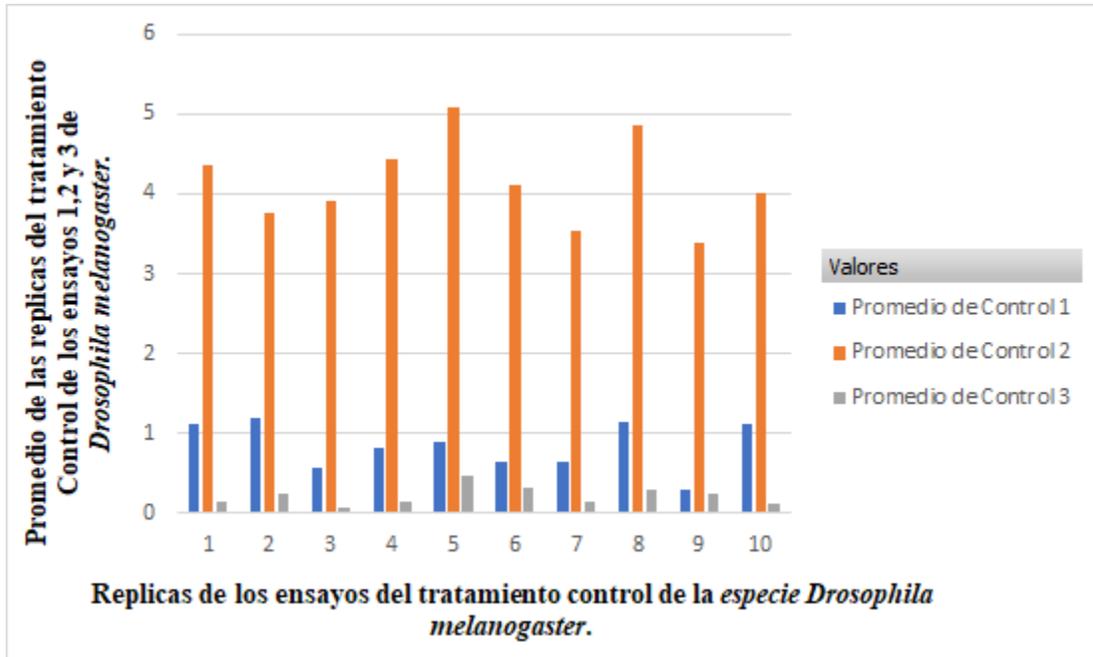


Figura 13. Promedio de las réplicas del tratamiento control aplicado a la *D. melanogaster* en los ensayos tres ensayos realizados.

3.9 Promedio del tratamiento vitamina en los ensayos.

Los promedios del tratamiento vitaminas obtienen los mayores promedios de pesos en (g), en el ensayo 2; obteniendo un 4.10 g en la réplica 6, seguido de la réplica 7 y 9 con un 3.61 y 3.19 g (Figura 14.).

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

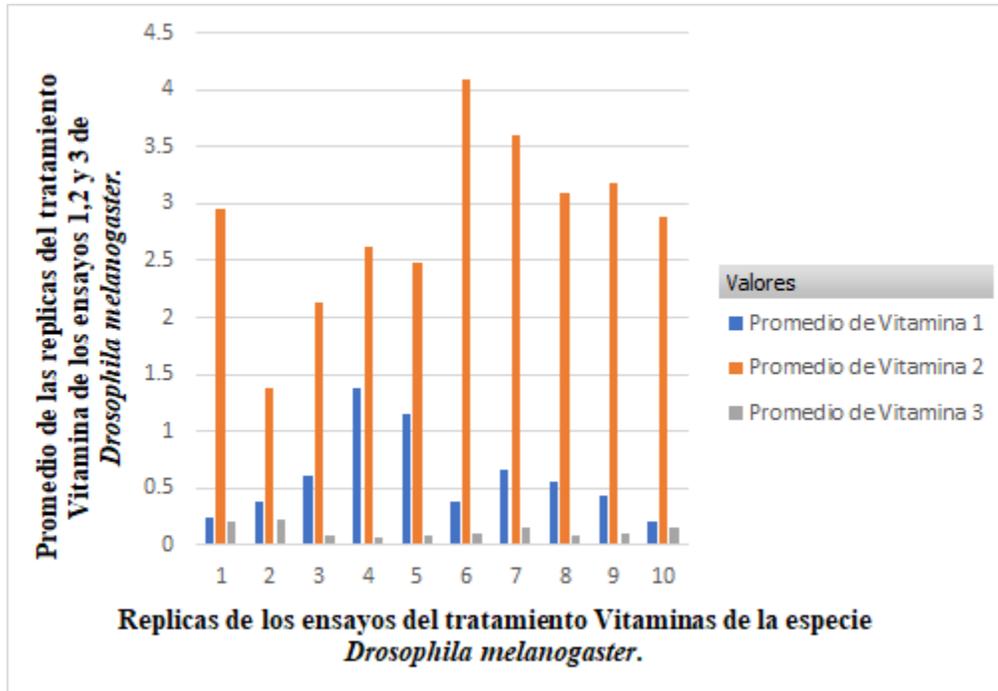


Figura 14: Promedio de las réplicas del tratamiento vitamina aplicado a la *D. melanogaster* en los ensayos tres ensayos realizados.

3.10 Promedio del tratamiento calcio en los ensayos.

La figura 15, muestra que el tratamiento calcio obtiene si mayor promedio de peso en (g), en el ensayo 1 en la réplica 10 con un 1.73 g, seguido de la réplica 1 y 7 del ensayo 2 con 1.72 g.

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

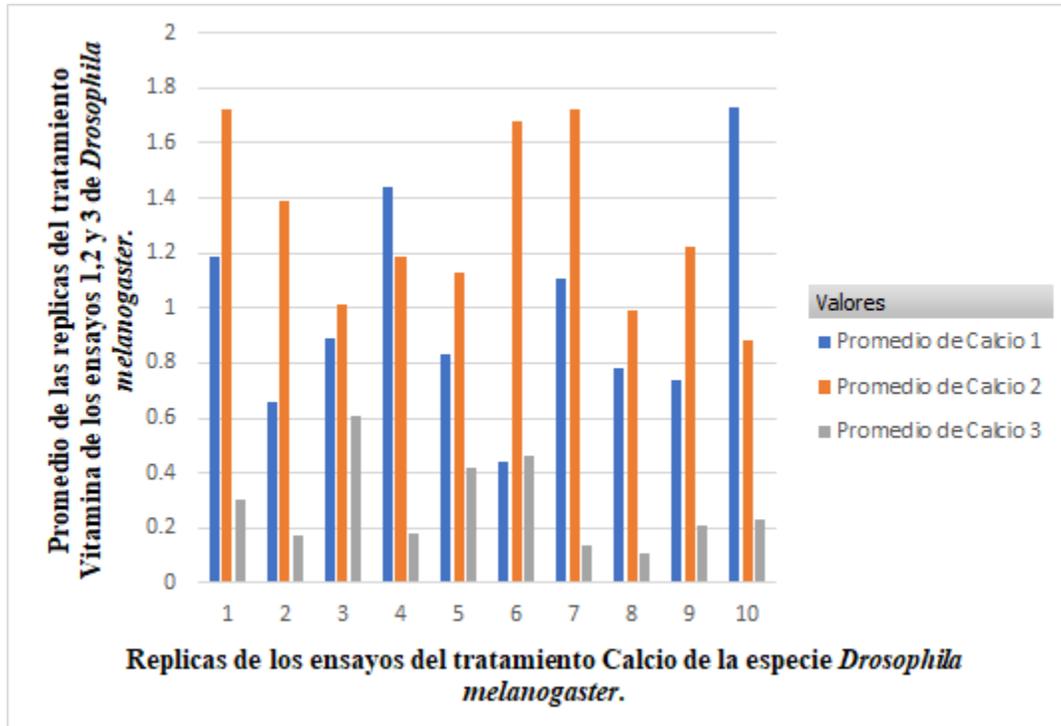


Figura 15: Promedio de las réplicas del tratamiento vitamina aplicado a la *D. melanogaster* en los ensayos tres ensayos realizados.

Discusión

La calidad del cultivo tiene grandes efectos sobre la supervivencia, crecimiento y el desarrollo de *D. melanogaster* como dice Sang, 1956; Sang & Robert, 1961.

El número de crías producidas en la segunda generación es mucho mayor en comparación con el número de crías producidas en la primera generación en la mayoría de los medios de cultivo (Tee, 2011). Esto sustenta la baja en el segundo pesaje y el hecho de que el segundo ensayo tenía la mejor producción, ya que se usó la primera generación del primer ensayo para la siembra del segundo ensayo. La adaptación al nuevo entorno podría retrasar la

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

reproducción de *Drosophila melanogaster* (Mitrovski y Hoffman, 2001); es por esto que el tercer ensayo tuvo menor producción que el ensayo dos.

Los resultados muestran que el tratamiento con control es el que tiene la mayor productividad, de en los tres ensayos con 52.11 g; esto afirma lo que dice Ramos en 1993, que las moscas adultas, se alimentan principalmente de ácido acético (vinagre) sin requerimiento de vitaminas y calcio. No obstante, la cantidad de este ácido no va disminuyendo con el tiempo a medida que las moscas lo consumen.

Sang 1962 señala que el contenido de proteína es capaz de aumentar la eficiencia en reproduciendo *D. melanogaster*; sin embargo, el contenido nutricional del tratamiento con vitaminas (Spirulina) contiene un 4 % de proteínas en comparación con el tratamiento con calcio (Mazuri Better Bug) que contiene un 30 % de proteínas; más sin embargo, la producción con vitaminas tuvo 35.74 g mayor que el calcio que obtuvo solo 25.57 g.

Díaz et al en 2008 dice que los cultivo que proporcionen mejores características tanto nutritivas, como físico-químicas producen un mayor número de larvas que logran el desarrollo del correspondiente adulto, permitiendo de esta manera explicar las diferencias encontradas los análisis de la varianza de la productividad de los medios de cultivo. Esto explica porque el tratamiento vitaminas tiene mayor productividad, esto se debe a que la varianza del tratamiento es de 1.68 en comparación con un 0.27 de calcio.

Conclusión

En busca de un mejoramiento de la calidad de la producción de la especie *D. melanogaster* para alimentación de las especies de anfibios que se encuentran, en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa; se realizó este estudio. Los tratamientos suministrados a este díptero, como ya se mencionados antes, es el control, que contiene la mezcla natural; la vitamina que es a base de spirulina que contiene Sodio, carbohidrato, proteína y vitamina A y el calcio que es a base de Mazuri® Better Bug® conteniendo nutrientes, minerales y vitaminas.

De los tres tratamientos realizados el que obtiene mayor producción es el control, este es el que hace a la especie de *D. melanogaster* más productiva, bajo ciertas condiciones según los datos recogido en esta investigación.

De los tres ensayos realizados en esta investigación el ensayo número dos es el que obtiene su mejor producción y en la *D. melanogaster*. Esto puede deberse a que esta especie, tienden a ser selectividad, en la forma de cómo se maneja el proceso de la preparación de los medios. Por eso se cree que el ensayo número uno, no obtuvo los niveles más altos de productivas con respecto al ensayo número 2.

En el ensayo número uno el tratamiento que tiene más producción del peso en (g) es el tratamiento calcio con un 1.73 g. El ensayo número dos el tratamiento que obtiene su mayor

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

productividad es el control con un 5.07 g. El ensayo número tres el tratamiento que obtiene su mayor productividad es el calcio con un 0.61 g.

Bibliografía:

1. Alvarado MC. Estimación de los componentes genéticos y ambientales de los tiempos de desarrollo huevo-pupa y pupa-adulto de algunos mutantes del cromosoma II de *Drosophila melanogaster* [trabajo de grado]. Santiago de Cali: Departamento de Biología, Facultad de ciencias, Universidad del Valle; 2000.
2. Balbín, A., Rojas, Y., Chica, C., & Campos, A. (2000). Efecto de la temperatura y del medio de cultivo de dos generaciones hijas de un cruce dihíbrido en *Drosophila melanogaster*. *Acta biol Colomb*, 1(5), 47-57.
3. Bonnier G, Jonsson U. Rate of Development of Viability Mutants in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*. 1957;3(11):271-279.
4. Brake, I., & Bächli, G. (2008). World catalogue of insects. Volume 9. Drosophilidae (Diptera). Stenstrup, Apollo Books. 412p.
5. Britton, J. S., & Edgar, B. A. (1998). Environmental control of the cell cycle in *Drosophila*: nutrition activates mitotic and endoreplicative cells by distinct mechanisms. *Development*, 125(11), 2149-2158.

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

6. Díaz-González, Fernando., Pizarro-Loaiza, Mayra., Castrillón, R., Molina-Henao, y. Herson., Solarte-García, d. I. E. G. O., Bravo-Guerrero, Daniela., ... & Cárdenas-Henao, h. Eiber. (2008). Evaluation of Two Culture Media and Heritability of Productivity and Development Time for Three Mutants of *Drosophila melanogaster* (Drosophilidae). *Acta Biológica Colombiana*, 13(1), 161-174.
7. Fong, C., Diaz, F., Osorio, J., Castaño, L., González, F., Jurado, L., ... & Cardenas, H. (2008). Efecto de densidad poblacional de huevos sobre viabilidad y tiempo de desarrollo de *Drosophila melanogaster* (drosophilidae). *Acta Biológica Colombiana*, 13(2), 123.
8. Gündüz, E. A., & Douglas, A. E. (2009). Symbiotic bacteria enable insect to use a nutritionally inadequate diet. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 276(1658), 987-991g.
9. Melián Lamas, R. (2011). Selectividad trófica en *Drosophila melanogaster*.
10. Mora F, Santos F, Campos H. Efecto del doble mutante e//ew//w yel medio del cultivo en la productividad de *Drosophila melanogaster*. *Acta biol Colomb*. 2000;1(5):39-46.

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

11. Mitrovski, P., & Hoffmann, A. A. (2001). Postponed reproduction as an adaptation to winter conditions in *Drosophila melanogaster*: evidence for clinal variation under semi-natural conditions. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 268(1481), 2163-2168.
12. O'grady, P. M., & Kidwell, M. G. (2002). Phylogeny of the subgenus *Sophophora* (Diptera: Drosophilidae) based on combined analysis of nuclear and mitochondrial sequences. *Molecular phylogenetics and evolution*, 22(3), 442-453.
13. Ramos, P. (1993). Manual de genética para *Drosophila melanogaster*.
14. Sandhyarani, N. (2010). *Drosophila melanogaster* Life Cycle. Retrieved January 25, 2011, from <http://www.buzzle.com/articles/drosophila-melanogaster-life-cycle.html>.
15. Sang, J. H. (1956). The quantitative nutritional requirements of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Experimental Biology*, 33(1), 45-72.
16. Sang, J. H., & King, R. C. (1961). Nutritional requirements of axenically cultured *Drosophila melanogaster* adults. *Journal of Experimental Biology*, 38(4), 793-809.
17. Sang, J. H. (1962). Relationships between protein supplies and B-vitamin requirements, in axenically cultured *Drosophila*. *Journal of Nutrition*, 77, 355-368.

Karina Zurique, 2018: Producción de la especie *Drosophila melanogaster* para un programa de conservación ex situ de anfibios en el Centro de Investigación y Conservación de anfibios de Gamboa.

18. Stadtman, E. R. (2004). Role of oxidant species in aging. *Current medicinal chemistry*, 11(9), 1105-1112.
19. Tee, S. Y. (2011). *Optimization of fruity fly (*Drosophila melanogaster*) culture media for higher yield of offspring* (Doctoral dissertation, UTAR).
20. Wilson, E. O. (1978). *On Human Nature*. Harvard University Press.
21. Zinke, I., Kirchner, C., Chao, L. C., Tetzlaff, M. T., & Pankratz, M. J. (1999). Suppression of food intake and growth by amino acids in *Drosophila*: the role of *pumpless*, a fat body expressed gene with homology to vertebrate glycine cleavage system. *Development*, 126(23), 5275-5284.