

## ESTUDIO DE UNA MALFORMACION CONGENITA EN *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Ma. Luisa Judith Bravo A. (1)  
Nubiola Pineda G. (1)

### RESUMEN

La mutación "malformación congénita tumoral" (*mc-tu*) fue obtenida de una sola hembra en un cultivo isogénico derivado de la cepa Oregon-R. Se caracteriza por severas malformaciones congénitas en la parte dorsal del tórax con expresividad variable y penetrancia de 0.580/o. La anomalía no afecta la capacidad reproductiva de las moscas. El control genético de la mutación *mc-tu* es difícil de analizar debido a la baja penetrancia; sin embargo, cuando se introduce un desorden en el genoma, la malformación sólo reaparece después de seis generaciones, con penetrancia del 0.200/o, hecho que soportaría la hipótesis de un control poligénico.

### INTRODUCCION

A pesar del inmenso volumen de estudios genéticos realizados en *Drosophila melanogaster* (Herskowitz, 1980, 1981, 1982 y 1983) las anomalías de naturaleza poligénica o multifactorial han recibido poca atención. Las características poligénicas mejor conocidas son las cuantitativas relacionadas con las dimensiones del cuerpo o de sus partes, como el tamaño del tórax, el número de pelos esternopleurales (Crow, 1965); Gooskow, 1971; Strickberger, 1962 y 1976), la mutación Kobe que afecta el tamaño de los ojos (Strickberger, 1962) y los tumores melanocíticos (Gardner, 1970; Sparrow, 1975 y 1977). Aunque en el hombre y en los mamíferos en general, se conoce que la mayoría de las malformaciones congénitas son poligénicas y/o multifactoriales (Gooskow, 1971; Hu y colaboradores, 1982) estas han sido poco estudiadas en *Drosophila*.

Los tumores melanocíticos o pseudotumores constituyen un ejemplo de este tipo de características (Barigozzi, 1968; Belt y Burnet, 1972; Sparrow, 1977). La malformación tumoral en este caso, parece ser consecuencia de una falla en el proceso de diferenciación de estas células (Burdette y Cover, 1970; Sparrow, 1974, 1975 y 1977) y consiste en la agregación de los hemocitos en nódulos parecidos a los tumores, los cuales son posteriormente melanizados y persisten a través de la pupación y del estado adulto (Di Cavolina, 1983 y Sparrow, 1975 y 1977).

Aunque se ha postulado que estos "seudotumores" se forman en respuesta a cambios neoplásicos en los melanocitos, no se ha logrado encontrar evidencias de división celular in-

controlada (Belt y Burnet, 1972; Di Cavolina, 1983; Sparrow, 1977).

El objetivo de esta investigación es analizar una malformación congénita de apariencia pseudo tumoral (*mc-tu*) surgida en forma espontánea.

### MATERIALES Y METODOS

La mutación *mc-tu* se obtuvo en 1973 de una hembra fecundada en un cultivo isogénico derivado de la cepa Oregon-R (Strickberger, 1962) de nuestro laboratorio de *Drosophila melanogaster*. Se caracteriza por presentar severas malformaciones en la parte dorsal del tórax, determinada por la presencia de gibas y depresiones en las que en algunos casos se depositan masas oscuras. La malformación puede afectar el centro del tórax o la parte lateral y el ala puede desaparecer o quedar reducida a un filamento oscuro como se puede apreciar en la figura 1.

Para investigar diferentes aspectos del problema, se hicieron las siguientes pruebas:

- 1o. La forma de herencia se estudió mediante un simple cruce monohíbrido (Strickberger, 1976) realizado entre hembras silvestres Oregon-R (cepa distinta de la portadora de la mutación *mc-tu*) y machos mutantes, contabilizando las proporciones fenotípicas en la F<sub>2</sub>.
- 2o. El ligamiento al sexo se estudió aplicando la prueba que utiliza hembras con cromosomas X unidos ( $\overline{XX}$ ) (Bravo, 1979).

(1) Profesoras, Depto. de Biología, Univ. de Antioquia, Medellín, Colombia.

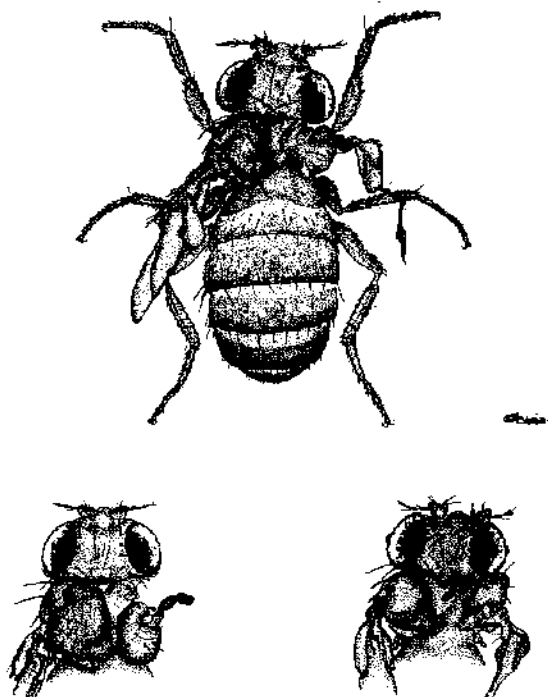


Fig. 1 Malformación congénita (mc-tu) en *Drosophila melanogaster*.

- 3o. La penetrancia se estudió en la F2 de cruces de hembras afectadas y machos afectados.
- 4o. La posible diferencia de penetrancia, en relación con el fenotipo de los padres, se estudió con los siguientes tipos de cruces:
  - a. Hembra afectada y macho afectado
  - b. Hembra afectada y macho fenotípicamente normal.
  - c. Hembra y macho fenotípicamente normales.

Todos los individuos utilizados en estos cruces eran hermanos, provenientes de padres fenotípicamente afectados. Las proporciones fenotípicas se contabilizaron en la F2.

Para mapear la mutación se hicieron las clásicas pruebas de ligamiento (Strickberger, 1962): Por estudios realizados en tumores melanocíticos, se conoce una serie de alelos del locus tu-bw, el cual está localizado en el cromosoma 2 (Gardner, 1970; Sparrow, 1974). Para averiguar si la mutación mc-tu pertenece a esta serie, se intentó introducir las marcas vg(alas vestigiales 2-67,0) y bw(ojos color café 2-104) (Strickberger, 1976), mediante cruces de hembras vg-bw y machos mc-tu. De la F2 se seleccionaron las hembras y los machos vg-bw y a partir de éstos se llevó el cultivo hasta la F6. También se hizo esta misma prueba con dos cepas distintas cuyo cromosoma 3 está marcado en una de ellas con las mutaciones st (ojos color escarlata) y by (alas con burbujas de aire) y en la otra con las mutaciones k(ojos en forma de riñón) y e(cuerpo color negro).

La fertilidad se estudió por comparación de cultivos paralelos de Oregón-R y de mutantes mc-tu. Se contabilizó la F2 de estos cultivos y la significación estadística se evaluó por medio del  $X^2$  (Remington, 1970).

## RESULTADOS

De la segunda prueba, aplicada para averiguar si la mutación está ligada al sexo, se obtuvieron 3557 machos de fenotipo silvestre y 3775 hembras similares a la madre. La mutación mc-tu no se presentó en ninguno de los sexos así como tampoco en la F2 de la primera prueba a pesar de que se contabilizó una población de 3520 individuos.

En la F2 de la tercera prueba, aplicada para calcular la penetrancia, se recobraron 84 afectados, 39 machos y 45 hembras, en una población de 14.564 individuos, lo cual da una penetrancia de 0.58o/o. La diferencia entre machos y hembras afectados no es significativa, siendo  $X^2 = 0.95$ . En la cuarta prueba los resultados de los diferentes tipos de cruces se muestran en la tabla 1 y las diferencias entre las proporciones fenotípicas de afectados y no afectados en los hijos no son estadísticamente significativas.

Las pruebas que se aplicaron para mapear la mutación mc-tu fallaron y solamente se logró obtener en la F6 una hembra mc-tu y con las marcas vg-bw en una población de más de 10.000 individuos. A partir de esta hembra se obtuvo la cepa vg-bw mc-tu, pero con penetrancia de aproximadamente el 0.20o/o solamente.

Los resultados de las pruebas para estudiar la fertilidad de la mutación mc-tu se muestran en la tabla 2 y las diferencias en el número de la F1 del control y de la mutación no son estadísticamente significativas.

La anomalía que confiere la mutación mc-tu no afecta la conducta sexual en ninguno de los sexos antes o durante el apareamiento, incluyendo los casos de afección más severos, cuando ambos miembros de la pareja tienen una sola ala.

En cuanto a la variabilidad fenotípica, se examinaron bajo el esteromicroscopio 32 individuos afectados y en ningún caso la malformación se expresó de idéntica forma, o sea que el fenotipo es muy variable dentro de su patrón, como se puede apreciar en la figura 1.

## DISCUSION

El análisis genético de la mutación mc-tu es complejo debido a su baja penetrancia. Los resultados de las pruebas para estudiar si la mutación está ligada al cromosoma X y la forma de herencia, muestran que la segregación de los alelos

Tabla 1. Penetrancia del fenotipo mc-tu en los diferentes tipos de cruces.

Tipo de cruce	Número total de la F1	Número de mc-tu de la F1	o/o de mc-tu	$\chi^2$	P
♀ mc-tu ♂ mc-tu	1520	8	0.53	0.02	NS
♀ (mc-tu) x ♂ mc-tu	2243	14	0.62	0.20	NS
♀ (mc-tu) x ♂ (mc-tu)	1823	9	0.49	0.12	NS
Totales	5586	31	0.55		

NS: no significativo

mc-tu: presenta el fenotipo

(mc-tu): no presenta el fenotipo

P: nivel de significancia

Tabla 2. Resultados del estudio de la fertilidad de la mutación mc-tu.

Tipo del cruce	Número total de la F1	Número de ♀ de la F1	Número de ♂ de la F1	$\chi^2$	P
(♀ x ♂) Oregón	842	453	398	0.62	NS
(♀ x ♂) mc-tu	806	426	380		

Oregón: silvestre

P: nivel de significancia

NS: no significativo

no obedece a las leyes mendelianas simples porque con una penetrancia de 0.58o/o en la F2 de la primera prueba se encontrarían por lo menos cinco afectados en 1.130, que es el número de homocigóticos que se espera para una mutación autosómica recesiva (Strickberger, 1976).

Acerca de la naturaleza hereditaria de mc-tu, no hay duda. La frecuencia de 0.58o/o de afectados es demasiado elevada para pensar que la aparición de esta malformación congénita se debe a factores ambientales únicamente y se conoce que algunas mutaciones de tumor melanocítico en *Drosophila melanogaster* exhiben penetrancias menores de 1o/o (Bari-gozzi, 1968; Sparrow, 1977).

La mutación mc-tu, a pesar de que comparte algunas de las características de los tumores melanocíticos, (parece no pertenecer a esta serie Bryant y Sang, 1969; Di Cavolina, 1983; Sparrow, 1977). En primer lugar, el fenotipo es muy diferente: las gibas de mc-tu son severas malformaciones del

tórax como se observa en la figura 1, mientras que los tumores melanocíticos constituyen tejido extra y de determinado tipo de células y no presentan malformaciones (Bari-gozzi, 1968; Belt y Burnet, 1972; Sparrow, 1975 y 1977) y además estos tumores son intensamente pigmentados de negro (Di Cavolina, 1983; Sparrow, 1975 y 1977); en cambio en la mc-tu no se observa tejido extra y en las depresiones de la malformación se depositan pequeñas masas negras y no en todos los individuos afectados.

La característica que comparte mc-tu con los tumores melanocíticos es la penetrancia incompleta, que en esta última va desde el 99o/o hasta menos del 1o/o (Sparrow, 1977). En cuanto a la fertilidad, no se conoce que en algunos de los mutantes de tumor melanocítico se tenga disminuida esta facultad (Bourmias y Bownes, 1978; Sparrow, 1975 y 1977). A pesar de que la malformación de mc-tu es tan severa, los individuos afectados muestran un grado de fertilidad igual que el de los silvestres.

Por estudios de los tumores melanocíticos se ha propuesto que su control genético sería multifactorial (Belt y Burnet, 1972; Di Cavolina, 1983; Sparrow, 1974), herencia en la que se pueden distinguir genes mayores (generalmente recesivos) que son aquellos cuya presencia es indispensable para la aparición del tumor, y genes modificadores, que son aquellos que influyen sobre el gene mayor para determinar su penetrancia (Sparrow, 1975 y 1977). En el caso de la mutación mc-tu no tenemos indicios de que obedezca a esta forma de herencia. Lo que sí podríamos predecir es que esta característica está controlada poligénicamente debido al hecho de que cuando se introdujo un desorden en el genoma de la cepa por cruzamiento con otra, no aparece el fenotipo en la F2 ni en la F3 y sólo se presenta después

de seis generaciones y en cultivos isogénicos como en el caso en que introdujimos las marcas vg-bw.

En conclusión, mc-tu es una malformación congénita hereditaria que afecta severamente la parte dorsal del tórax, posiblemente de naturaleza poligénica con expresión variable y penetrancia del 0.580/o.

#### AGRADECIMIENTOS:

A la señorita Gloria Mora por la elaboración del dibujo.

A la Universidad de Antioquia por la financiación del proyecto "Análisis de nuevas mutantes en *Drosophila melanogaster*" del cual hace parte este trabajo.

#### LITERATURA CITADA

- Barigozzi, C. 1968. Genetic control of melanotic tumours in *Drosophila*, Nat. Conc. Inst. Monogr. 31: 277-290.
- Belt, A. L. y Burnet. (1972). Experimental modification of the dominance relations of a melanotic tumour gene in *Drosophila melanogaster*. Genet. Res. 20: 115-135.
- Bournias-Vardlabasis, N. y Bowns. 1978. Genetic analysis of the tumours head mutation of *Drosophila melanogaster*. *Drosophila Information Service* 53: 190.
- Bravo, M.L. J. 1979. Estudio genético de la mutación r<sup>B</sup> en *Drosophila melanogaster*. *Actualidades Biol.* 8: 5-9.
- Bryant, P. J. y J. H. Sang. 1969. Physiological genetics of melanotic tumours in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 62: 521-536.
- Burdette, W. J. y J. E. Carver. 1970. Frequency of tumours in several laboratory stocks of *D. melanogaster*. *Drosophila Information Service* 45: 151.
- Crow, J. F. 1965. Gene interaction and the effect of the environment. In: *Genetics notes*, 46-51 pp., Burgess Publishing Company. Minneapolis. Fifth Ed.
- Di Cavolina, P. P-P. 1983. A new melanotic tumour mutant, tu-pb, of *Drosophila melanogaster* showing unusual phenotypical manifestation. *Drosophila Information Service* 59: 31-33.
- Gardner, E. J. 1970. Tumours head in *Drosophila*. *Advances Genet.* 15: 115-145.
- Gooskow, E. 1971. New mutants. *Drosophila Information Service* 46:41.
- Herskowitz, I. H. 1980. *Drosophila* bibliography. *Drosophila Information Service* 55: 218-262.
- Herskowitz, I. H. 1981. Bibliography on *Drosophila*. Part seven. *Drosophila Information Service* 56: 199-210.
- Herskowitz, I. H. 1982. Bibliography on *Drosophila*. Part eight. *Drosophila Information Service* 58: 227-270.
- Herskowitz, I. H. 1983. Bibliography on *Drosophila*. Part nine. *Drosophila Information Service* 59: 163-256.
- Hu, N., J.H. Li, H. Y. Chen, H. S. Chang, B. X. Wu, Z. K. Lu, D. Z. Wang, X. G. Liu. 1982. Genetics of cleft lip and cleft palate in China. *Am. J. Hum. Genetic.* 34: 999-1002.
- Hamilton, R. D. y M.A. Schork. 1970. *Statistics with applications to the biological and health sciences*, New York, Prentice-Hall, Inc. pp. 209.
- Sparrow, J. C. 1974. The genetics of some second chromosome melanotic tumour mutants of *Drosophila melanogaster*. *Genet. Res.* 23: 13-21.
- Sparrow, J. C. 1975. Physiological genetics of melanotic tumour in *Drosophila melanogaster*. VIII. The role of choline in the expression of the tumour gene tu-bw and of its suppressor su-tu. *Genet. Res.* 24: 215-227.

Sparrow, J. C. 1977. Melanotic "tumours". In: *Biology of Drosophila*, edited by Ashburner, M., Novitski, E. New York, Academic Press. 278-313.

Strickberger, M. W. 1962. Experiments In Genetics with *Drosophila*. New York, John Wileyand sons, Inc. 131 pp.

Strickberger, M. W. 1976. Gene mapping in diploids. In: *Genetics*, 2nd Ed. New York, Macmillan Publishing Co., Inc. 125-139, 291-320, 332-365 pp.

**A CONGENITAL MALFORMATION STUDY IN *DROSOPHILA MELANOGASTER***

**ABSTRACT**

*The mutation "congenital tumoral malformation" (mc-tu) was recovered from one female Drosophila in an isogenic culture derived from the strain Oregon-R. The mutation is characterized by severe congenital malformations on the dorsal thorax region with variable expresion and penetrance of 0.58o/o. The abnormality does not affect the reproductive capacity of the organism. The genetic control of the mutation mc-tu is difficult to analyze due to the low penetrance; however, when the genome is disturbed, the malformation only reappears after six generations, with a penetrance of 0.20 o/o; this would support the hypothesis of polygenic control.*