

ESTUDIO GENETICO DE LA MUTACION r^B EN DROSOPHILA MELANOGASTER

Por: M. Luisa J. Bravo A. (1)

RESUMEN

Se hizo análisis genético de una mutación (r^B) fenotípicamente rudimentaria en *Drosophila melanogaster*. Dicha mutación fue recobrada en el curso de una investigación con radiaciones gamma (3.000 r). Los resultados de las pruebas para identificar el cromosoma portador de r^B y para determinar el ligamento indican que está localizada en el locus 54,5 del cromosoma X. Además, la expresión fenotípica es irregular, dependiendo del estado del medio de cultivo y se observó que las hembras homocigóticas para r^B son estériles. En base a estas características podemos concluir que r^B es un alelo de la serie compleja de mutantes nutricionales del locus rudimentario.

INTRODUCCION

El estudio de los mutantes del locus rudimentario (r), localizado en el cromosoma X de la *Drosophila melanogaster*, tiene especial interés puesto que se ha demostrado que ocurre recombinación entre alelos r y los mapas de complementación son colineales con los mapas de finas estructuras (5,7, 14). Carlson (2) ha identificado siete unidades de recombinación. Además, investigaciones bioquímicas han reportado que este locus contiene la información estructural para cada una de las tres primeras enzimas que intervienen en la cadena biosintética de la pirimidina (5, 8, 12, 14). Siendo r un locus complejo permitiría investigar los mecanismos de regulación génica en *Drosophila*.

El objetivo del presente trabajo es analizar un nuevo mutante cuyo fenotipo es el tradicionalmente rudimentario que presenta una variedad de alteraciones en el proceso del desarrollo de las estructuras.

MATERIALES Y METODOS.

Mutación r^B : La nueva mutante, tentativamente identificada como rudimentaria, en base al fenotipo de las alas, fue recobrada en el curso de un experimento con radiaciones gamma (3.000 r) destinado a otra investigación.

Cepas utilizadas: Patróclina, en la cual los cromosomas X de la hembra están marcados con las mutaciones cuerpo amarillo (y) y quetas recortadas (f), y unidos por el centrómero lo cual permite conservar intacto el cromosoma X del macho transmitiéndose de padre a hijo tal como se muestra en la figura 1. Esta cepa fue utilizada para identificar al cromosoma X como portador de la mutación r^B y para investigar el efecto del medio de cultivo sobre la expresión fenotípica de esta mutante.

Muller-5: Esta cepa, cuyo cromosoma X es de la siguiente constitución: In(1) SC^{SIL} SC^B W^A B, que elimina la recombinación meiótica en las hembras heterocigóticas y permite identificar el cromosoma en observación por las marcas (10), se utilizó para investigar la transmisión de los subfenotipos de r^B . El ligamento en el cromosoma X se determinó por los métodos tradicionales (15) utilizando la cepa cuyo cromosoma X está marcado con las mutaciones yellow (y) crossveinless (cv), vermilion (v) y forked (f) que ocupan los loci 0,00; 13,70; 33,00 y 56,7 respectivamente y también las cepas portadoras de vermilion (v), forked (f) y Bar (B) separadamente.

El medio de cultivo utilizado en todos los cruces, es el standard (15) y como pruebas de significancia se utilizó X^2

(1) Depto. de Biología. Facultad de Ciencias y Humanidades, Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia.

RESULTADOS

Aunque la mutación r^B fue identificada en una prueba para detectar mutaciones recesivas letales y visibles ligadas al cromosoma X, la observación se confirmó mediante el análisis de la F_1 del cruce $\text{♀} \overline{XX} \times \text{♂} r^B$ en la cual todos los machos presentaron el fenotipo rudimentario con diferentes grados de expresividad y las hembras el fenotipo yellow (y) y forked (f) tal como se esperaba, si la mutación está localizada en el cromosoma X (figura 1).

Las hembras homocigóticas para la mutación r^B mostraron esterilidad completa en el medio mínimo.

Expresividad fenotípica: dada la variabilidad de la expresión fenotípica que presentaron las alas de los machos mutantes, se estableció una escala convencional (figura 2) 1. $r^{B(a)}$ típica rudimentaria. 2. $r^{B(b)}$ el ala más corta que el del silvestre y con escotaduras en los bordes, pero el sistema de las venas es normal. 3. $r^{B(c)}$ el tamaño y la forma del ala muy semejantes al silvestre, pero los pelos de los bordes están agrupados anormalmente como en el tipo $r^{B(a)}$ y $r^{B(b)}$. Las hembras homocigóticas son el tipo $r^{B(a)}$ solamente.

Se estudió la influencia del medio de cultivo en la expresión fenotípica de los mutantes r^B para lo cual se analizaron los hijos machos de los cruces individuales $\text{♀} \overline{XX} \times \text{♂} r^B$ que surgieron durante los intervalos de 9-12 y de 13-16 días después de haber iniciado el cruce tal como se muestra en las tablas I y II los machos del segundo grupo sólo presentaron el fenotipo $r^{B(a)}$, y en ambos grupos hay una significativa disminución de la viabilidad de los machos r^B con respecto a la de las hembras \overline{XX} ; $\chi^2(1) = 15.36$ ($P < 0.001$) para el primer grupo y $\chi^2(1) = 55.77$ ($P < 0.001$) para el segundo grupo. También el grado de viabilidad de los machos del primer grupo es significativamente mayor que la de los del segundo $\chi^2(1) = 4.67$ ($P < 0.001$).

La influencia del subfenotipo parental en el de la descendencia fue estudiado en los hijos de los retrocruces individuales $\text{♀} r^{B(a)}/M-5 \times \text{♂} r^{B(a)}$; $\text{♀} r^{B(b)}/M-5 \times \text{♂} r^{B(b)}$ y $\text{♀} r^{B(c)}/M-5 \times \text{♂} r^{B(c)}$ y en la F_1 de los cruces $\text{♀} \overline{XX} \times \text{♂} r^{B(a)}$; $\text{♀} \overline{XX} \times \text{♂} r^{B(b)}$ y $\text{♀} \overline{XX} \times \text{♂} r^{B(c)}$.

En las tablas III y IV se observa que los machos descendientes de los diferentes fenotipos son similares y las hembras homocigóticas son todas del subfenotipo $r^{B(a)}$. La viabilidad de los mutantes r^B tanto en hembras homocigóticas como en machos hemizigóticos es significativamente inferior $\chi^2(3) = 14.70$ ($P < 0.001$) al de las hembras heterocigóticas y machos M-5 (Tabla III).

Ligamientos: las tablas IV y V muestran los resultados de la primera prueba de ligamiento e indican que la mutación r^B está más próxima al locus forked (f) que a los demás. Para localizar en forma más precisa la mutación r^B se utilizaron las cepas con las marcas v, f, y B, cuyos resultados mostrados en la tabla VI indican que la mutación r^B se encuentra a 21,479 unidades de recombinación del locus vermillon (v), a 2,270 del forked (f) y a 2,456 del Bar (B). Para los cálculos de la frecuencia de recombinación se tomaron solamente los machos parentales y los recombinantes que mostraron no ser portadores de la mutación r^B ya que la viabilidad de éstos es muy inferior a la de las otras cepas, como se observa en la tabla VII.

DISCUSION.

La mutación r^B está ligada al cromosoma X de acuerdo a los resultados de la prueba realizada para conformar la presunción basada en las condiciones en que fue detectada y está de acuerdo con lo reportado para numerosos alelos funcionales (2,4,5 y 14).

Las pruebas de ligamiento muestran que r^B se sitúa en el locus 54, 5 ya que está a 21,48 unidades de recombinación a la izquierda de vermillon (v), a 2,27 de la derecha de forked (f) y a 2,45 a la derecha de Bar (B), lo que es coincidente con la localización del locus complejo rudimentario encontrado por numerosos investigadores (2,3,7,14). La esterilidad de las hembras homocigóticas para r^B también es otra característica de las mutaciones de este locus (1,8, 10,11,13).

El estado del medio de cultivo influye en la expresividad del fenotipo y en la viabilidad de los machos r^B lo cual indica que se trata de una mutante nutricional demostrada para numerosos alelos funcionales del locus rudimentario (1,5,11,12,14). A medida que se empobrece el medio de cultivo la expresividad fenotípica de los machos se hace homogénea, apareciendo solamente $r^{B(a)}$ y la viabilidad disminuye significativamente, pero aún así es suficiente para mantener la mutante en el cruce $\text{♀} \overline{XX} \times \text{♂} r^B$ en medio mínimo.

Los grados de expresividad fenotípica no son transmisibles como se puede inferir de los resultados de los retrocruces individuales de machos r^B de diferentes subfenotipos (Tabla VII), lo cual indicaría que la expresividad fenotípica depende solamente de las condiciones del medio de cultivo, lo que está de acuerdo con las experiencias reportadas para un gran número de mutantes del locus r, los cuales exciben bloqueos enzimáticos en la trayectoria biosintética de la pirimidina (4,5) y al ser suplementado el medio de cultivo con esta sustancia de origen exógeno desaparecen los efectos de la mutación (9).

En conclusión, la mutación r^B está situada en el locus 54,5 del cromosoma X y pertenece a la serie compleja de mutantes nutricionales del locus rudimentario (r).

TABLA I

CLASIFICACION FENOTIPICA DE LOS HIJOS (MACHOS) PROCEDENTES
DE LOS CRUCES INDIVIDUALES ♀ $\bar{X}\bar{X}$ x ♂ r^B DURANTE
EL INTERVALO DE 9-12 DIAS DESPUES DEL CRUCE

Cruce	♀ $\bar{X}\bar{X}$	♂ Tipo $r^{B(a)}$ o/o	♂ Tipo $r^{B(b)}$ o/o	♂ Tipo $r^{B(c)}$ o/o
1.	26	8	5	5
2.	28	9	9	6
3.	39	17	15	3
4.	31	13	11	5
5.	41	8	8	7
6.	36	15	2	0
7.	35	15	9	7
8.	40	23	3	2
9.	55	18	11	2
10.	17	14	6	1
Totales	348	140 55,56	74 29,36	38 15,08
Porcentajes	58 ♀♀		42 ♂♂	

TABLA II

CLASIFICACION FENOTIPICA DE LOS HIJOS (MACHOS) PROCEDENTES
DE LOS CRUCES INDIVIDUALES ♀ $\bar{X}\bar{X}$ x ♂ r^B DURANTE EL
INTERVALO DE 13-16 DIAS DESPUES DE INICIADO EL CRUCE.

Cruce	♀ $\bar{X}\bar{X}$	♂ $r^{B(a)}$	♂ $r^{B(b)}$	♂ $r^{B(c)}$
1	26	3	0	0
2	29	8	0	0
3	6	14	0	0
4	17	1	0	0
5	3	5	0	0
6	13	0	0	0
7	19	5	0	0
8	6	1	0	0
9	23	6	0	0
10	19	0	0	0
Totales	161 75,60o/o	52 52,40o/o	0 0,0o/o	0

SUBFENOTIPOS DE LOS HIJOS (MACHOS) PROCEDENTES DE LOS
RETROCUCES INDIVIDUALES

$\text{♀}_{rB(a)} / M-S \times \text{♂}_{rB(a)}$; $\text{♀}_{rB(b)} / M-S \times \text{♂}_{rB(b)}$ y $\text{♀}_{rB(c)} / M-S \times \text{♂}_{rB(c)}$

Número de cruces	♀ (+)	♀ rB	♂ M-S	♂ $rB(a)$	♂ $rB(b)$	♂ $rB(c)$
1.a	33	12	34	26	1	0
2.a	40	12	40	20	0	0
3.a	40	20	38	24	0	1
4.b	41	16	37	14	2	0
5.b	40	26	40	12	0	0
6.b	43	32	38	18	0	0
7.c	32	14	36	21	0	0
8.c	36	12	39	18	0	0
9.c	35	16	34	17	1	0
10.c	42	24	39	18	0	0
Totales	382	184	375	188	4	1

(+): Fenotipo normal o silvestre

rB : Fenotipo mutado.

a: $rB(a)$

b: $rB(b)$

c: $rB(c)$

TABLA IV

SUBFENOTIPOS DE LOS HIJOS (MACHOS) PROCEDENTES DE LOS
CRUCES INDIVIDUALES

$\text{♀}_{XX} \times \text{♂}_{rB(a)}$; $\text{♀}_{XX} \times \text{♂}_{rB(b)}$ y $\text{♀}_{XX} \times \text{♂}_{rB(c)}$.

Cruce	♀ XX	♂ $rB(a)$	♂ $rB(b)$	♂ $rB(c)$
1a.	25	0	0	0
2a.	28	10	1	2
3.a	30	20	4	1
4.a	30	13	8	2
5.b	36	18	0	0
6.b	24	8	1	0
7.b	40	30	2	1
8.c	28	11	0	1
9.c	32	14	1	1
10.c	31	11	2	4
Totales	304	135	19	12

a: Fenotipo $rB(a)$ del ♂ parental

b: Fenotipo $rB(b)$ del ♂ parental

c: Fenotipo $rB(c)$ del ♂ parental

TABLA V

HIJOS (MACHOS) DEL CRUCE $\text{y cv} \times \text{vf} + / + + + + r^B$
 EN LA PRIMERA PRUEBA DE LIGAMIENTO

Fenotipos	Número
$\text{y cv vf} +$ $+ + + + r^B$	100 30
$\text{y} + + + r^B$ $+ \text{cv vf} +$	5 17
$\text{y cv} + + r^B$ $+ + \text{vf} +$	2 18
$\text{y cv v} + r^B$ $+ + + f +$	6 32
$\text{y cv vf} r^B$ $+ + + + +$	0 1
$\text{y} + + f +$ $+ \text{cv v} + r^B$	1 0
$\text{y cv} + f +$ $+ + \text{v} + r^B$	4 0
$\text{y cv} + f r^B$ $+ + \text{c} + +$	0 2
Total	218

TABLA VI

PORCENTAJES DE RECOMBINACIONES DE LAS
 MARCAS y, cv, v, f CON r^B

Región	No. de recombinantes	o/o
$\text{y} \text{---} r^B$	83	38.06
$\text{cv} \text{---} r^B$	62	28.44
$\text{v} \text{---} r^B$	44	20.18
$\text{f} \text{---} r^B$	3	1.37

TABLA VII

FRECUENCIA DE RECOMBINACION DE LAS MARCAS VERMILLON (v),
FORKED (f) y BAR (B) CON LA MUTACION r^B .

Tipo de Cruce	Fenotipos	Número	Frecuencia recombinación (o/o)	Viabilidad del mutante r^B (o/o)
$\text{♀} + r^B / v + \times \text{♂} v +$	$\frac{v}{+} \frac{+}{r^B}$	2787	$\frac{762 \times 100}{3549} = 21,479$	24,62
	$\frac{+}{v} \frac{+}{r^B}$	929		
	$\frac{+}{v} \frac{+}{r^B}$	762 230		
$\text{♀} r^B +/+ f \times \text{♂} + f$	$\frac{+}{r^B} \frac{f}{+}$	3444	$\frac{82 \times 100}{3526} = 2,270$	22,16
	$\frac{r^B}{+} \frac{+}{f}$	978		
$\text{♀} r^B +/+ B \times \text{♂} + B$	$\frac{+}{r^B} \frac{+}{B}$	56	$\frac{56 \times 100}{2.283} = 2,456$	25,39
	$\frac{r^B}{+} \frac{B}{+}$	17		
	$\frac{+}{r^B} \frac{B}{+}$	2.227 760		

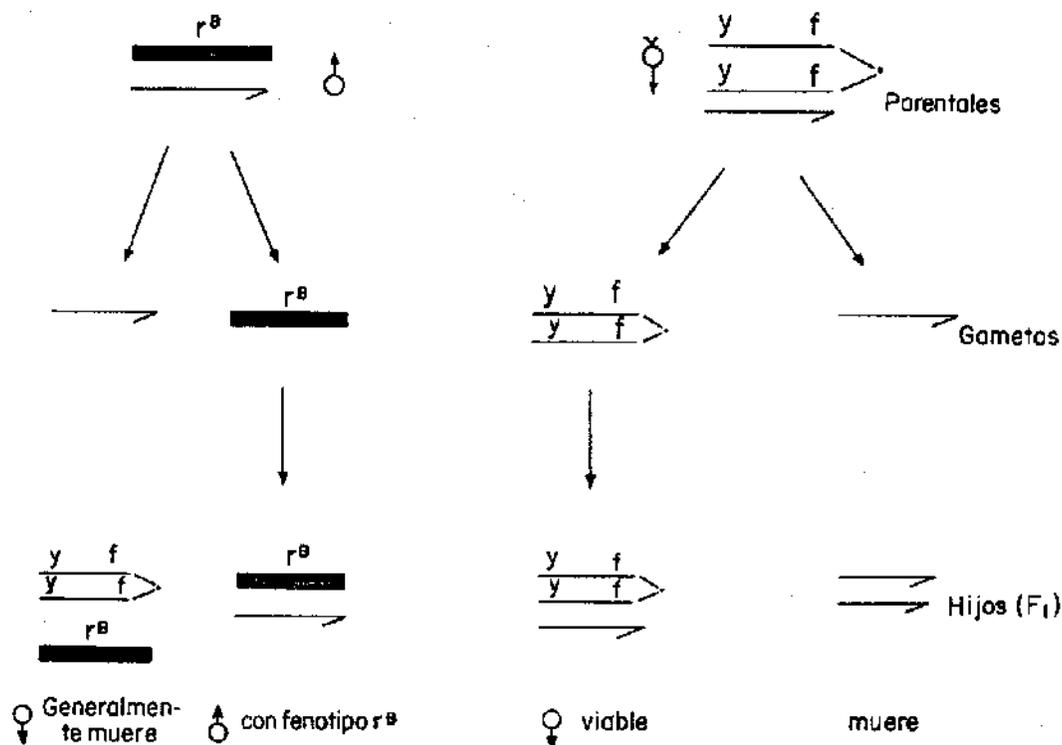


FIGURA 1. Cruce para detectar que el cromosoma X es el portador de la mutación r^B .

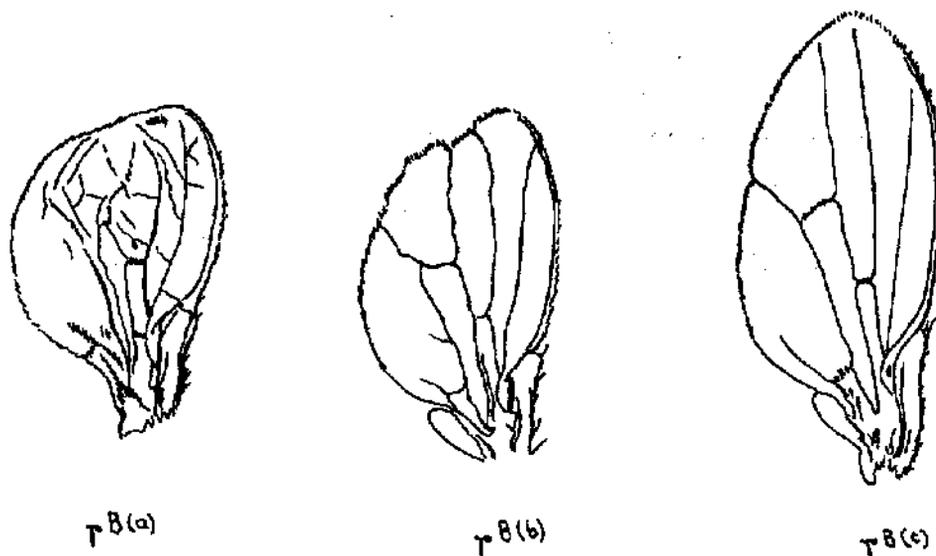


FIGURA 2. Subfenotipos de las alas de los machos mutantes (r^B).

BIBLIOGRAFIA

- Bahn, E. (1970) Restoration of fertility of the female sterile mutant rudimentary on pyrimidine enriched culture medium. *DIS* 45:99
- Carlson, P.S. (1971) A genetic analysis of the rudimentary locus of *Drosophila melanogaster*. *Genet. Res.* 17: 53-81.
- Fahmy, P., Fahny, M. (1959). Complementation among the sub-genic mutants of the locus of *Drasophila melanogaster*, *Nature*, 84: 1927-1929.
- Falk, D.R. (1976) Pyrimidine auxotrophy and the complementation map of the rudimentary locus. *Molec. gen. Genet.* 148: 1-8.
- Falk, D.R., McCaughin, G., Cogley, T. (1977) A genetic and biochemical analysis of the temperature sensitive, normal winged alleles of the rudimentary locus of *Drasophila melanogaster*. *Genetics* 86: 765-777.
- Fisher, R.A. (1973) *Statistical methods for research worker*, 4a. ed. New York, Hofner Publishing Company.
- Green, M.M. (1963) Interallelic complementation and recombination at the rudimentary wing locus in *Drosophila melanogaster*. *Genetica* 34: 242-253.
- Jarry, B., Falk, D. (1974). Functional diversity the rudimentary locus of *Drosophila melanogaster*. *Molec. gen. Genet.* 135: 113-122.
- Johnson, T.K., Judd, B.H. (1979) Analysis of the cut locus of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 92: 485-502.
- Lindsley, D.L., Grell, E.H. (1968) *Genetic variations of Drosophila melanogaster*. Carnegie Inst. Wash. Publ. No. 627.
- Norby, S. (1970) A specific nutritional requirement for pyrimidines in rudimentary mutants of *Drasophila melanogaster*. *Hereditas* 66: 205-214.
- Norby, S. (1973) The biochemical genetics of rudimentary mutants of *Drosophila melanogaster*. I Aspartate carbamoyl transferase levels in complementing and non - complementing strains. *Hereditas* 73: 11-16.
- Rohr, V. (1962). r^S Rudimentary Swiss Hadom. *DIS.* 36:39.
- Rawls, J.M., Fstrom, J.W. (1975) A complex genetic locus that controls the first three steps of pyrimidine biosynthesis in *Drasophila*. *Nature.* 255: 738-740.
- Strickberger, M.W. (1962) *Experiments in Genetics with Drosophila*. Ed. J. Wiley and Sons. Inc. New York.