



MX0500336

XVI Congreso Anual de la SNM y XXIII Reunión Anual de la SMSR
XVI SNM Annual Meeting and XXIII SMSR Annual Meeting
Oaxaca, Oaxaca, México, Julio 10-13, 2005 / Oaxaca, Oaxaca, México, July 10-13, 2005

Estructura genética de poblaciones de *Drosophila melanogaster* originarias de Laguna Verde, Veracruz

Víctor M. Salceda
Departamento de Biología,
Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares
Km 36.5 Carretera México-Toluca,
Salazar, Edo. de México.
vmss@nuclear.inin.mx

RESUMEN

La variabilidad genética oculta presente en poblaciones naturales de *Drosophila melanogaster*, ha sido ampliamente analizada, y es una herramienta que permite detectar diferencias entre las diferentes poblaciones de esta especie, tanto de índole natural como experimental. En esta ocasión la utilizamos para ver si existen diferencias en dos poblaciones vecinas dentro de la planta núcleo eléctrica de Laguna Verde, Ver., y así sugerir, de haber diferencias en el monto de las frecuencias relativas de genes letales, semiletals y normales, sean debidas a las emanaciones radioactivas producto del funcionamiento de los reactores de la planta. Se tomaron muestras de moscas en ambas localidades durante tres estaciones sucesivas y se transportaron al laboratorio del ININ donde se llevaron a cabo las pruebas para determinar la frecuencia de los diferentes tipos de genes. Esto se hizo mediante la técnica denominada Cy L / Pm que permite mediante una serie de cruza con una cepa marcadora obtener, en la tercera generación, en forma aislada los diferentes tipos de genes y así calcular sus frecuencias relativas. El estudio comprende el análisis de 299 cromosomas extraídos de las poblaciones, de los que 95 corresponden a la población control y 204 a la experimental. Como resultado del análisis encontramos que el 30.52 por ciento de los genes de la población testigo contienen genes detrimentales (suma de los genes letales más los semiletals) en tanto que en la población experimental este valor corresponde al 23.03 por ciento. De acuerdo con esta información no se encontró diferencia significativa entre las poblaciones estudiadas. Un análisis similar, pero ahora comparando las estaciones, (verano contra invierno), mostró diferencia significativa al 5% con respecto a la frecuencia de genes letales sólo en la población testigo. Estos resultados indican la ausencia de daño, sin embargo hay que considerar que esto puede deberse a que efectivamente no lo hay o bien que el protocolo de investigación no sea lo suficiente sensible para detectarlo y se requiere profundizar más en este tipo de estudios.

1. INTRODUCCIÓN

La variabilidad genética oculta, definida como carga genética o cúmulo de genes deletéreos, presente en poblaciones naturales es una de las características más ampliamente estudiadas en

genética y se tienen datos referentes a ella en numerosas especies tanto animales como vegetales. Poblaciones naturales de todas las especies de *Drosophila* hasta el momento analizadas a este respecto presentan una enorme cantidad de variabilidad oculta, consistente en mutaciones recesivas y aberraciones cromosómicas del tipo de las inversiones.

La variabilidad genética en poblaciones naturales de *Drosophila melanogaster*, ha sido ampliamente analizada sobresaliendo a nivel mundial los estudios de Ives [1], en poblaciones de EU.; Dubinin [2] en Rusia; Goldschmidt *et al.* [3] y Dawood [4] en las del Mediterráneo; Paik [5] en Corea y Minamori y Saito [6] en Japón y en México entre otros por Salceda [7 y 8] Espinoza-Velásquez *et al.* [9] y Maganhotto *et al.* [10].

Se sabe que un buen número de las mutaciones son letales o semiletales cuando se presentan en condición homociga, pero los efectos de esos letales en moscas heterocigotas son escasamente conocidos y puntos de vista conflictivos acerca de esos efectos han sido expresados por diversos autores. Por ejemplo, Berg [11], trabajando con poblaciones naturales de *D. melanogaster*, así como Stern y Novitski [12] con poblaciones experimentales demostraron en ambos casos, que en condición heterociga, los genes letales son deletéreos.

A su vez Wright *et al.* [13], empleando *D. pseudoobscura* encontraron que los letales autosómicos son menos frecuentes en poblaciones naturales de lo que serían si fuesen completamente recesivos. Por su parte Cordeiro [14], encontró que en promedio la viabilidad de los letales en condición heterociga es significativamente menor que en los individuos libres de letales y que ambos tipos de cromosomas, portadores y no portadores de letales varían significativamente con respecto a los efectos de la viabilidad.

En esta ocasión nos referimos a dos poblaciones de *D. melanogaster* localizadas dentro de la planta núcleo eléctrica de Laguna Verde, durante las primeras etapas de operación, en las cuales nos interesa conocer el monto de genes letales presentes teniendo en mente de que si existen diferencias significativas se podría examinar la posibilidad de utilizar a este sistema biológico para detectar daños provocados por dosis de radiación bajas debidas a emanaciones gaseosas y eventualmente proponerlo como monitor biológico en este tipo de instalaciones. Los datos aquí presentados servirán de base para esta propuesta.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

La colecta del material biológico se hizo en dos sitios de la localidad denominada Laguna Verde en la cual se estableció la primera planta núcleo eléctrica del país, esta se localiza a 72 Km al norte de la ciudad de Veracruz y sus coordenadas son: 96° 24' 30" de longitud W y 19° 43' 24" de latitud N. Estos sitios fueron establecidos por Levine *et al.* [15], y fueron denominados Sitio I localizado en el área habitacional a 1350m al WNW del reactor y corresponde a nuestro testigo, en tanto que el Sitio II se encuentra a 350 m de la salida de las aguas de enfriamiento del reactor con una dirección SSW del mismo y corresponde a nuestra población experimental.

La planta inició su funcionamiento en Febrero de 1989 y aunque se hicieron colectas de *Drosophila* en la etapa previa a su funcionamiento no se tiene información relativa en cuanto a la frecuencia de genes letales en esas poblaciones. Las colectas de material biológico aquí analizado

se hicieron en tres periodos estacionales sucesivos: Julio de 1991, Enero de 1992 y Julio de 1992 y corresponden a los primeros años de operación de la planta.

Las moscas fueron capturadas mediante atracción en trampas conteniendo frutas en fermentación como atrayente y mediante el empleo de una red entomológica. Una vez capturadas y seleccionadas fueron transportadas al laboratorio del ININ donde los análisis se llevaron a cabo. Para ello, las moscas se sometieron a una serie de cruces experimentales según la técnica Cy L / Pm ; H / Sb descrita por Wallace [16] y de amplio uso en estudios similares y que esquemáticamente es como sigue:

P1 macho ++ de la naturaleza X hembra Cy L / Pm ; H / Sb
F1 macho +/ Cy L X hembra Cy L / Pm ; H / Sb
F2 machos +/ Cy L X hembras +/ Cy L
F3 CyL / Pm : Cy L / + : +/+
1 (muere): 2 (heterocigoto): 1 (silvestre)

con el fin de que en la tercera generación de prueba se pudiera determinar la frecuencia de genes recesivos letales, semiletals y normales para cada población y con esa información sugerir la existencia o no de daño genético.

La determinación del tipo de gen extraído de esta manera se hace mediante la cuantificación del número de descendientes heterocigotos portadores del gene silvestre y los marcadores (+ / Cy L) vs silvestres (+ / +) que en proporción 2 : 1 indica normalidad y desviaciones de la misma grados de viabilidad siendo la proporción 100% +/ Cy L indicativa de letalidad.

Otro aspecto analizado fue la comparación de frecuencias de genes deletéreos en cuanto a las diferentes estaciones es decir invierno contra verano.

Las diferentes comparaciones y sus diferencias fueron comparadas mediante la aplicación de la prueba de X^2 .

Todos los cultivos se hicieron en frascos de 1/4 de litro conteniendo alimento fresco consistente en una mezcla de agar- agar, harina de maíz, sacarosa, dextrosa y levadura de cerveza a la que se le añadió tegosept y ácido propiónico como preservador y fungicida; los cultivos se mantuvieron a una temperatura de $25^{\circ}C \pm 1$.

3. RESULTADOS

Una vez concluidos todos los conteos se procedió al acopio de datos, preparación de tablas y análisis de los resultados mismos que se presentan en las Tablas I y II.

Como resultado del estudio se extrajeron un total de 299 cromosomas distribuidos en las tres categorías de genes según se observa en la Tabla I, en la cual a fin de comparación se incluyen datos de Salceda y Gallo [17] de una localidad en la vecindad de la Ciudad de Veracruz como referencia.

El aspecto mas importante del estudio y del que se derivan los análisis subsiguientes consiste en determinar el monto de la carga genética es decir, las frecuencias relativas de genes normales, letales y semiletals en cada una de las poblaciones, esta información se muestra en la Tabla I. Por otra parte, en la Tabla II presentamos el resultado de la aplicación de la prueba estadística X^2 , en la que para aumentar el tamaño de muestra se sumaron los datos de los dos muestreos correspondientes al verano.

4. DISCUSIÓN

De la enorme cantidad de datos existentes en la bibliografía referente al monto de la carga genética o cúmulo de genes letales en poblaciones naturales de *D. melanogaster* se infiere que este valor fluctúa entre el 5 y el 20 por ciento para la frecuencia de este tipo de genes, dependiendo estos valores tanto de la época del año en que se tomó la muestra como de la posición geográfica de la misma.

En cuanto a la frecuencia de semiletals poca es la información referente y sólo es indicativa de la salud genética de la población ya que no tiene mayor significancia evolutiva.

Los efectos provocados por irradiación, sin embargo, varían según el tipo y dosis de radiación y al respecto poco o nada se sabe en cuanto a emanaciones producto de plantas nucleares.

La información por nosotros detectada según se muestra en la Tabla I, indica que nuestras poblaciones no difieren de aquellas estudiadas por otros autores, es decir entran dentro del intervalo de normalidad para este parámetro.

Tabla I. Frecuencia de genes normales, letales y semiletals en poblaciones naturales de *Drosophila melanogaster* originarias de Laguna Verde, Ver.

Población	Normales	letales	Semiletals	n
SI, Julio 1991	71.87	6.25	21.87	32
SI, Enero 1992	62.50	15.00	22.50	40
SI, Julio 1992	78.26	8.69	13.04	23
SII, Julio 1991	76.19	7.14	16.66	42
SII, Enero 1992	76.35	6.75	16.89	148
SII, Julio 1992	85.71	7.14	7.14	14
SG	90.01	4.44	5.92	148

SI= Sitio I; SII= Sitio II; n= tamaño de muestra; SG= Salceda y Gallo, 2002

Nuestros resultados muestran claramente, que las frecuencias de genes letales entran dentro de los intervalos de normalidad, además, al no existir diferencias entre los valores obtenidos para cada población se sugiere la ausencia de daño provocado por posibles fugas o bien emanaciones gaseosas propias del funcionamiento del reactor.

Al no haberse encontrado diferencias significativas o ser muy pequeñas éstas entre ambas, se decidió hacer otro tipo de análisis, consistente en comparar el comportamiento de las poblaciones

con relación al parámetro en estudio pero ahora tomando en consideración las diferencias temporales, es decir cambios de estación

Como los datos fueron recabados durante tres estaciones sucesivas dos veranos (julio de 1991 y 1992) y un invierno (Enero de 1992), se está en posibilidad de detectar cambios debido al ritmo de estaciones. Ya que las muestras de verano fueron de tamaño pequeño y no existiendo diferencias en cuanto a la frecuencia relativa de genes letales en ambas poblaciones, optamos por sumar los datos de ambos años para esta estación y así tratar de ver diferencias, como se ve en la Tabla II.

Tabla II. Diferencias estacionales en cuanto a las frecuencias relativas de genes normales, letales y semiletals en poblaciones naturales de *Drosophila melanogaster* originarias de Laguna Verde, Ver.

Estación	Normales	letales	Semiletals
S I; invierno	62.50	15.00	22.50
S I, verano	79.71	5.79*	14.49
S II; invierno	76.35	6.75	16.89
S II, verano	82.35	5.88	11.76

*significativo $p \leq 0.05$; S I = Sitio I; S II = Sitio II.

El resultado de esas observaciones y al hacer las pruebas estadísticas se tuvo como respuesta que sí existe diferencia entre las frecuencias de verano con respecto a las de invierno, esto a un nivel de significancia del 5 por ciento, lo cual se muestra en la Tabla II.

Por lo anterior podemos concluir que las diferencias entre las dos poblaciones no son significativas y esto sugiere ausencia de daño y las diferencias encontradas probablemente se deben a cambios de estación cosa que ocurre normalmente en poblaciones naturales.

5. REFERENCIAS

1. Ives PT, "The genetic structure of American populations of *Drosophila melanogaster*", *Genetics*, **30**, p. 167-196 (1945).
2. Dubinin NP, "On lethal mutations in natural populations" *Genetics*, **31**, p. 21-38 (1946).
3. Goldschmidt E, J Wahrman y A Ledermann Klei, "A two years survey of population dynamics in *Drosophila melanogaster*", *Evolution*, **9**, p. 353-366 (1955).
4. Dawood MM, "The genetic load in second chromosome of some populations of *Drosophila melanogaster* in Egypt", *Genetics* **46**, p. 239-246 (1961).
5. Paik YK, "Genetic variability in Korean populations of *Drosophila melanogaster*". *Evolution* **14**, p. 293-303 (1960).
6. Minamori S y Y Saito, "Local and seasonal variation of lethal frequencies in natural populations of *Drosophila melanogaster*" *Jap. J. Genetics*, **38**, p. 290-304 (1964).
7. Salceda VM, "Carga genética en 7 poblaciones naturales de *Drosophila melanogaster* (Meigen) de diferentes localidades de México", *Agrociencia*, **28**, p. 47-52 (1977 a).

8. Salceda VM, "Genética de poblaciones naturales de *Drosophila melanogaster* del Distrito Federal", *Agrociencia*, **28**, p. 67-72 (1977 b).
9. Espinoza-Velázquez J y VM Salceda, "Efecto de la carga genética sobre viabilidad en una población natural de *Drosophila melanogaster* de Culiacán, Sinaloa", *Agrociencia*, **28**, p. 61-65 (1977).
10. Maganhotto CM, VM Salceda y G Carrillo, "Estructura genética de una población natural de *Drosophila melanogaster* originaria de Uruapan, Michoacán", *Agrociencia*, **37**, p. 123-129 (1979).
11. Berg RC, "Correlacao entre mutabilidade e a facultade de regulacao do organismo e o significado da evolucao", (Traducción del Ruso) *C.R. Acad. Sci. URSS*, **3**, p. 367-376(1945).
12. Stern C y E Novitski, "The viability of individuals heterozygous for recessive lethals", *Science*, **108**, p. 538-539 (1948).
13. Wright S, Th Dobzhansky y W Hovanitz, "Genetics of natural populations. VII. The allelism of lethals in the third chromosome of *Drosophila pseudoobscura*", *Genetics*, **27**, p. 363-394 (1942).
14. Cordeiro AR, "Experiments on the effects in heterozygous condition of second chromosomes from natural populations of *Drosophila willistoni*", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **38**, p.471-478 (1952).
15. Levine L, O Olvera, RF Rockwell, ME de la Rosa y J Guzmán, "Nuclear power plants and natural populations of Mexican *Drosophila*", *Genoma*, **31**, p. 256-264 (1989).
16. Wallace B, "Studies on irradiated populations of *Drosophila melanogaster*", *J. Genet*, **54**, p. 280-293 (1956).
17. Salceda VM y AJ Gallo "Genetic load affecting chromosomes II and III in two natural populations of *Drosophila melanogaster* from Mexico", *Drosophila Inform. Serv*, **85**, p. 12-16, (2002).