

# " EFECTOS GENÉTICOS DEL RADON 222 EN UNA POBLACIÓN DE *Drosophila melanogaster* CRÓNICAMENTE EXPUESTA "



MX0100333

Víctor M. Salceda.

Departamento de Biología, Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares.

## RESUMEN

Se investigó el efecto mutagénico del Radón 222 durante un período experimental de 11 generaciones. En este lapso larvas de la línea Canton - S de *Drosophila melanogaster* fueron mantenidas en una atmósfera de Radón. En cada generación de prueba se extraían machos, consecuentemente expuestos a la radiación, los cuales se sometieron a una serie de cruzas con una línea portadora de genes marcadores según el diseño experimental de Wallace ( 1956 ). Debido a las condiciones experimentales solo se determinó la frecuencia de mutaciones letales recesivas para el segundo cromosoma en las generaciones 1, 4, 7 y 11. De todo el estudio se condujo en forma paralela una población testigo no tratada. Las concentraciones a que se sometió la población experimental variaron de generación en generación de  $12 \pm 2$  a  $43 \pm 5$  KBq/m<sup>3</sup>. Nuestro análisis corresponde a la determinación de letalidad en 1182 segundos cromosomas repartidos entre las dos poblaciones y las diferentes generaciones de exposición. El estudio nos permitió determinar las respectivas frecuencias de genes letales recesivos variando según la población y/o generación entre 10.53 y 22.02%. El análisis estadístico de los datos no mostró diferencias significativas entre las diferentes poblaciones.

## INTRODUCCION

El amplio uso de la radiación ionizante representa un problema permanente puesto que ello produce efectos genéticos que afectan a futuras generaciones. Este tipo de radiación induce mutaciones génicas la mayoría de las cuales confieren efectos deletéreos a sus portadores y bajo una continua exposición a fuentes radioactivas las mutaciones tienden a acumularse en la población reduciendo así la adaptabilidad y sobrevivencia de los individuos constituyentes de la población expuesta a estos agentes. Por otra parte, la mayoría de las nuevas mutaciones que surgen espontáneamente son también deletéreas para sus portadores al menos en condición homocigótica y en las condiciones ambientales en las cuales las poblaciones viven y se desarrollan. De forma tal que en poblaciones crónicamente expuestas las mutaciones inducidas se suman a la carga genética existente en esa población .

Con este problema en mente, Pimentel ( 1995 ) inició dos poblaciones experimentales de *Drosophila melanogaster* de la cepa Canton - S, una de las cuales fue crónicamente expuesta a emanaciones de Radón 222 a partir de una fuente de Pechblenda a fin de determinar el efecto que la radiación induce en las poblaciones, en su estudio Pimentel reporta el efecto producido en términos de viabilidad huevo - adulto, fertilidad y velocidad de desarrollo y las tasas de mutación y recombinación somáticas. En nuestro caso el objetivo es determinar

el valor de la carga genética expresada en frecuencia diferencial de genes deletéreos presentes en cada población.

## MATERIAL Y METODOS

Las poblaciones se originaron a partir de la cepa Canton - S, inicialmente consistió en la colecta de un buen número de huevecillos que constituyeron la población inicial, la mitad de ellos fueron expuestos a las emanaciones de radón usando una caja petri donde se incubaron por cuatro días en ese ambiente y al emerger los adultos se extraían los machos para ser analizados mediante la prueba de letales recesivos del segundo cromosoma; el resto de los individuos se constituirían en los progenitores de la siguiente generación de la cual los huevecillos serían nuevamente expuestos a la radiación tal como se ejemplifica en la Figura 1. Los machos obtenidos cada generación fueron cruzados con hembras de la línea Cy L /Pm ampliamente empleada en este tipo de estudios y según el diseño de Wallace (1956) como se ve en la Figura 2, procediéndose así a determinar la cuantía de la carga genética; la otra mitad de huevecillos originales se manipuló de igual manera y constituyó nuestra población testigo. La atmósfera de emanaciones de Radón se mantuvo en un aparato especialmente construido para fines de medición de radiación (Tavera y col. 1991) y los valores determinados de radiación variaron de  $12 \pm 2$  a  $43 \pm 5$  KBq/m<sup>3</sup> distribuidos a lo largo de las diferentes generaciones como se ve en la Tabla I. Debido al diseño experimental solo se realizó el análisis de carga genética en las generaciones 1, 4, 7 y 11 como se ve en la Figura 1 designándose las diferentes generaciones por números y las poblaciones con T para testigo y R para tratadas con Radón quedando anotadas como sigue: T1, T4, T7, T11, R1, R4, R7 y R11. Una vez terminada la fase experimental se calcularon las diferentes frecuencias genotípicas para cada cromosomas y las correspondientes para genes normales, letales y semiletals para cada población y los valores así obtenidos comparados entre si, testigo contra tratado y generación contra generación, estas comparaciones se hicieron mediante la prueba estadística "t" de Students, y los valores obtenidos se conjuntaron para formar las Tablas I y II, así como la figura 3. Todos los cultivos se mantuvieron a una temperatura de  $25 \pm 1^{\circ}$  C. El alimento empleado fue el de uso normal en el laboratorio a base de harina de maíz - azúcar - levadura - agar .

## RESULTADOS

El análisis de cuatro generaciones manipuladas como se estipuló arriba permitió la determinación de las frecuencias de genes letales presentes en una muestra experimental global de 1182 segundos cromosomas de *D. melanogaster*. La Tabla I muestra el número de cromosomas analizados por población, las frecuencias de los diferentes tipos de genes: normales, semiletals y letales. En la Tabla II se presentan las respectivas frecuencias modificada en términos de porcentaje para las diferentes clases de cromosomas, según su manifestación, tales como: letales, semiletals y su suma, que corresponde a la de genes deletéreos, así como la de los normales, y todo ello se puede ver gráficamente en la figura 3.

La disminución de la viabilidad de los individuos de una población se debe al efecto acumulado de mutaciones letales dominantes, semidominantes y semiletals los cuales presentan generación tras generación un rápido retorno a los niveles de viabilidad cercanos a la normalidad. Sin embargo la presencia de mutaciones letales recesivas representa otro tipo de consideraciones relevantes y que se refieren al destino de esos genes que se mantienen ocultos en la población en estado heterocigótico.

La proporción mendeliana ideal en nuestro sistema de cruzas corresponde a un 25% de moscas silvestres que en un cultivo dado determinan normalidad desviaciones de esta proporción nos definen el tipo de cromosoma, así tenemos que cromosoma letal ( portador de un gene letal ) es aquel que produce, bajo nuestro sistema de cruzas, menos del 2.3% de moscas silvestres ; semiletal entre 2.4 y 11.9% y cuasinormal a normal cuando se generan mas del 11.9% de moscas silvestres.

Conforme a lo anterior es correcto el asumir que las poblaciones T1, T4, T7 y T11 deben de presentar las mismas o muy similares frecuencias de genes deletéreos , no así las poblaciones R1, R4, R7 y R11 en la cuales la acumulación de mutaciones letales recesivas debe de manifestarse en forma de un incremento en la frecuencia de este tipo de genes cuando los comparamos con las poblaciones testigo o bien cuando las comparaciones son de índole temporal es decir entre generaciones, lo que es debido a la acumulación de genes inducidos por la radiación como ha sido demostrado en otros estudios con esta especie y realizados en forma similar variando solo el tipo de fuente radioactiva( Wallace 1956, Sankaranarayanan 1964 y Salceda 1967 ).

Los 1182 segundos cromosomas que se analizaron en este estudio están repartidos en la siguiente forma : 558 para las poblaciones testigo y 624 para la irradiadas. De ellos corresponden 102 letales para las poblaciones testigo y 95 para las tratadas que en términos de frecuencias corresponden respectivamente a 18.28 y 15.22%, este porcentaje promedio sufre en cada generación desviaciones que son el objetivo de nuestra presentación como se relata a continuación.

## DISCUSION

No todos los procesos que se presentan en poblaciones expuestas a la radiación son bien comprendidos y a menos que se produzca un daño lo suficientemente serio la pila genética de la población, en la cual se provocaron las mutaciones, se verá aumentada.

Wallace y King ( 1951 ) y Wallace ( 1956 ) fueron los primeros autores que estudiaron los eventos genéticos que ocurren en poblaciones de *D. melanogaster* tratadas con radiación y a ellos se debe en principio la clasificación en diferentes clases a los distintos tipos de genes encontrados , letal, semiletal, cuasinormal, etc. ; las diferentes formas de administrar el agente y la forma de analizar los efectos así provocados.

Las diferentes clases de inducción de cambio genético por radiación se comportan en forma diferente por ejemplo no es igual el analizar el daño después de un solo evento de radiación con el producido cuando se irradia crónicamente,

pues según el caso o bien se afectan las frecuencias en las diferentes categorías de genes o bien se altera el valor adaptativo de los individuos o de las poblaciones o bien ocurrir ambos efectos, los autores arriba mencionados hicieron ambos tipos de estudio (Wallace y King, 1951 ; Wallace, 1956, 1958, 1959, 1962).

Por su parte Carson ( 1963 ), observó que el incremento de la carga genética en poblaciones experimentales de *D. melanogaster* crónicamente expuestas a la radiación era de carácter transitorio y que al cesar el tratamiento la carga genética inducida parecía ser eliminada en forma progresiva hasta finalmente alcanzar los niveles originales.

De manera similar Sankaranarayanan ( 1964 ) expuso cuatro poblaciones experimentales (una de ellas fungió como testigo no irradiado ) a radiación crónica fluctuando en cada una de ellas la razón de dosis por generación, pero en todos los casos hasta alcanzar la misma dosis total, en estas poblaciones él midió la cuantía de la carga genética y observó que si bien era directamente proporcional a la razón de dosis en todos los casos al suprimir la irradiación las poblaciones lentamente regresaban a los valores de carga genética cercanos a los niveles de la población sin tratamiento ; Salceda (1967 ) profundizó en el estudio de esas poblaciones y cuando tenían mas de dos años de relajación después de la radiación si bien los valores de la carga eran inferiores a los alcanzados al término del tratamiento los genes responsables de la misma estaban representados con mayor frecuencia.

Veamos ahora que es lo que ocurrió en nuestro estudio y tratemos primero hacer comparaciones con los resultados previamente estudiados y si ellos son diferentes tratemos de dar explicaciones.

Así, sin aun emplear la herramienta estadística, al analizar la Tabla II lo primero que tenemos que hacer notar es que la población T1 es la que nos servirá de base para todas las comparaciones, esta presentó al iniciarse el experimento una carga genética, en términos de frecuencia de genes letales y semiletal, con un valor de 18.88% y al cual nos referiremos en lo consecutivo. Este valor y sin causa alguna disminuye en una generación de prueba, tres biológicas según la Figura 1, a un valor de 14.29% en T4 y de nuevo inesperadamente se incrementa hasta el 22.02% en T7 para finalmente reducirse en T11 con un valor final de 16.41%. En comparación las poblaciones tratadas se comportaron de la siguiente manera : al iniciarse el estudio la población R1 presentó una carga genética de 13.30% y en forma progresiva aumenta a 16.67% en R4 y a 20.13% en R7 para luego disminuir abruptamente hasta 10.53% en R11 aquí nuevamente podemos observar que tan significativas pueden ser las comparaciones cuando se aplica la prueba estadística, lo cual se muestra en la Tabla II sin mostrar el valor de " t " de Students ya que este no fue significativo.

El siguiente paso es el comparar en conjunto las poblaciones irradiadas con las no tratadas y ver que es lo que sucede, esto se puede hacer de dos formas : global y generación por generación.

Nuevamente sin el recurso estadístico de la prueba " t " de Students vemos que desde un principio ambas poblaciones difieren en los valores de sus respectivas

cargas genéticas 13.30% para la irradiada R1 y 18.88% para el testigo T1 no irradiado ; en la siguiente generación de prueba la población control disminuye su carga genética al 14.29% en tanto que la irradiada lo aumenta a 16.67% ; ya para la tercera generación de prueba, poblaciones T7 y R7, las respectivas cargas genéticas se ven aumentadas dando valores de 22.02% para T7 y 20.13% para R7 y finalmente ambas disminuyen a 16.41% y 10.53% respectivamente en las poblaciones T11 y R11. Los valores obtenidos mediante el análisis estadístico no se muestran ya que en todos los casos que se compararon no se manifestó en las tablas estadísticas un valor de significancia.

Abundando en la información obtenida y procurando contrastarla con la de investigaciones similares podemos mencionar lo siguiente :

En su estudio Wallace ( 1956 ) demostró que la frecuencia de genes deletéreos se ve incrementada generación tras generación a tasas diferenciales dependientes de las dosis recibidas y que en todos los casos los genes letales tienden a ser eliminados de la población rápidamente en cuanto cesa la radiación ; en nuestro experimento las variaciones en frecuencia de genes deletéreos ( letales, semiletales y la sumatoria de ellos ) muestran un patrón diferente al de Wallace pues predomina en ellos una alternancia y no una tendencia al aumento como se ve en las Tablas I y II y en la figura 3.

En el estudio de Sankaranarayanan ( 1964 ) este autor demuestra una relación directa entre dosis y frecuencia de genes aunque se manifiesta una discrepancia a dosis intermedias, aquí nuestro estudio nuevamente demuestra la ausencia de una relación directa dosis - frecuencia de genes deletéreos.

En ambos estudios los responsables indican que el aumento en las frecuencias de los factores letales estaban influyendo la acumulación de ese tipo de genes en las poblaciones por ellos estudiadas, ya que estos no eran eliminados sino solamente hasta después de cesar la acción mutagénica de la radiación como agente modificador.

En su momento Salceda ( 1967 ) demuestra que la disminución en frecuencia de genes letales posterior al cese del tratamiento de las poblaciones con radiación fue debido al efecto de la selección y que si no llegaron a recuperar los valores iniciales esto es debido precisamente al efecto selectivo y condiciones de adaptación particulares para cada población.

Los autores anteriores trabajaron usando como agente inductor de daño a los rayos X, pero que ocurre cuando se usa el mismo agente : el Radón, en este caso solo nos referiremos al estudio de Sperlich ( 1967 ) quien también expuso a *Drosophila melanogaster* a emisiones de Radón 222. Este investigador encontró que solo cuando las moscas adultas eran expuestas por 24 horas a este agente era posible inducir genes letales, aunque en su estudio el lo hace para genes letales recesivos ligados al sexo sin embargo esta prueba es similar a la por nosotros utilizada, la única diferencia sería que en nuestro caso no fue posible incrementar significativamente la frecuencia de genes letales. Otra diferencia es que este autor no trato generaciones sucesivas sino que solo estudio la primera generación de las moscas tratadas y como consecuencia el valor de la dosis acumulada.

Indudablemente mas estudios de este tipo así como el empleo de otras técnicas son necesarias para realmente conocer el efecto que sobre *Drosophila* y otras especies tenga el Radón.

## REFERENCIAS

- Carson, H.L. 1963. Transitory increase in genetic load in irradiated laboratory populations of *Drosophila melanogaster*. ( Abstr. ) Proc. 11<sup>th</sup> Intern. Congr. Genet. 1 : 74.
- Pimentel, Peñaloza, A.E. 1965. Efectos biológicas del Radón en *Drosophila*. Tesis de Maestría en Ciencias, Facultad de Ciencias, UNAM, México. pp 72.
- Salceda, V.M. 1967. Recessive lethals in second chromosomes of *Drosophila melanogaster* with radiation histories. Genetics 57 : 691 - 699.
- Sankaranarayanan, K. 1964. Genetic loads in irradiated experimental populations of *Drosophila melanogaster*. Genetics 50 : 131 - 150.
- Sperlich, D., A. Karlik and E. Pohl. 1967. Strahlentherapie Band 132, Heft 1 : 105 - 112.
- Tavera, L., M. Balcazar, R. Villalobos-Pietrini, M.A. Meneses, A.R. Flores y S. Gomez. 1991. Radon controlled atmosphere chambers for biological treatment. Proc. Second International Symposium on Environmental Chemistry, México, D.F.
- Wallace, B. 1956. Studies on irradiated populations of *Drosophila melanogaster*. J. Genet. 54 : 280 - 293.
- Wallace, B. 1958. The average effect of radiation - induced mutations on viability in *Drosophila melanogaster*. Evolution 12 : 532 - 556.
- Wallace, B. 1959. Studies on the relative fitness of experimental populations of *Drosophila melanogaster*. Am. Naturalist 93 : 295 - 314.
- Wallace, B. 1962. Temporal changes in the roles of lethal and semilethal chromosomes within populations of *Drosophila melanogaster*. Am. Naturalist 96 : 247 - 256.
- Wallace, B. and J.C. King. 1951. Genetic changes in populations under irradiation. Am. Naturalist 85 : 209 - 222.

**TABLA I. PORCENTAJES DE DIFERENTES TIPOS DE CROMOSOMAS II DE *Drosophila melanogaster* EN POBLACIONES EXPUESTAS A RADON 222.**

POBLACION	GENERA CION	NUMERO DE CROMOSO MAS	NORMALES	SEMILE TALES	LETALES	SEMILE TALES Y LETALES
TESTIGO 1	F1	143	81.12	11.19	7.69	18.88
RADON 1	F1	188	86.7	7.45	5.85	13.3
TESTIGO 4	F4	119	85.71	10.92	3.36	14.29
RADON 4	F4	144	83.33	8.33	8.33	16.67
TESTIGO 7	F7	168	77.98	9.52	12.5	22.02
RADON 7	F7	159	79.87	10.06	10.06	20.13
TEST 11	F11	128	83.59	9.38	7.03	16.41
RADON 11	F11	133	89.47	5.26	5.26	10.53