

DIFERENTE EXPRESION DE FENOCOPIAS DE DOS SUSTRATOS GENETICOS EN DROSOPHILA MELANOGASTER MEDIANTE TRATAMIENTOS CON BORO

Por VILMA G. DE SOLANES

INTRODUCCION

La acción del gen puede ser imitada en algunas ocasiones y bajo ciertas circunstancias, sometiendo al individuo a condiciones anormales de desarrollo. Esta reproducción in vitro de un fenómeno genético normal ha sido llamada por RICHARD GOLDSCHMIDT "fenocopia". Este autor, trabajando con *Drosophila melanogaster* bajo condiciones anormales de temperatura logró fenotipos que se acercaban en forma muy marcada a aquellos producidos por ciertas mutaciones génicas.

Diferentes autores han demostrado en forma fehaciente la importancia que revisten el momento del tratamiento, su duración y por supuesto, en los casos de inducción química, la droga empleada. Esto permite deducir la existencia de un período crítico en el desarrollo de la larva que probablemente coincide con el momento de máxima o más específica contribución del gen, cuya actividad es interferida por el tratamiento.

Existe una gran diferencia de la especificidad entre los tratamientos físicos y los químicos. Se han producido muchísimas fenocopias mediante métodos físicos (golpe de calor, temperaturas extremas, radiaciones con diferentes longitudes de onda, etc.) pero al igual que las mutaciones, se han obtenido resultados muy ambiguos en cuanto a la repetición de un fenómeno determinado, esto obliga a pensar en que por medios físicos no se pueden obtener fenocopias específicas.

Por el contrario, químicamente se han logrado reproducir infinidad de fenotipos suficientemente específicos para ser identificados y repetidos.

En este trabajo se han probado distintas sales de boro sobre dos poblaciones de *Drosophila melanogaster*, para estudiar la penetración y expresividad del gen afectado, cuando el mismo se encuentra al estado presumiblemente heterocigota en la población salvaje y al es-

tado homocigota en la línea C30 después de 30 generaciones de hermano x hermana.

Los resultados en ambas poblaciones han sido manifiestamente diferentes, lo que permite suponer un efecto combinado del genomio y del boro.

MATERIAL Y METODO

Se emplearon dos poblaciones de *Drosophila melanogaster*: *Salvaje*, proveniente de una población de Las Catitas, Mendoza y C 30 línea consanguínea proveniente de la primera.

Para lograr la línea C 30 se comenzó separando 20 hembras vírgenes de la población salvaje y cruzándolas individualmente en frascos separados por un macho de la misma población. De cada uno de los cultivos se separaron parejas en la misma forma hasta llegar a la generación N° 30. En la 4ª generación comenzaron a perderse las primeras líneas probablemente por manifestación de letales al estado homocigota, quedando en la generación N° 12, solamente una línea, la C 30 que se mantuvo en forma muy vigorosa y sin alteraciones fenotípicas visibles hasta llegar a una consanguinidad de 30 generaciones de hermano x hermana.

Las drogas testadas fueron: ácido bórico $H_3B_3O_3$; metaborato de sodio $NaB_2O_3 \cdot 2H_2O$; metaborato de potasio KB_2O_3 ; tetraborato de sodio (borax) $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ y tetraborato de potasio $K_2B_4O_7 \cdot 5H_2O$.

El medio de cultivo empleado fue una modificación de la fórmula propuesta por Burdick (1954). En repetidos ensayos en nuestro laboratorio se la ha ido simplificando con éxito aún para líneas poco vigorosas.

Fórmula de Burdick

Agua	1.000 ml.
Agar	18-22 gr.
Harina de maíz	60 gr.
Levadura seca	10 gr.
Mezcla ácida	50 gr.
Acido propiónico	5 gr.
Soluc. Alcohólica de "Tegosept M" al 12,5%	12 ml.

Fórmula modificada

Agua	1.000 ml.
Agar	10 gr.
Harina de maíz	50 gr.
Levadura seca	10 gr.
Sacarosa	50 gr.
Acido propiónico	4 gr.
Soluc. Alcohólica de "Tegosept M" al 12,5%	4 ml.

No se sembró levadura viva debido a que experiencias anteriores demostraron una mayor efectividad del boro en cultivos ascépticos.

Las diluciones de la droga se hicieron directamente en los 1000 ml de agua destilada utilizados para la preparación del alimento en concentraciones del 0,25, 0,35, 0,50, 0,70 y 1‰.

Según MEDVEDEV (1935), el boro actuaría entre las 40 y 48 horas del nacimiento de la larva, es decir, en el momento en que comienza la formación del disco ocular y aparentemente su acción es nula sobre el desarrollo del ojo cuando el disco comienza a diferenciarse.

Desde el momento que el tratamiento debe hacerse en larvas recién nacidas y para obviar el problema del traslado de huevos o larvas de un cultivo a otro, se colocaron directamente las hembras adultas fecundadas en los frascos tratados permitiéndoseles la oviposición durante un período de 24 horas y procediéndose luego a su eliminación.

Los frascos se mantuvieron en estufas de cultivo a una temperatura uniforme de 25° C.

Resultados

En general las concentraciones de más de 0,5‰ resultaron letales para prácticamente el 100% de los tratamientos, obteniéndose sólo resultados positivos para las concentraciones del 0,25 y 0,35‰.

Detalle de las observaciones obtenidas con las distintas drogas

1) *Acido bórico*

a) *Línea salvaje*: no se observaron alteraciones de ningún tipo en los tratamientos viables. La letalidad resultó del 100% a partir de 0,5‰ de concentración.

b) *Línea C 30*: se pudo constatar similar viabilidad que para la anterior, pero con un marcado aumento de la pigmentación general del cuerpo, tanto para hembras como para machos.

2) *Metaborato de sodio*

a) *Línea salvaje*: aproximadamente un 13% de la población resultó defectuosa en cuanto a la conformación de los ojos. El fenotipo obtenido fue muy variable, manifestándose en forma de ojos más chicos que el normal, en algunos casos prácticamente puntuales, con bordes muy irregulares. También se presentaron casos de ojos divididos en dos, con tumores despigmentados en el centro y en ocasiones con la superficie rugosa.

Otro de los fenómenos observados con regular frecuencia fue la presencia de manchas melanóticas en el abdomen.

Las alteraciones en general se presentaron en forma asimétrica, pudiéndose observar individuos con un ojo totalmente anormal mientras que el otro lo era menos o perfectamente normal. Esta es una

característica de la línea presumiblemente heterocigota que se repite para todos los tratamientos en forma homogénea.

b) *Línea C 30*: la proporción de individuos defectuosos resultó algo inferior con respecto a la línea salvaje, observándose alteraciones en el número de omatidios en alrededor del 8% de la población tratada.

En este caso las alteraciones se manifestaron en forma sensiblemente diferente a la otra línea, ya que la disminución del número de omatidios dio como resultado, no ya deformaciones imprevisibles (ojos partidos, bordes irregulares, tamaño variado, tumores, etc.) sino un fenotipo totalmente homogéneo de ojo alargado, reproducción exacta del "bar" genético. Este fenómeno se presentó en los dos ojos del 100% de las fenocopias logradas.

3) *Metaborato de potasio*

Esta droga demostró una eficiencia algo menor que la anterior en cuanto a la proporción de fenocopias inducidas, siendo la manifestación del fenotipo similar a la producida por el metaborato de sodio.

Las diferencias fenotípicas en cuanto a la conformación de los ojos se mantuvieron también en forma similar al tratamiento anterior en ambas líneas.

Un fenómeno característico de este tratamiento fue la constatación de una alta proporción de individuos con las bandas abdominales interrumpidas y en ocasiones superpuestas, lo que hace suponer una deficiencia en la síntesis del pigmento.

4) *Tetraborato de sodio*

La proporción de fenocopias producidas por el borax fue sensiblemente superior a la de los otros tratamientos, probablemente debido a que a dosis algo mayores (0,5%) la letalidad resultó inferior.

a) *Línea salvaje*: las dosis de 0,25 y 0,35% dieron como resultado una proporción del 15% de fenocopias, y la de 0,5% llegó a inducir el 32% de individuos con alteraciones diversas, similares a las ya descriptas.

Se pudieron observar también deficiencias en la conformación de la cabeza, en el número de setas y una alta proporción de individuos con el abdomen retorcido, lo que hace pensar en una alteración del desarrollo embrionario general.

b) *Línea C 30*: para 0,25 y 0,35% la proporción de fenocopias fue del 30% y para 0,5% se pudieron observar sólo unos pocos individuos ya que la letalidad en la línea homocigata resultó mayor. No obstante ello la mitad de los individuos sobrevivientes demostró alteraciones en la forma de los ojos.

El fenotipo "bar" se reprodujo en forma homogénea en todos los individuos afectados, constantándose, al igual que con los otros tratamientos, una notable similitud con el genotipo "bar" genético.

Se pudo comprobar también que las dosis más altas de borax producen alteración en el número de ocelos. Se constató en la población tratada, tanto en los individuos normales como en las fenocopias, una considerable proporción de moscas con un número de ocelos variable entre 2 y 6. La pigmentación de los mismos también se vio afectada ya que se observó una gama de coloración que iba desde la despigmentación completa hasta la coloración rojiza característica de los omatidios normales.

5) *Tetraborato de potasio*

Al igual que el metaborato de potasio, esta droga resultó menos efectiva que la sal de sodio correspondiente. La proporción de fenocopias inducidas fue muy baja, alrededor del 2% para ambas líneas, no obstante ello, las fenocopias obtenidas resultaron del mismo tipo ya descripto para los tratamientos anteriores.

Con los dos últimos tratamientos se llevó la descendencia anormal de las dos líneas en prueba a F2 en alimento normal y en alimento tratado. La población nacida en alimento normal no demostró ninguna alteración visible de su fenotipo, lo que era previsible tratándose de verdaderas fenocopias.

La población nacida en alimento tratado presentó una proporción mayor de individuos alterados, lo que hace suponer un efecto acumulativo de la droga en el citoplasma. El número de fenocopias aumentó prácticamente al doble, lo que da como resultado un valor significativo del efecto de acumulación de la droga.

CONCLUSIONES

1 — Se confirma la acción del boro como agente activo en la producción de fenocopias en *Drosophila* a concentraciones entre el 0,25 y 0,50‰.

2 — Las sales sódicas del boro son más efectivas que las de potasio y más aún que el ácido bórico.

3 — Los efectos del boro se traducen en una malformación embrionaria que da como resultado alteraciones en el desarrollo de la cabeza y sobre todo de los discos oculares.

4 — Todas estas alteraciones son verdaderas fenocopias, es decir, fenómenos no heredables.

5 — Se produce acumulación citoplasmática de la droga, cuyo efecto se intensifica en sucesivas generaciones en alimento tratado.

6 — Existen diferencias genéticas que influyen modificando el efecto del boro y produciendo fenotipos diferentes según que el material genético se encuentre al estado homo o heterocigota.

RESUMEN

Se trataron larvas de *Drosophila melanogaster* recién nacidas con ácido bórico, metaborato de sodio, metaborato de potasio, tetraborato de sodio y tetraborato de potasio.

Se obtuvieron individuos que respondieron a los tratamientos con alteraciones extremadamente variables en la conformación de los ojos.

La manifestación del fenotipo resultó radicalmente distinta entre las dos poblaciones en prueba: salvaje y C 30 (línea homocigota con 30 generaciones de hermano x hermana).

La población salvaje produjo una alta proporción de fenocopias muy dispares en cuanto a la forma de los ojos: partidos en dos, con bordes irregulares, con la superficie rugosa, con tumores despigmentados, más chicos que los normales y en ocasiones puntuales, etc. En la mayoría de los casos estos fenómenos se presentaron en forma asimétrica entre los dos ojos del mismo individuo.

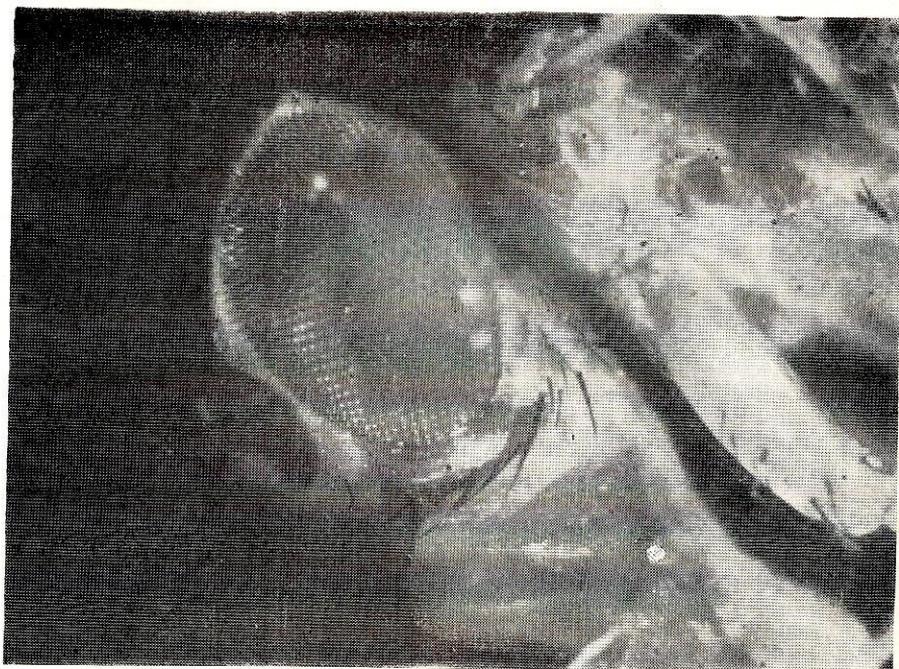
La población homocigota, línea C 30, manifestó un fenotipo homogéneo muy semejante al "bar" genético y en forma perfectamente simétrica.

Se comprobó una efectividad mayor de las sales de sodio sobre las de potasio y un efecto acumulativo de la droga en el citoplasma a través de generaciones sucesivas en alimento tratado.

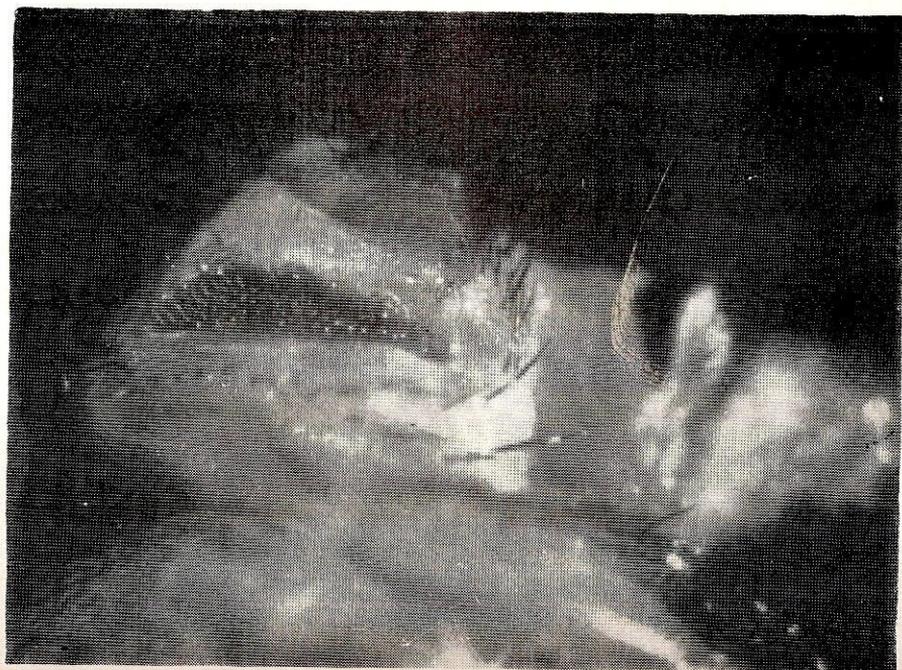
BIBLIOGRAFIA

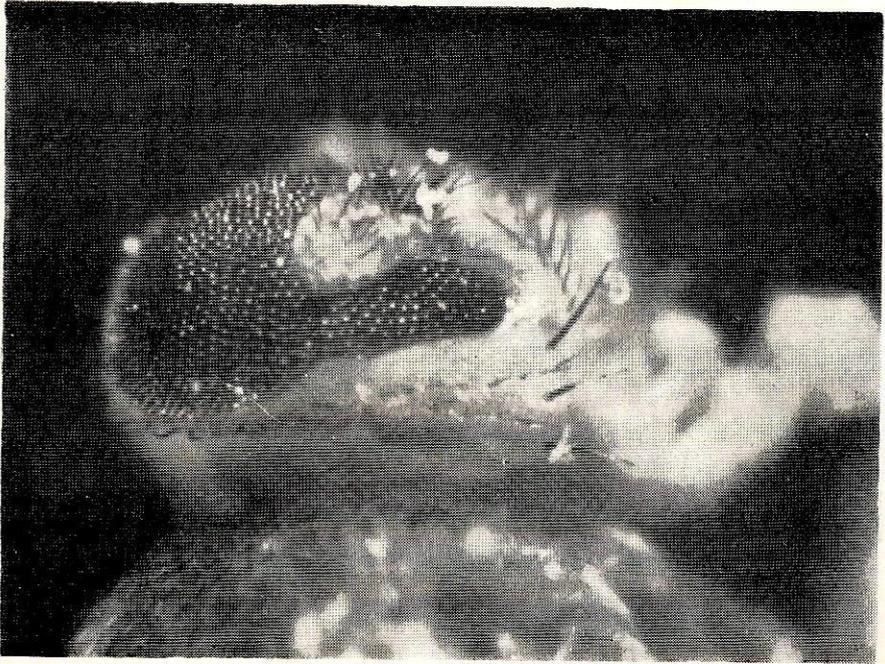
- BRNCIC, Danko. - 1957 - *Las especies chilenas de Drosophilidae*. Universidad de Chile: 23-25.
- GOLDSCHMIDT, Richard B. - 1958 - *Theoretical Genetics*. University of California Press: 255-266.
- HERSKOWITZ, Irwin H. and NORTON, Isabel L. - 1962 - *Increased incidence of melanotic tumors in two strains of Drosophila melanogaster following treatment with sodium fluoride*. Genetics 48: 307-310.
- JINKS, John L. - 1965 - *Extrachromosomal inheritance*. Prentice Hall Found. of Modern Genetics Series: 77-90.
- SANG, James H. and Mc DONALD, J. M. - 1953 - *Production of phenocopies in Drosophila using salts, particularly sodium metaborate*. Journal of Genetics 52 (2): 392-412.

ASPECTO DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS (x 32)



Testigo





Tratamiento con borax al 0,35% en la línea salvaje

Phyrdenus muriceus Germ., SOBRE MALEZAS

POR: MALLEA, A. R.; G. S. MÁCOLA; J. G. GARCÍA SAEZ;
L. A. BAHAMONDES y J. H. SUÁREZ ¹

Relacionado con la búsqueda de nuevos hospederos, que hacen a la biología e incremento de poblaciones del "Gorgojo del tomate" (*Phyrdenus muriceus* Germ., Coleoptera - Curculionidae), comunicamos la presencia del mismo atacando raíces de "Cenizo" (*Chenopodium album* Linné).

Sobre la planta señalada hemos encontrado larvas, en cantidad, alimentándose de las raíces; alrededor de las mismas, en número considerable, encontramos también pupas y adultos recientemente emergidos, en preparación del pasaje invernal (mes de mayo).

El material fue recolectado en el distrito de Corralitos, departamento de Guaymallén, Mendoza.

BIBLIOGRAFIA

- Bosq, J. M. 1934. Primera lista de los Coleópteros de la República Argentina. Bol. Min. Agric. de la Nación, T. XXXVI (4): 313-356 (333).
— 1942. Segunda lista de los Coleópteros de la República Argentina dañinos a la agricultura. Rev. Ing. Agr. Vol. IV: 18-22, 17-199 (156), 1^ª Ed.
- HAYWARD, K. J. 1942. Primera lista de insectos tucumanos perjudiciales. Est. Exp. Agric. de Tucumán, Public. Misc. (1): 3-110 (17).
- MAGISTRETTI, G. 1952. El gorgojo del tomate (*Phyrdenus muriceus* Germ.). Fac. Cienc. Agr. U.N.C. Bol. Ext. (1).
- MALLEA, A. R. 1969. *Phyrdenus muriceus* Germ. sobre malezas. Rev. Fac. Cienc. Agr., t^o XV (1).

¹ Ing. Agr. Profesor Titular, Ing. Agr. Profesor Adjunto, Ing. Agr. Jefe de Trabajos Prácticos, Agr. Aux. Investigación y Enólogo Aux. de Investigación de la Cátedra de Zoología Agrícola, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo.