

EFFECTOS DE LA EXPOSICIÓN CRÓNICA AL RADÓN EN POBLACIONES EXPERIMENTALES DE *Drosophila melanogaster*

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

(Recibido agosto 2004, aceptado mayo 2005)

Palabras clave: radón, valor adaptativo, *Drosophila melanogaster*

RESUMEN

Se analizaron cuatro generaciones de una población de *Drosophila melanogaster* expuestas crónicamente a una ambiente de radón. Periódicamente se estimó la concentración del gas en la atmósfera encontrándose los siguientes valores: 30 ± 7 (F1), 43 ± 5 (F3), 6 ± 2 (F6) y 74 ± 7 (F9) kBq/m³ con dosis estimadas de 1.209, 2.088, 0.03 y 2.878 mGy, respectivamente. Paralelamente se analizaron los testigos, con el fin de determinar el efecto de la radiación por emisión de partículas α en la inducción de genes detrimentales, midiendo además el efecto de la viabilidad con respecto a la fecundidad y la viabilidad diferencial en categorías de genes con efectos menores. Tanto la inducción de genes detrimentales como la distribución de la viabilidad con respecto a la fecundidad por categorías no mostraron efecto inductor debido al tratamiento con radón. Sin embargo, los cambios ocasionados por el tratamiento referentes a la fecundidad provocaron en tres de las cuatro comparaciones posibles resultados significativos en la producción de descendientes, mejorando la adecuación o adaptabilidad de las poblaciones, como ha sido demostrado por otros autores.

Key words: radon, characteristics of adaptative value, *Drosophila melanogaster*

ABSTRACT

Four generations of an experimental population of *Drosophila melanogaster* chronically exposed to radon were analyzed, the individual radon concentrations were sampled with the following results were as follow 30 ± 7 (F1), 43 ± 5 (F3), 6 ± 2 (F6) and 74 ± 7 (F9) kBq/m³ and with estimated doses of 1.209, 2.088, 0.03, and 2.878 mGy respectively, parallel control populations were also analyzed. The aims of the study were determine the effects of such irradiation on the induction of detrimental genes, measuring the effect on the viability with respect to fertility and the differential viability of minor genes. Neither the induction of detrimental genes non the distribution of the viability with respect to fecundity showed any inducing effect due to the exposure to radon. Nevertheless, significant changes due to the radon exposure on the fecundity of the populations were induced in three out of four comparisons concerning the production of offspring improving the fitness of the population as it was shown by other authors.

INTRODUCCIÓN

Es bien sabido que la exposición de organismos vivos a dosis altas de radiación produce mutaciones. También se sabe que la mayoría de las mutaciones son usualmente deletéreas para sus portadores al menos en condición homocigótica y en ambientes donde viven normalmente las especies. Los procesos genéticos que ocurren en poblaciones irradiadas son, sin embargo, poco conocidos. Los trabajos pioneros de Wallace y King (1951) y de Wallace (1951, 1956) han servido para enfatizar la necesidad de profundizar los estudios en este campo. Por otra parte los efectos de dosis bajas de radiación han provocado incertidumbre sobre todo al tratar de extrapolar la inducción de daño genético con dosis de radiación altas a bajas, pues existen evidencias acerca de que los efectos producidos por dosis bajas no son tan adversos cómo se consideraba inicialmente (Pimentel 2003).

También se sabe que los genes mutantes de poblaciones naturales de *Drosophila* se encuentran encubiertos por la heterocigosis cuando son recesivos y parcialmente ocultos si ellos son parcialmente recesivos, además Crow (1979) demostró en experimentos con *Drosophila* que las mutaciones espontáneas causantes de disminuciones menores en viabilidad ocurren con mayor frecuencia que aquellas que producen efectos drásticos y que por otra parte, las mutaciones cuasinormales (e) (**Cuadro I**) inducidas por radiación son menos frecuentes con relación a las letales. También se sabe que en los primeros intentos para analizar la distribución de frecuencias de mutaciones detrimentales, estas son dos o tres veces más frecuentes que las letales, lo que fue demostrado posteriormente por Friedman (1964) analizando el cromosoma X de *D. melanogaster*.

Por lo anterior el presente trabajo tiene como propósito el contribuir al mejor entendimiento de los efectos genéticos de la radiación en poblaciones de *D. melanogaster*, mediante el análisis de la viabilidad

diferencial entre individuos expuestos crónicamente a bajas dosis de radiación por emanaciones de radón en comparación con una población testigo y observar si las mutaciones recién inducidas, en condiciones heterocigóticas y homocigóticas pueden incrementar la viabilidad de los homocigotos, así como la inducción de mutación de genes letales y semiletals portados en el segundo cromosoma de esta especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para realizar el presente trabajo se establecieron dos poblaciones experimentales de *D. melanogaster* a partir de la cepa Canton-S, una que fungió como testigo (líneas T) y la otra fue tratada (líneas R), esta última sometida crónicamente a emanaciones de una fuente de pleschblenda en una cámara especialmente diseñada, en la cual se produce gas radón a 41.4 kilo Bequerelios (kBq) (Pimentel *et al.* 2003) y a partir de ese valor se calcularon las concentraciones de radón a las que se sometieron las moscas y que corresponden por generación a las medidas por dichos autores y contenidas en sus **cuadros 1 y 2** y que corresponden a las concentraciones de radón existentes en la caja de población en las correspondientes generaciones 30 ± 7 (F1), 43 ± 5 (F3), 6 ± 2 (F6) y 74 ± 7 (F9) kBqm³ las cuales correspondan a las dosis estimadas de 1.209, 2.088 0.03, y 2.878 mili Gray (mGy) respectivamente. Una muestra de las moscas así tratadas fue usada para la detección de mutaciones recesivas en el cromosoma II. Las muestras analizadas corresponden a las generaciones 1, 3, 6 y 9, tanto de los testigos como de los tratados, utilizando para ello machos adultos procedentes de la exposición crónica al agente físico radón.

Nuestro método de prueba se basa en la técnica de detección de mutaciones letales en el segundo cromosoma de *D. melanogaster* descrita por Wallace (1956). Así en cada generación se tomaban machos y se cruzaban individualmente con hembras de la cepa CyL / Pm, con los marcadores genéticos específicos Cy (Curly = alas rizadas), L (Lobe = ojos con una escotadura) y Pm (Plum = ojos color ciruela), ampliamente usada por los genetistas y sus mutantes letales balanceados.

De los descendientes de la primera generación de esta cruce se toma un macho de fenotipo Cy L / + que se cruza nuevamente con hembras vírgenes de la cepa Cy L / Pm y al emerger los adultos de esta segunda generación se seleccionan 5 parejas Cy L / + que se cruzan entre sí y se llevan a la tercera generación de prueba donde se obtienen descendien-

CUADRO I. DIFERENTES CATEGORÍAS DE VIABILIDAD SEGÚN WALLACE Y MADDEN (1953)

Categoría	Porcentaje de viabilidad
a- Letal	0 - 14
b- Semiletal	14.1 - 29
c- Subvital	29.1 - 49
d- Subnormal	49.1 - 69
e- Cuasinormal	69.1 - 85
f- Normal	85.1 - 114
g- Supernormal	114.1 ó más

tes, en proporción mendeliana, con los siguientes fenotipos: 2 Cy L / + : 1 +/+ (silvestre), esta serie de cruza se esquematiza:

P macho +/+ X hembra Cy L / Pm
 F1 macho Cy L / + X hembra Cy L / Pm
 F2 machos Cy L / + X hembras Cy L / +
 F3 Cy L / Cy L (muere) 2 Cy l / +: 1 + / +

Los individuos de la tercera generación de prueba son contados por categoría en dos ocasiones a los 12 y 16 días después de que se inició el cultivo; aquellas líneas que no producen individuos silvestres (+ / +) son consideradas como portadoras de un gene letal recesivo que se mantiene en condición heterocigótica en los individuos Cy L / +.

Al término de los conteos se hace la suma y se determina si el cromosoma extraído es o no portador de un gene letal y del total de la población se determina el porcentaje de genes letales por generación y por población.

De cada generación se tomó el número total de individuos producidos por cada cromosoma, se determinó el total y se obtuvo el promedio respectivo lo que constituye el promedio de fecundidad para esa generación. Esta información sirve para que de cada conjunto de datos, una vez obtenido el promedio, se calcule el porcentaje de viabilidad con respecto a la fecundidad de cada cromosoma extraído y se determinen así categorías de viabilidad según la metodología descrita por Wallace y Madden (1953) que define para este parámetro las categorías mostradas en el **cuadro I**.

Los efectos genéticos aquí mostrados, debido a

la técnica empleada, se refieren exclusivamente a aquellos detectados en el segundo cromosoma y los daños que estos cromosomas ocasionan a sus portadores cuando son transmitidos de generación en generación. Los análisis acerca de genes letales dominantes y efectos somáticos causados por la radiación quedan excluidos. Según nuestras consideraciones en la prueba de homocigosis sólo se toman en cuenta las frecuencias de genes letales y semiletal recesivos del segundo cromosoma. Este análisis consistió en evaluar el promedio de descendientes dejados por 5 parejas de cada cromosoma extraído que se muestra en el **cuadro III** representándose los valores promedio obtenidos así como su error estándar y el resultado de la prueba estadística «t» de Student.

Para determinar que tan significativas son las diferencias se aplicaron, según el caso, la prueba de «t» de Student o bien la de χ^2 .

Todos los cultivos se incubaron a 25 ± 1 °C y se mantuvieron en frascos lecheros de 1/4 de litro con alimento a base de agar-harina de maíz- azúcar-levadura y antibióticos, para evitar contaminación, normalmente usados en el laboratorio.

RESULTADOS

Efecto detrimental

Como resultado del procedimiento de prueba para detectar genes letales fue posible analizar un total de 1182 cromosomas del par II de los cuales 558 corresponden a las poblaciones testigo y 624 a las tratadas con emisiones de radón, de ellos se encontra-

CUADRO II. EFECTO DETRIMENTAL EN POBLACIONES EXPERIMENTALES DE *Drosophila melanogaster*

Población	kBq/m ³ concentración	mGy dosis estimada	N	Normales %	Letales %	Semiletal %
T1			143	81.12	11.19	6.69
R1	30 ± 7	1.209	189	86.77	7.41	5.82
χ^2				0.3935	1.2768	0.4547
T3			119	85.71	10.92	3.36
R3	43 ± 5	2.088	144	83.33	8.33	8.33
χ^2				0.0660	0.6142	7.3514**
T6			168	77.98	9.52	12.50
R6	6 ± 2	0.03	159	79.87	10.06	10.06
χ^2				0.0458	0.0306	0.4762
T9			128	83.59	9.38	7.03
R9	74 ± 7	2.878	133	89.47	5.26	5.26
χ^2				0.4136	1.8096	0.4456

** p < 0.01

ron 102 cromosomas con efecto detrimental, suma de letales y semi-letales, en los testigos y 95 en los tratados, equivalentes al 18.28 % y 15.22 %, respectivamente.

En el **cuadro II** se muestra en la primera columna la generación y población de que se trata; la segunda columna contiene las concentraciones de radón; en la tercera las dosis estimadas por generación (Pimentel *et al.* 2003). Le sigue el número de cromosomas analizados, así como el número y frecuencia relativa de aquellos que demostraron ser normales, letales y semi-letales, también muestra el valor obtenido de las χ^2 correspondientes a cada par de comparaciones según la categoría y su respectiva probabilidad $p < 0.001$. Pese a las diferentes fluctuaciones, según la generación probada, de las 16 comparaciones entre población testigo y tratado de cada generación solo una demostró ser significativamente diferente.

En la siguiente generación de prueba y tercera de exposición, la frecuencia de letales en la población testigo aumentó a 14.29 % en tanto que en la población tratada disminuyó a 16.67 %. En la sexta generación, las poblaciones T6 y R6 presentaron un aumento de las frecuencias de valores observados de 22.02 % y 20.13 %, respectivamente. Finalmente, en la novena generación las frecuencias obtenidas fueron para T9 16 % y para R9 10.53 %. Durante todo el estudio, las frecuencias en ambas poblaciones presentaron un promedio similar de 7.64 % para la población testigo y de 7.36 % para la tratada. Un comportamiento similar se observó con respecto a las frecuencias de genes semiletal y consecuentemente lo mismo ocurrió con la suma de ambos tipos de genes detrimentales. En todos los casos al aplicar la prueba estadística de χ^2 las diferencias no fueron significativas.

Efecto de la viabilidad con respecto a la fecundidad

Además de la información acerca de la frecuencia de genes detrimentales se obtuvo para cada cromosoma un número determinado de descendientes, producto de dos conteos, esta progenie es la que se procesa de manera tal que se tiene por generación para cada población el número total de individuos derivados del total de cromosomas extraídos, de ese valor se obtuvo el promedio de descendientes, se calculó el error estándar al que se aplicó la prueba «t» de Student, así se determinó con ese valor para cada generación si hubo o no diferencia significativa.

En el **cuadro III** se muestran estos valores así como las respectivas concentraciones de radón calculadas por generación.

En este cuadro se puede observar como varía durante el experimento el promedio de descendientes así como los casos en que la prueba estadística demostró la existencia de diferencias significativas, que ocurrió en tres de las cuatro generaciones.

Distribución de la viabilidad diferencial con respecto a la fecundidad

Los efectos de genes menores con efecto débil, se analizan basándose en el porcentaje de descendientes por cromosoma con respecto al promedio poblacional por generación y con ellos se constituyen 7 diferentes categorías (a-g) que aparecen en el **cuadro I**, el resultado de lo anterior se muestra en el **cuadro IV**. En el se muestran las generaciones y los tratamientos, el número de cromosomas analizados, el promedio poblacional, las frecuencias relativas de cromosomas de cada categoría, las concentraciones de radón a que fueron sometidas las moscas en cada generación así como los resultados de las diferentes

CUADRO III. EFECTO DE LA VIABILIDAD CON RESPECTO A LA FECUNDIDAD EN POBLACIONES EXPERIMENTALES DE *Drosophila melanogaster*

Población	kBq/m ³	dosis estimada mGy	Total descendientes	Promedio Descendientes/macho	Error estándar	Valor de "t"	p
T1			37705	263.67	11.04	0.0009224	**
R1	30 ± 7	1.209	58712	310.65	10.28		
T3			28288	149.67	8.40	0.0807371	
R3	43 ± 5	2.088	31787	196.44	8.76		
T6			32954	196.15	6.20	2.833e-06	***
R6	6 ± 2	0.03	39452	248.13	9.41		
T9			22606	176.61	7.56	0.000798	**
R9	74 ± 7	2.878	27765	208.76	6.72		

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$

CUADRO IV. DISTRIBUCIÓN DE LAS DIFERENTES CATEGORÍAS DE GENES EN POBLACIONES EXPERIMENTALES DE *Drosophila melanogaster*

Pob	kBq/m ³	mGy	n	a	b	c	d	e	f	g
T1			148	4.05	1.35	15.54	9.46	16.89	16.89	35.81
R1	30 ± 7	1.209	195	2.05	6.15	6.67	12.31	15.38	21.03	36.41
χ ²				0.987	17.086***	5.0628 *	0.8580	0.1349	1.0147	0.0100
T3			119	1.68	2.52	6.72	9.24	17.65	31.09	31.09
R3	43 ± 5	2.088	144	2.08	3.47	11.81	14.58	13.19	22.92	31.94
χ ²				0.987	0.3585	3.8585 *	3.0861	1.1270	2.1469	0.0232
T6			168	0.60	2.98	6.55	16.67	14.88	25.60	32.74
R6	6 ± 2	0.03	165	7.27	5.45	4.24	7.88	15.15	29.09	30.91
χ ²				74.14 ***	2.0472	0.8146	4.6349*	0.0048	0.4757	0.1022
T9			128		4.69	11.72	17.97	15.63	21.09	28.91
R9	74 ± 7	2.878			3.76	12.03	6.02	13.53	38.35	26.32
χ ²					0.1844	0.0081	7.9467 **	0.2821	14.125 ***	0.2320

*** p< 0.001, ** p< 0.01, * p< 0.05

comparaciones por pares de todas las categorías cuando se les aplicó la prueba χ^2 y la indicación de cuales fueron diferentes significativamente a P< 0.001.

DISCUSIÓN

Efecto detrimental

Dado que la administración de emanaciones de radón consisten en bajas dosis de radiación los efectos letales detectados no fueron de consideración pues a lo largo del estudio los efectos producidos en cuanto a inducción de este tipo de daño no mostraron ser significativos, ya que en ambas poblaciones las frecuencias de este tipo de genes sólo presentaron pequeñas fluctuaciones, como se menciona mas adelante, las que aparentemente no alteran el equilibrio en lo que a frecuencias de este tipo de genes se refiere.

Los ligeros cambios ocurridos de generación en generación indican que sobre los daños producidos hubo un efecto de la selección natural y así, en la siguiente generación no se manifestó una acumulación de daño. Esto también ha sido observado en poblaciones expuestas a altas dosis de radiación, en las cuales una vez producida una frecuencia alta de genes letales, esta permanece en su límite superior aún cuando la irradiación se mantenga y sólo al cesar esta la población entra en relajación y vuelve a su frecuencia casi normal, dado que por efecto de la selección natural los genes letales son eliminados de la población, como fue observado por Mourad (1962 y 1964) y Sankaranarayanan (1964).

En cuanto a estudios con dosis altas suministra-

das en forma aguda, una sola exposición, Kwon y Sperlich (1992) observaron fuerte incremento en la inducción de letales, pero no mencionan nada con respecto a lo que ocurre cuando se suspende el tratamiento con relación a si se mantuvieron o no en las siguientes generaciones las frecuencias de genes letales inducidas.

Las fluctuaciones en la frecuencia de genes letales observadas por nosotros fueron a partir de la primera generación para la población testigo T1= 13.30 % en tanto que para la tratada R1= 18.88 % mostrando, como era de esperar, un incremento por la exposición a las emanaciones del Radón.

Efecto de la viabilidad con respecto a la fecundidad

Aunque aparentemente los promedios muestran tendencia a disminuir gradualmente, es muy probable que sea un reflejo del número diferente de cromosomas analizado por generación, al aplicar la prueba estadística mencionada dió como resultado que 3 de las comparaciones mostraran ser significativas a p<0.001, lo que indica que la adecuación de las poblaciones al ser expuestas a las emanaciones de radón sufrió un incremento. Este fenómeno ha sido también observado por otros autores, así, Ayala (1966, 1967) notó un incremento en la productividad, equivalente en nuestro caso a la fecundidad, en poblaciones de *Drosophila serrata* y *Drosophila birchi* irradiadas antes de iniciar el experimento con un promedio de 4000 r para los machos y de 2000 r para las hembras fundadores de las poblaciones y mediante la metodología de transferencia seriada observó en los primeros 6 censos la disminución en el tamaño de la población, en los cen-

pos posteriores y hasta el 19 notó el incremento en el tamaño de la población donde alcanzaron el límite superior que no varió hasta el fin del estudio.

Distribución de la viabilidad diferencial con respecto a la fecundidad

Cuando los efectos de genes individuales son débiles, se observa ligera disminución de la viabilidad o del número de descendientes, pero ocurren con mayor frecuencia que aquellos con efectos drásticos. La acumulación de los efectos detrimentales es importante y este puede ser medido cuando los cromosomas portadores de estos genes se hacen homocigotos ya sea por consanguinidad o bien experimentalmente mediante sistemas de cruce como en nuestro caso y de esa manera se puede observar la distribución de la viabilidad diferencial en condición homocigótica. Wallace y Madden (1953) en el cromosoma II y Drescher (1964) en el X de *D. melanogaster*, aplicando procedimientos similares, demostraron la alta variabilidad existente cuando se analiza la viabilidad diferencial misma que forma parte de la carga genética mutacional. Estos autores agruparon en categorías porcentuales las viabilidades individuales de los diferentes cromosomas por ellos analizados y construyeron los cuadros y las gráficas de distribución de esas categorías. De manera similar se determinaron las viabilidades diferenciales a partir de los promedios de cada población y se establecieron 7 clases, determinando para cada población la frecuencia de cada una de ellas mismas que se presentan en el **cuadro III** en el que se muestran para cada población y generación el número de cromosomas analizados, el número y porcentaje de genes por categoría y el resultado de la prueba estadística χ^2 aplicada a cada una de las 27 pares de comparaciones de las cuales 7 mostraron ser diferentes significativamente a un nivel de $p < 0.001$.

CONCLUSIÓN

Para el efecto detrimental en las poblaciones por nosotros estudiadas, las dosis bajas de radiación debidas a la emisión de radón no fueron lo suficientemente fuertes como para inducir cambios sustanciales en las frecuencias de genes letales recesivos, aún cuando la exposición se llevó a cabo en 9 generaciones no siendo posible que estos llegaran a acumularse en la población y asimismo no alterando el monto de la carga genética.

En cuanto al efecto de la viabilidad con respecto a la fecundidad se demostró que la exposición a la

radiación aumenta la productividad de las poblaciones y por ende su adecuación, lo que concuerda con lo reportado por Pimentel *et al.* (2003) para las poblaciones tratadas paralelamente a las que se estudiaron en este trabajo.

En lo referente a la distribución de la viabilidad diferencial con respecto a la fecundidad aunque fueron pocos los casos (7) en que hubo diferencias, estos permiten concluir que los efectos producidos por la emanación de radón no provocaron daño sustancial deletéreo en las poblaciones tratadas con respecto a los testigos.

AGRADECIMIENTOS

El autor agradece al Dr. Emilio Pimentel P. su gentileza al haber proporcionado las moscas tratadas que sirvieron para la conducción del presente estudio, así como al personal del ININ involucrado en la irradiación.

REFERENCIAS

- Ayala F.J. (1966). Evolution of fitness. I. Improvement in the productivity and size of irradiated populations of *Drosophila serrata* and *Drosophila birchii*. *Genetics* 53, 883-895.
- Ayala F.J. (1967). Evolution of fitness. III. Improvement of fitness in irradiated populations of *Drosophila serrata*. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA.)*, 58, 1919-1923.
- Crow J.F. (1979). Minor viability mutants in *Drosophila*. *Genetics* 92, S165-s172. May supplement.
- Drescher W. (1964). The sex limited genetic load in natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Am. Nat.* 98, 167-171.
- Friedman L.C. (1964). X-ray induced sex-linkage lethal and detrimental mutations and their effect on the viability of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 49, 689-699.
- Kwon Y.E. y Sperlich D. (1992). Developmental time at which spontaneous, X-ray induced and EMS-induced recessive lethal mutations become effective in *Drosophila melanogaster*. *Genet. Sel. Evol.* 24, 473-486.
- Mourad A.E.K.M. (1962). Effects of irradiation in genetically coadapted systems. *Genetics* 47, 1647-1662.
- Mourad A.E.K.M. (1964). Lethal and semilethal chromosomes in irradiated experimental populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 50, 1279-1287.
- Pimentel E., Tavera L., Cruces M.P., Balcázar M. y de la Rosa M.E. (2003). Low radon-dose effect on fecundity and egg-to-adult viability of *Drosophila*. *Radiat. Measur.* 36, 511-516.

- Sankaranarayanan K. (1964). Genetic loads in irradiated experimental populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 50, 131-150.
- Wallace B. (1951). Genetic changes within populations after X-irradiation. *Genetics* 36, 612-628.
- Wallace B. (1956). Studies on irradiated populations of *Drosophila melanogaster*. *J. Genet.* 54, 280-293.
- Wallace B. y King J.C. (1951). Genetic changes in populations under irradiation. *Am. Naturalist* 85, 209-222.
- Wallace B. y Madden C.V. (1953). The frequencies of sub and supervitals in experimental populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 38, 456-470.