

## Tesis de Posgrado

# Estudio de daño genético inducido en espermatozoides de *Drosophila melanogaster*: análisis de letales recesivos ligados al sexo inducidos por neutrones de 3 MEV.

Muñoz, Enzo Ruben

1992

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Muñoz, Enzo Ruben. (1992). Estudio de daño genético inducido en espermatozoides de *Drosophila melanogaster*: análisis de letales recesivos ligados al sexo inducidos por neutrones de 3 MEV.. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_2503\\_Munoz.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2503_Munoz.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Muñoz, Enzo Ruben. "Estudio de daño genético inducido en espermatozoides de *Drosophila melanogaster*: análisis de letales recesivos ligados al sexo inducidos por neutrones de 3 MEV.". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1992.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_2503\\_Munoz.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2503_Munoz.pdf)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires

ESTUDIO DE DAÑO GENETICO INDUCIDO EN ESPERMA DE Drosophila melanogaster. ANALISIS DE LETALES RECESIVOS LIGADOS AL SEXO INDUCIDOS POR NEUTRONES DE 3 MEV.

AUTOR: ENZO RUBEN MUÑOZ

DIRECTOR: Dr. JUAN H. HUNZIKER

CO DIRECTORA: Dra. LIDIA POGGIO

Tesis presentada para optar al grado académico de  
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLOGICAS

Realizado en la Comisión Nacional de Energía Atómica  
Buenos Aires

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES  
UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

1992

*Tesis.  
2503  
ej. 2.*

## INDICE

	Página
Resumen . . . . .	2
Introducción . . . . .	6
<b>Materiales y Métodos:</b>	
A) Inducción de mutaciones recesivas ligadas al sexo	17
B) Selección de letales localizados en el segmento proximal a estudiar . . . . .	22
C) Análisis de los letales . . . . .	24
<b>Resultados:</b>	
A) Frecuencia de letales en el cromosoma X . . . . .	39
B) Selección de letales cubiertos por el cromosoma mal <sup>+</sup> .Y . . . . .	39
C) Análisis de los letales cubiertos por el cromosomal mal <sup>+</sup> .Y . . . . .	45
1) Letales clase 2 (alélicos a la deficiencia B-111). . . . .	46
2) Letales clase 3 (alélicos a la deficiencia B-12) . . . . .	78
3) Letales clase 4 (alélicos a las deficiencias B-111 y B-12) . . . . .	102
4) Letales clase 5 (no alélicos a la deficiencia B-111 ni a la deficiencia B-12) . . . . .	123
5) Letales clase 6 (no cubiertos por el cromosoma mal <sup>+</sup> .Y, pero alélicos a las deficiencias B-111 y/o B-12)	134
<b>Discusión:</b>	
A) Frecuencia de letales en el cromosoma X . . . . .	154
B) Frecuencia de mutaciones letales en el segmento cubierto por la duplicación mal <sup>+</sup> .Y . . . . .	155
C) Análisis de letales cubiertos por el cromosoma mal <sup>+</sup> .Y . . . . .	162
Conclusiones . . . . .	173
Bibliografía . . . . .	175

## AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento al Dr. Juan H. Hunziker y a la Dra. Lidia Poggio por su permanente aliento durante el desarrollo de este trabajo.

También quiero expresar mi sincero reconocimiento al Dr. F.H. Sobels, del Departamento de Genética de Radiaciones y Mutagénesis Química de la Universidad de Leiden, Holanda, por su incondicional apoyo durante las primeras etapas del desarrollo de este trabajo y a la Dra. Beatriz K. de Mazar Barnett por su constante estímulo y la lectura crítica del manuscrito.

Agradezco asimismo al personal de la División Genética del Departamento de Radiobiología, Comisión Nacional de Energía Atómica, su invaluable colaboración.

## RESUMEN

En esperma de Drosophila melanogaster la frecuencia de mutaciones letales recesivas ligadas al sexo inducida por neutrones o por rayos X crece linealmente, lo que significa que cada letal es el resultado de un impacto. A pesar de ésto hay evidencias conflictivas según las cuales a igualdad de dosis los neutrones serían menos eficientes o más eficientes que los rayos X en la inducción de este tipo de daño. Es decir que se encontraron Eficiencias Biológicas Relativas (RBE) (dosis de rayos X/dosis de neutrones, para una determinada cantidad de daño) menores y mayores de 1.

Para explicar la menor eficiencia de los neutrones, se han propuesto dos hipótesis: 1) Como la fina traza de ionizaciones que se origina cuando se usan radiaciones de baja Transferencia Lineal de Energía (LET) como los rayos X, es suficiente para inducir un letal, parte de las ionizaciones presentes en las gruesas trazas de ionizaciones originadas durante la irradiación con neutrones (alto LET), resultarían superfluas. De esta forma, a igual cantidad total de ionizaciones producidas por ambos tipos de radiación, los neutrones aparecerían como menos eficientes. 2) Las gruesas trazas de ionizaciones producidas por los neutrones inducirían mutaciones letales muy próximas unas de otra, que serían contabilizadas como una sola debido al método de detección y de allí su aparente menor eficiencia.

Para explicar la mayor eficiencia de los neutro-

nes, se ha sugerido que la mayoría de las mutaciones letales recesivas se deberían a daño en dos segmentos cromosómicos, que por plegamientos del cromosoma quedarían muy próximos. La mayor eficiencia de los neutrones para producir rupturas en los dos segmentos cromosómicos adyacentes, daría como resultado una mayor frecuencia de letales respecto de los rayos X.

El desconocimiento de la real naturaleza de las lesiones inducidas por neutrones que son detectadas como letales recesivos en *Drosophila*, deja las hipótesis mencionadas en un plano puramente especulativo. Atento a ello y a fin de caracterizar el daño, en este trabajo se encaró el análisis, mediante pruebas de alelismo, de letales recesivos inducidos por neutrones.

En una primera etapa se seleccionaron mutaciones letales recesivas en el cromosoma X inducidas por 3 MeV de neutrones. La frecuencia obtenida con una dosis media de 21,7 Gy fué de 7,9% en 13.679 cromosomas probados. Se calculó que para obtener la misma frecuencia de letales se hubieran requerido 34,34 Gy de rayos X, lo que indica que los neutrones resultaron más eficientes que los rayos X. El valor del RBE fué de 1,58 que está en línea con lo encontrado por otros autores en las mismas condiciones de experimentación.

El análisis de los letales se circunscribió a aquellos localizados en un segmento del cromosoma X, comprendido entre las Secciones 18 F4-5 y 20 F4 y que corresponde a las 53 bandas más proximales del cromosoma políté-

nico. Para su selección se usó una duplicación del segmento a estudiar unida al cromosoma Y. La frecuencia de letales localizados íntegramente dentro del segmento fué de 5,5% del total de letales inducidos en el cromosoma X. Esta frecuencia está en relación al tamaño del segmento (53 bandas) y es similar a las encontradas con rayos X en regiones más alejadas del centrómero.

Con los letales seleccionados se hicieron pruebas de complementación cruzándolos entre si y con duplicaciones, deficiencias y mutaciones visibles y letales de otros orígenes. Para la interpretación de estas pruebas se consideró que: a) dos letales no alélicos afectan unidades funcionales diferentes; b) dos letales alélicos comparten por lo menos una unidad funcional; c) un letal alélico a dos letales que no son alélicos entre si, afecta como mínimo a dos unidades funcionales que pueden ser adyacentes o no.

El estudio permitió ubicar los letales en un mapa del segmento analizado que, con la adición de tres nuevas unidades de complementación identificadas en este trabajo (dos con efecto letal y una con efecto visible), consta de 33 unidades.

Del mapa de complementación obtenido surgió que: i) sólo el 3,7% de los letales son dobles, es decir que consisten de dos mutaciones muy próximas una de otra, por lo que se descarta este tipo de lesión como característico del daño inducido por neutrones; ii) el 49% de los letales inducidos por neutrones afectan una unidad de complementación y el 51% dos o más, es decir que son deficiencias.

Cuando se aplican los mismos criterios seguidos en este trabajo a los datos existentes sobre letales inducidos por rayos X, surge que con este agente sólo el 21% de los letales se debe a deficiencias cromosómicas.

De los resultados presentados puede concluirse que del total de daños producidos a una determinada dosis de radiación, los neutrones inducen una mayor proporción de deficiencias cromosómicas que los rayos X. Estas lesiones tienen prácticamente siempre efecto letal en *Drosophila* y seguramente son menos reparables por un sistema libre de error. Como consecuencia, en pruebas de inducción de mutaciones letales recesivas, se recupera una mayor frecuencia de letales cuando se usan neutrones y su RBE respecto de los rayos X es mayor de 1. Se postula que lo mismo debería observarse usando rayos  $\alpha$  u otras partículas pesadas de alto LET.

## INTRODUCCION

De los efectos de las radiaciones ionizantes sobre los seres vivos, su acción genética es indudablemente la de mayor trascendencia. Esto se debe a que las alteraciones en el material genético una vez fijadas son permanentes y heredables, pudiendo en consecuencia acumularse en una población y de allí la importancia de su estudio.

En el año 1927 Muller (49) descubrió el efecto mutagénico de los rayos X trabajando con Drosophila melanogaster. Desde entonces los problemas radiogenéticos han sido atacados desde ángulos muy diversos en un intento de aportar datos tanto sobre el material genético y su funcionamiento, como sobre las relaciones entre dosis empleada y la cantidad o calidad del daño inducido en distintas condiciones y con radiaciones de diferente capacidad ionizante (50,51). El interés siempre vigente en este campo se debe al creciente uso de las radiaciones y a la necesidad de optimizar el aprovechamiento de sus potencialidades diagnósticas y terapéuticas.

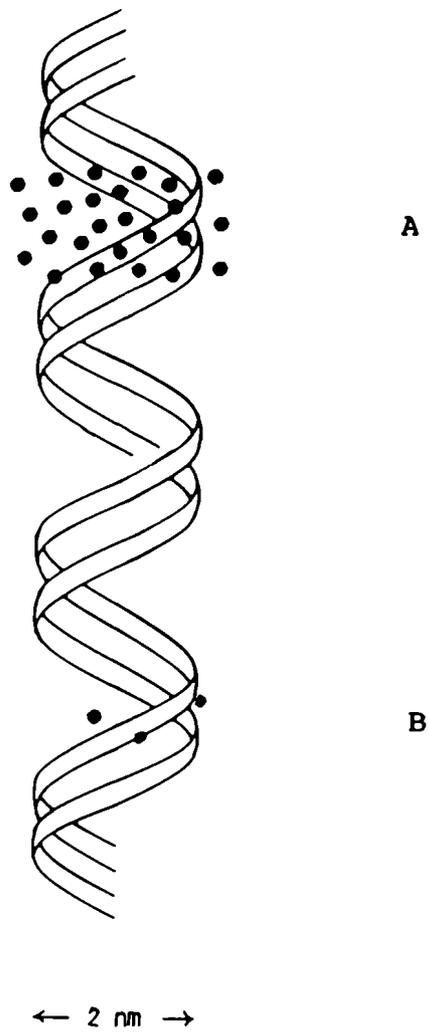
Las radiaciones ionizantes, llamadas así por su capacidad de producir ionizaciones en la materia que atraviesan, pueden dividirse en electromagnéticas de muy corta longitud de onda (rayos X y  $\gamma$ ) y corpusculares como electrones (rayos  $\beta$ ), núcleos de helio (rayos  $\alpha$ ), protones y neutrones.

Los rayos X (y  $\gamma$ ) constituyen una corriente de fotones que al interactuar con la materia arrancan electrones

orbitales a los que transfieren su energía parcialmente, quedando así en condiciones de interactuar nuevamente con su energía remanente, o totalmente, siendo en este caso el fotoelectrón el que produce luego nuevas ionizaciones. Se originan así caminos o trazas de ionizaciones cuyas características dependen, en buena medida, de la energía de los fotones incidentes y de las propiedades del absorbente. En general las radiaciones electromagnéticas ionizan poco la materia y las trazas de ionizaciones que se originan son muy poco densas, es decir que ceden poca energía por unidad de recorrido (Linear Energy Transfer: LET) y son conocidas como de bajo LET (Fig. 1).

Algo diferente ocurre cuando se irradia con partículas  $\alpha$  o neutrones. Estos últimos son grandes partículas de masa igual a la del protón pero sin carga y debido a ello no ionizan la materia directamente. Cuando los neutrones interactúan con la materia son capturados por los núcleos si su energía es baja (menos de 100 eV) (neutrones lentos) o si su energía es alta (neutrones rápidos) colisionan a su paso con protones a los que transfieren energía y hacen retroceder, "recoil protons". Estos protones son los que en realidad producen las ionizaciones en la materia, y a diferencia de los electrones originados por radiación X, la transferencia lineal de energía (LET) de estas partículas pesadas es alta. Esto se evidencia como trazas de ionizaciones muy densas (Fig. 1). A medida que los neutrones pierden velocidad por choques sucesivos, aumenta la probabilidad de nuevas colisiones y por lo tanto su capacidad ionizante,

**FIG. 1 :** DISTRIBUCION RELATIVA DE IONIZACIONES PARA  
IRRADIACIONES DE ALTO LET (A) Y BAJO LET (B)



(Modificado de COGGLE, 1983)

dando origen a un verdadero cono de ionizaciones con su vértice en el punto de incidencia. Es decir que su LET varía mucho a lo largo de su recorrido y lo que se estima es un promedio.

La cantidad de energía que es absorbida por un material expuesto a las radiaciones se denomina dosis y tiene un gran interés desde el punto de vista biológico. Su unidad de medida es el gray (Gy) que equivale a la absorción de 1 joule de energía de la radiación por kilogramo de material.

La pregunta que surge es si a igualdad de dosis, es decir de energía absorbida por un sistema biológico, la cantidad de daño inducido es siempre igual. La respuesta es que no es necesariamente así, porque aparte de la dosis existen otros factores, muchas veces complejamente interrelacionados que influyen sobre la cantidad final de daño recuperado (3, 15). Estos factores pueden ser biológicos, químicos y físicos. Entre los primeros son de mayor relevancia la fase del ciclo celular en la cual se irradia, la capacidad reparadora de las distintas células, la actividad proliferativa, la especie, el sexo, etc. Entre los factores químicos nos interesa mencionar el oxígeno que en general, cuando se usan rayos X o  $\gamma$  actúa como sensibilizador, conociéndose esto como "efecto oxígeno". En este caso el daño que se induce en presencia de oxígeno es mayor que cuando se irradia en anoxia, o lo que es lo mismo, la dosis requerida para inducir una determinada cantidad de daño es menor en presencia de oxígeno, que actúa así como un factor modificador de la dosis. Este incremento por oxígeno (Oxygen

Enhancement Ratio: OER) dependerá naturalmente de la concentración de oxígeno, la clase de daño, el tipo celular, etc. Aunque el efecto oxígeno es muy importante cuando se usan rayos X o  $\gamma$ , prácticamente no existe cuando se usan neutrones.

Los factores físicos también deben ser tenidos en cuenta. Entre ellos la intensidad y el fraccionamiento de la dosis y la calidad de la radiación, modifican substancialmente la cantidad de daño recuperado. Si la intensidad de la irradiación es alta, la dosis deseada se alcanzará en un tiempo menor que si la intensidad es baja. Aún cuando a una determinada dosis la cantidad total de ionizaciones que se originan es la misma, para una célula o un tejido no es igual recibir 10 Gy a una intensidad de 1Gy por hora o de 1 Gy por segundo. En el primer caso parte de las lesiones ya estarán reparadas cuando se induzcan otras nuevas con las que podrían haber interactuado para producir un determinado efecto, por ejemplo muerte celular, translocaciones cromosómicas, etc. Por el contrario, cuando toda la dosis se recibe en muy poco tiempo, todas las lesiones se producen en forma prácticamente simultánea y pueden interactuar. Esto significa que a igualdad de dosis el daño recuperado es menor cuando se irradia con baja intensidad. Lo mismo ocurre cuando la dosis se divide en pequeñas fracciones, ya que entre fracción y fracción parte de las lesiones se reparan. En general la intensidad y el fraccionamiento de la dosis son más importantes cuando las radiaciones son de bajo LET que cuando son de alto LET.

La calidad de la radiación es otro de los factores que modifican su efecto biológico. Si bien se cree que todas las radiaciones ionizantes interactúan con los seres vivos esencialmente de la misma forma, resultados experimentales indican que éstas difieren en su eficiencia. Como se señaló más arriba, cuando se usan radiaciones de baja transferencia lineal de energía (rayos x o  $\gamma$ ) se originan trazas de ionización poco densas y a una determinada dosis el material expuesto resulta homogéneamente ionizado.

En cambio, cuando se usan radiaciones de alto LET ( $\alpha$  y neutrones) la misma dosis se alcanza con menos trazas, que son gruesas y densamente pobladas de iones. En este caso la irradiación del material resulta menos homogénea. Debido a esta diferente forma de deposición de energía, a igualdad de dosis el daño resultante en el material biológico puede ser diferente y es así que para inducir un determinado tipo de daño, una radiación puede resultar más o menos eficiente que otra.

La Eficiencia Biológica Relativa (Relative Biological Efficiency (RBE) de una radiación es su eficiencia respecto de otra para inducir la misma cantidad de un tipo de daño específico. En general la comparación se hace con la radiación X que se toma como testigo y para calcularla se emplea la fórmula:

$$\text{RBE} = \text{dosis de rayos X} / \text{dosis de radiación investigada}$$

Por ejemplo, si un resultado experimental indica que 40 Gy de rayos X inducen una determinada cantidad de daño y que para obtener la misma cantidad solo se requieren

20 Gy si se usan neutrones, surge que para ese daño la eficiencia biológica relativa (Relative Biological Effectiveness: RBE) de los neutrones es 2 (40/20), o lo que es lo mismo, que los neutrones son dos veces más eficientes que los rayos X para inducir ese daño en esas condiciones.

Las densas trazas de ionizaciones que se originan cuando se irradia con neutrones son capaces de inducir lesiones en varios blancos celulares a su paso y romper cromosomas con más facilidad que cuando se usan rayos X. Debido a ésto, cuando por ejemplo el parámetro utilizado es la muerte celular (que en general se debe a lesiones en varios blancos) o la frecuencia de translocaciones, que son el resultado de rupturas cromosómicas, el RBE aumenta con el LET de la radiación usada (15, 70). En estos casos RBES de 10 o más no son inusuales, aunque a su vez el RBE se ve fuertemente influido por la dosis, el tipo de célula tratada, la clase daño investigado, etc. Las estimaciones del RBE no tienen solamente un interés académico, son de gran trascendencia en las estimaciones de riesgo de trabajadores expuestos y del público en general por un lado y en terapéutica por el otro, dada la posibilidad de obtener mayor daño específico, en un tumor por ejemplo, con una dosis menor.

En *Drosophila*, la mayoría de los estudios indican que los neutrones (de energías entre 1 y 14 MeV) son más eficientes que los rayos X (energías entre 135 y 250 keV) en la inducción de translocaciones y otros tipos de rearrreglos cromosómicos. Los valores de RBE encontrados fueron mayores de 1, aunque variaron entre apenas mayor de 1

a prácticamente 6 (70, 17, 26, 46, 55, 73, 76). Esa disparidad de valores podría deberse en parte a diferencias en las dosis comparadas (la eficiencia de los neutrones es mayor a bajas dosis) y a diferencias metodológicas (mezcla de células germinales en distintos estados de desarrollo, inexactitudes dosimétricas, etc. (70). También se han encontrado RBEs mayores de 1 en la inducción de letales dominantes (4, 20, 26), que se miden como huevos no eclosionados y se deberían a aberraciones cromosómicas complejas y a la no reparación de rupturas con la consiguiente pérdida de fragmentos.

Una menor concordancia existe en la literatura sobre si a igualdad de dosis los neutrones son capaces de inducir letales recesivos en esperma de *Drosophila* con menor (73, 51) o mayor (48, 33, 20, 76, 17, 55, 26) frecuencia que los rayos X. Teniendo en cuenta que la inducción de letales con ambos agentes es lineal, es decir que cada letal se debe a un impacto, dichas diferencias son llamativas.

Para explicar los resultados que indican una menor eficiencia de los neutrones respecto de los rayos X se han invocado dos hipótesis (51). Según la primera los neutrones serían menos eficientes debido a que parte de las ionizaciones presentes en las gruesas trazas que producen los protones en su recorrido, caerían dentro del mismo volumen sensible capaz de dar lugar a una mutación letal. Como consecuencia, parte de las ionizaciones resultarían superfluas. Según la otra hipótesis la traza originada por los neutrones produciría mutaciones que por estar muy próximas unas de otras, serían detectadas como una sola. En efecto, con la

técnica que se emplea para detectar mutaciones letales ligadas al sexo, la no aparición del macho portador del cromosoma que lleva la mutación se contabiliza como un letal, pero no es posible establecer si dicho cromosoma tiene una o más lesiones similares. Es este último caso dos o más mutaciones letales serían contadas como una y de allí la aparente menor eficiencia de los neutrones respecto de los rayos X a igualdad de cantidad de ionizaciones producidas por una determinada exposición. Esta hipótesis se basó en el hallazgo de que con rayos X o  $\gamma$  la mayoría de las mutaciones visibles "yellow" (y) (cuerpo amarillo), "white" (w) (ojos blancos) y "forked" (f) (setas cortas) fueron viables, mientras que cuando fueron inducidas por neutrones aproximadamente un tercio resultaron letales. Como la pérdida total del locus para "y" o "w" no altera la viabilidad, la interpretación fue que en muchos casos los neutrones habían inducido dos mutaciones muy próximas una de otra, una con efecto visible y otra con efecto letal.

Si bien estas hipótesis son muy atractivas no puede descartarse que en algunos de los trabajos en que se encontraron valores de RBE para neutrones menores de 1, esto se haya debido a mezcla del esperma tratado con células más inmaduras (espermátidas tempranas), según puede deducirse de la técnica empleada (70). Estas últimas células son más sensibles que el esperma a la acción de los rayos X (37) y esta mayor sensibilidad se debería a su mayor oxigenación. Como se vió anteriormente el oxígeno actúa como un factor modificador de la dosis aumentando el efecto de los rayos

X, lo que no sucede cuando se usan neutrones, cuyo efecto es prácticamente independiente de la concentración de oxígeno del medio. Es decir que cuando se irradia con rayos X en aire una mezcla de esperma con células con un efecto oxígeno mayor, más sensibles, la dosis requerida para inducir una determinada cantidad de daño es menor que cuando se usan neutrones. El numerador de la fórmula usada para calcular RBE: dosis de rayos X/dosis de neutrones, disminuye mientras que el denominador permanece constante y el valor de RBE que se obtiene es menor de 1. A esta posible mezcla de células debe sumarse una marcada incertidumbre sobre la compleja dosimetría de los neutrones y la posible contaminación de éstos con neutrones con otras energías y con cantidades indeterminadas de rayos  $\gamma$  (70).

Como ya se indicó, también existen trabajos en los que se encontraron RBEs mayores de 1 para la inducción de letales recesivos. Esto ha sido confirmado en experimentos más recientes en los que se usaron métodos dosimétricos más exactos y se evitó la mezcla de esperma con células más inmaduras (24, 26). Para explicar esta mayor eficiencia de los neutrones con respecto a los rayos X prácticamente no se han elaborado hipótesis, con la excepción de la propuesta por González (1972), que como se verá en la Discusión, sugiere que los RBEs mayores de 1 indicarían diferencias en la calidad de los daños inducidos por ambos agentes.

Del análisis de la literatura resulta evidente que la sola determinación del RBE no arroja nueva luz sobre las discrepancias existentes respecto de la inducción de letales

recesivos. La dificultad mayor reside en que no se conoce enteramente la incidencia de las variables que influyen la determinación del RBE, tales como la energía de la radiación usada, la dosis, el LET, la tensión de oxígeno, la célula tratada, etc.

Parece razonable pensar que el análisis directo de las lesiones inducidas por neutrones en *Drosophila*, puede contribuir a esclarecer si los letales inducidos por éstos resultan de daños que en algún aspecto difieren de los inducidos por rayos X, sobre lo cual existen algunos estudios (40, 41). Este trabajo se refiere al mapeo y caracterización de letales recesivos ligados al sexo inducidos por neutrones monoenergéticos de 3 MeV. Entendemos que además del interés intrínseco que ello tiene, puede contribuir a dar una base más concreta a las diferencias observadas entre la eficiencia de los neutrones y la de los rayos X en la inducción de dichos letales.

## MATERIALES Y METODOS

A fin de caracterizar las mutaciones letales recesivas ligadas al sexo (l.r.l.s.) inducidas por neutrones en Drosophila melanogaster se procedió a: 1) Inducir mutaciones en el cromosoma X; 2) Seleccionar aquellas localizadas en un segmento cromosómico elegido previamente; 3) analizar las mismas mediante pruebas de complementación.

## A) INDUCCION DE MUTACIONES RECESIVAS LIGADAS AL SEXO

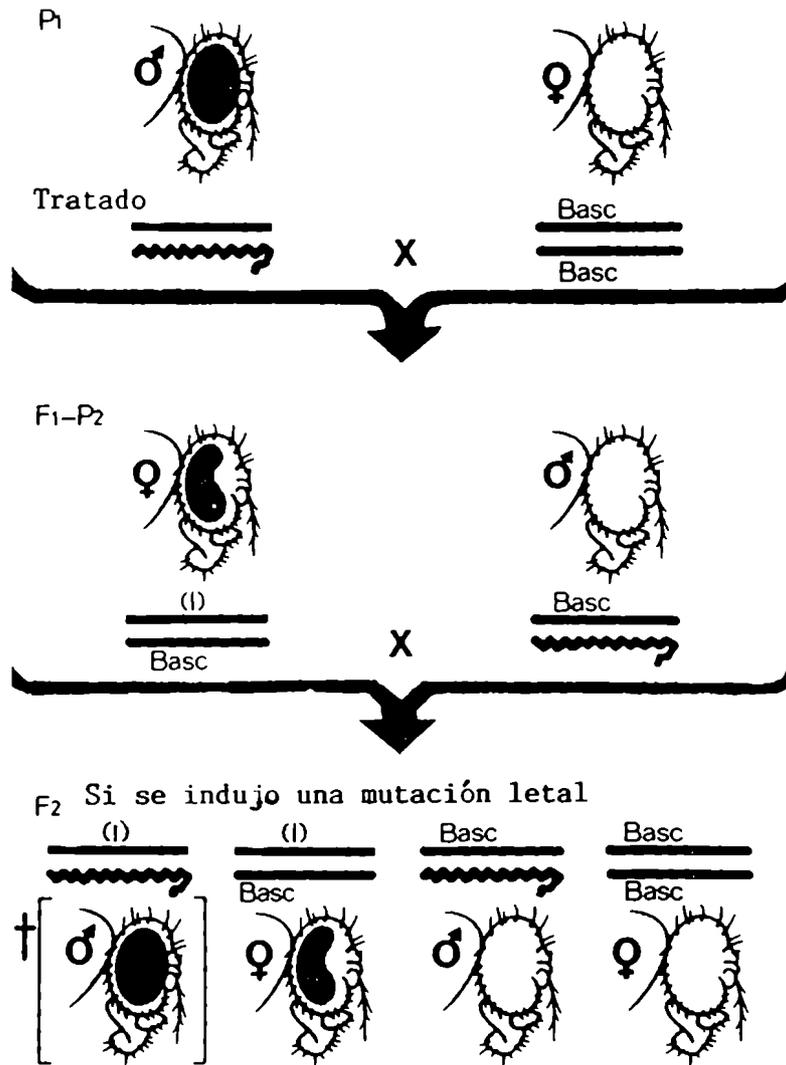
La prueba que se utiliza para la detección de l.r.l.s. (o visibles) en *Drosophila* es clásica. Se basa en que en este organismo a) las hembras son de constitución XX; b) los machos son XY; c) el cromosoma Y carece prácticamente de información genética, con la excepción de su segmento más proximal donde se localizan genes para fertilidad, algunos para viabilidad poco conocidos y el locus que codifica el RNA ribosómico. La deficiencia parcial de este último da lugar a la mutación "bobbed" (bb), caracterizada por abdomen corto y deformado. Es decir que toda mutación en el cromosoma X, aún cuando sea de carácter recesivo, determina una alteración en el fenotipo de los machos al carecer éstos de los alelos normales correspondientes. En el caso de mutaciones con efecto letal, los machos portadores de dicho cromosoma X no aparecen en los cultivos, salvo que el letal se localice en o alrededor del locus para "bb" o que el cromosoma Y del macho sea portador de una duplicación del cromosoma X. En este caso aparecerán en el cultivo machos portadores del cromosoma mutado sólo si el

letal se localiza en el segmento del X para el cual el macho es parcialmente diploide.

La prueba de inducción y detección de l.r.l.s. consiste esencialmente en tratar machos de una cepa silvestre y cruzarlos por hembras vírgenes homocigotas para un cromosoma X genéticamente marcado con mutaciones visibles y con inversiones (recombinantes no viables). Estos cromosomas se conocen como balanceadores y permiten el seguimiento del cromosoma X tratado, que debido a la falta de intercambio con su homólogo, conserva la constitución original y la mutación letal en caso de haberse inducido (Fig. 2). En la actualidad existen muchos cromosomas de este tipo y en este trabajo hemos utilizado uno de los primeros sintetizados por Muller que se conoce como "Basc" y cuya constitución genética es  $\underline{\text{In}(1)\text{sc}^{s11}\text{sc}^{8R_s,\text{sc}^{S1}\text{sc}^8\text{w}^a\text{B}}$ . Este cromosoma posee además de inversiones, una mutación visible recesiva "white apricot" ( $w^a$ ) (ojos de color damasco) y una mutación dominante "Bar" (B) (ojo en barra) que es la que en realidad permite seguir el cromosoma en los cruzamientos. Esta mutación tiene la particularidad de que en heterocigosis en las hembras confiere al ojo una forma de poroto, mientras que en homocigosis el ojo aparece como una barra muy fina. El ojo de los machos es también fino debido a que el cromosoma Y carece del alelo normal para "B". Para la descripción completa de todas las mutaciones visibles mencionadas en este trabajo ver Lindsley y Grell (1968).

En la F1 del cruzamiento anterior todas las hembras son heterocigotas para el cromosoma tratado y el cro-

FIG. 2 : DETECCIÓN DE LETALES RECESIVOS LIGADOS AL SEXO EN Drosophila melanogaster USANDO LA CEPA "BASC"



(de WURGLER et al., 1977)

mosoma "Basc", tienen el ojo en forma de poroto y todos los machos llevan el cromosoma "Basc" (Fig. 2). Como cada una de estas hembras lleva un cromosoma X que representa un espermatozoide tratado en el macho, es indispensable probar dichas hembras individualmente a fin de verificar si son portadoras de un cromosoma X mutado y estimar así la frecuencia con que ocurrió dicho evento. Se cruza una hembra por dos o tres machos hermanos (o de igual constitución genética provenientes de un cultivo "Basc" homocigota) y cuando nace la F2 se analiza la misma teniendo en cuenta que deben aparecer: hembras homocigotas "Basc"; hembras heterocigotas para "Basc" y el cromosoma tratado (portadoras); machos "Basc" y machos normales que llevan el cromosoma X tratado. Si se indujo una mutación letal éstos machos no aparecen en el cultivo.

Para esta experiencia se usaron machos de 7 días de edad de la cepa silvestre "Oregon K", que fueron irradiados con neutrones monoenergéticos de 3 MeV producidos a través de la reacción D-D (deuterón-deuterón) utilizando un acelerador electrostático Van de Graaff (400 kV, 250  $\mu$ A). La dosimetría de los neutrones se llevó a cabo con detectores de azufre activado y la calibración se hizo utilizando cámaras de ionización equivalentes a tejido. En la posición en que fueron colocadas las moscas la dosis fué de 6 Rads por minuto. Las moscas fueron irradiadas en cámaras de nylon tejido equivalente, a través de las cuales se hizo pasar una corriente de aire húmedo para evitar anoxia y desecación durante la irradiación. Se llevaron a cabo

tres series experimentales durante las cuales las dosis medias absorbidas fueron 21, 22 y 22,10 Gy.

Después de la irradiación cada macho tratado fué apareado individualmente con dos o tres hembras vírgenes "Basc" en un tubo con medio de cultivo común (agar, harina de maíz, glucosa y levadura) durante la noche por un total de 12 horas. Después de dicho período los machos fueron descartados y a las hembras se les permitió continuar con la oviposición en el mismo tubo. El procedimiento empleado asegura el muestreo de células germinales que en el momento de la irradiación de los machos se encontraban en el último estado de maduración: esperma maduro. Los machos se cruzaron individualmente para permitir la detección de "clusters" o racimos de mutaciones de un mismo origen, resultantes de la multiplicación mitótica de una célula germinal temprana portadora de una mutación de aparición espontánea. Es importante poder identificar estos "clusters" porque su inclusión en los datos finales, como mutaciones de origen independiente, puede distorsionar la frecuencia de letales computados.

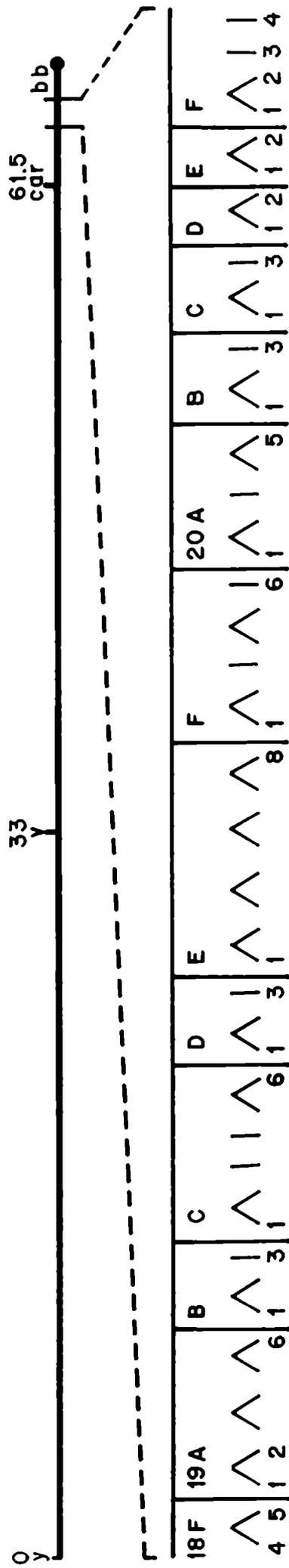
Las hembras de la F1 se cruzaron en la forma indicada más arriba y a los 4-5 días de nacida la F2 se revisaron los tubos para establecer si aparecían mutaciones letales. De los tubos con presuntos letales, es decir sin machos silvestres portadores del cromosoma tratado, se tomaron 2-3 hembras y se cruzaron por 3-4 machos "Basc" hermanos, a fin de verificar si realmente se trataba de un cromosoma portador de una mutación letal. En aquellos casos

en que la prueba confirmó la existencia del letal éste fué numerado y la cepa, automáticamente balanceada, se guardó en la forma habitual para el análisis que se indica en el punto siguiente.

#### B) SELECCION DE LETALES LOCALIZADOS EN EL SEGMENTO PROXIMAL A ESTUDIAR

Hembras vírgenes de cada una de las cepas portadoras de letales se cruzaron con 2 clases diferentes de machos: a) Df.(1) B-111/mal<sup>+</sup>.Y y b) Df.(1) B-12/mal<sup>+</sup>.Y. El cromosoma Y de estos machos es portador de una duplicación parcial del cromosoma X que incluye el alelo normal de la mutación recesiva "maroon like" (mal). La duplicación tiene un largo aproximado de 53 bandas del cromosoma politénico de glándulas salivales, extendiéndose de la Sección 18 F4-5 hasta la Sección 20 F4 próxima al centrómero y determina el largo del segmento cromosómico a estudiar (Fig. 3). El cromosoma X de los machos indicados en a) tiene la deficiencia B-111 que según Lifschytz y Falk (1969) tendría un largo aproximado a la mitad derecha (proximal) del segmento cubierto por la duplicación unida al Y. Nuestro análisis y el de otros autores (71, 72) indican que en realidad dicha deficiencia sólo afecta el tercio más proximal de dicho segmento. Los machos indicados en b) (B-12) según Lifschytz y Falk (1969) serían deficientes para la mitad izquierda (distal) del segmento analizado, pero los mismos estudios ya señalados indican que dicha deficiencia solamente afecta el tercio medio del segmento cubierto por el cromosoma mal<sup>+</sup>. Y (Fig. 3).

**FIG. 3 : SEGMENTO CROMOSOMICO ANALIZADO Y SU RELACION CON LAS BANDAS DEL CROMOSOMA POLITENICO DE GLANDULAS SALIVALES. ABAJO: EXTENSION DE LAS DEFICIENCIAS B-111 Y B-12 Y DE LA Duplicacion mal+.y**



B-111

B-12

mal+.y

Cuando se cruzan hembras portadoras de un letal en el cromosoma X con estos machos, en la F1 aparecerán machos portadores del cromosoma con el letal sólo si el mismo se encuentra ubicado en la zona "cubierta" por la duplicación unida al Y. De esta forma se seleccionaron los letales en la región a estudiar y se descartaron los restantes. El uso de machos portadores de un cromosoma X con una deficiencia parcial de la zona elegida (deficiencia B-111 o B-12) facilita hacer una primera localización del letal en estudio, ya que en la F1 no aparecerán hembras portadoras del cromosoma X tratado (aportado por la madre) si éste tiene su letal en la zona para la cual el cromosoma X del padre es deficiente (Fig. 4, 5 y 6).

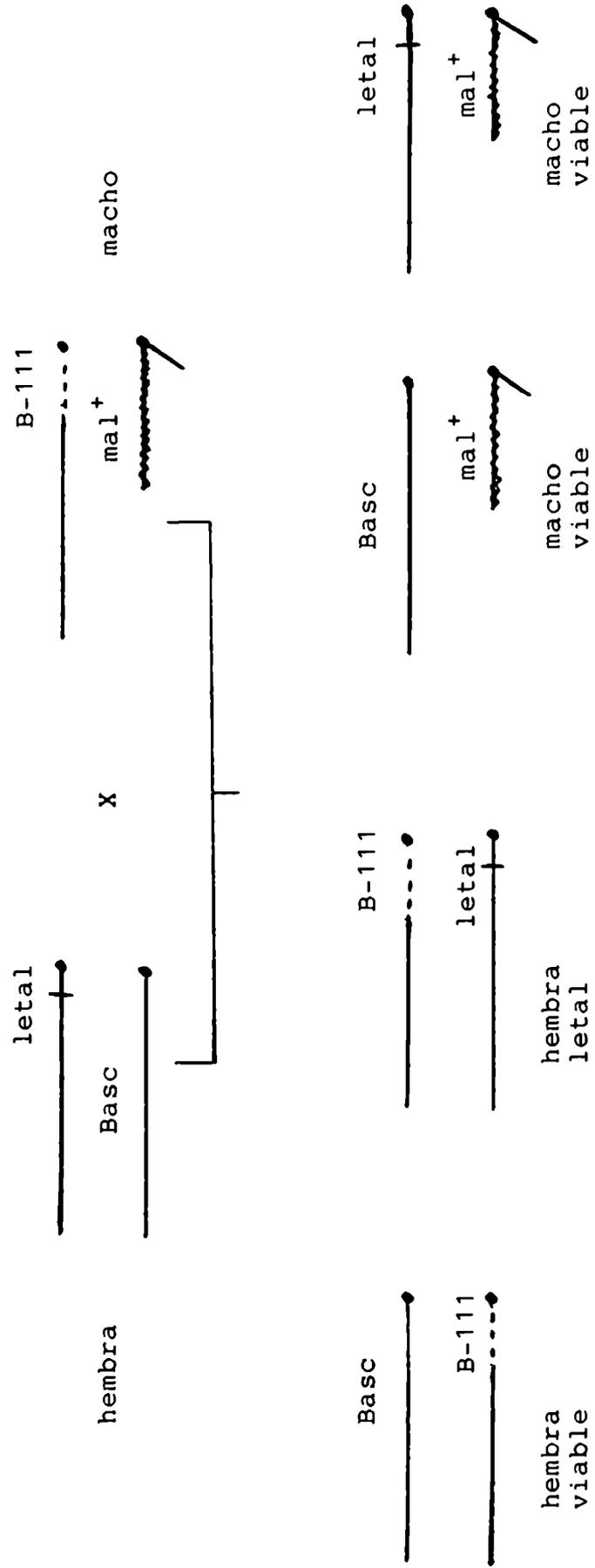
Después de esta primera localización, los machos portadores de letales se cruzaron con hembras vírgenes "Basc" para obtener cepas balanceadas que se numeraron para su posterior análisis, siendo mantenidas en la forma habitual.

#### C) ANALISIS DE LOS LETALES

Como se indicó en la Introducción, el propósito de este trabajo fué caracterizar los letales recesivos detectados después de irradiar con neutrones. Por ejemplo, si se trata de lesiones cromosómicas simples o de lesiones múltiples muy próximas unas de otras, tamaño de las lesiones, etc.

Resulta prácticamente imposible realizar un estudio de esta naturaleza con letales inducidos a lo largo de todo un cromosoma y por ello es necesario restringir el a-

**FIG. 4:** DETECCION DE LETALES EN EL CROMOSOMA X CUBIERTOS POR EL CROMOSOMA mal<sup>+</sup>.Y  
 LETALES ALELICOS A LA DEFICIENCIA B-111



**FIG. 5 : DETECCION DE LETALES EN EL CROMOSOMA X CUBIERTOS POR EL CROMOSOMA mal<sup>+</sup>.Y  
 LETALES CUBIERTOS PERO NO ALELICOS A LA DEFICIENCIA B-111**

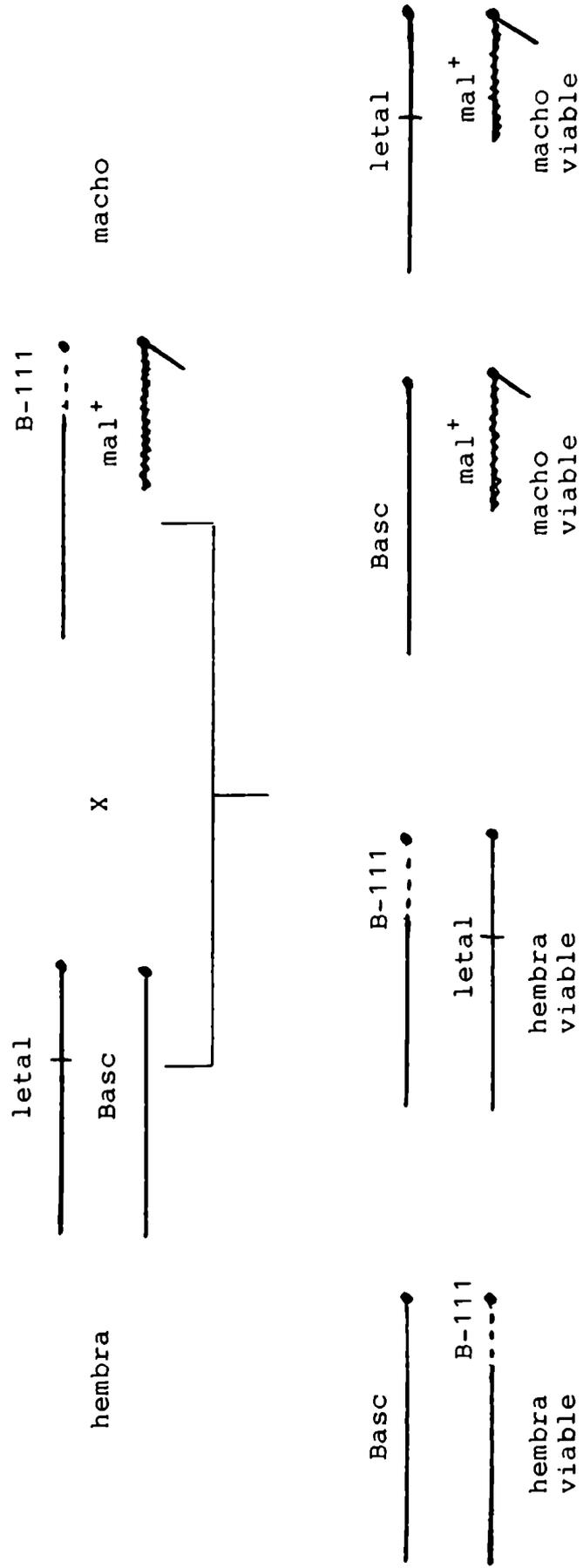
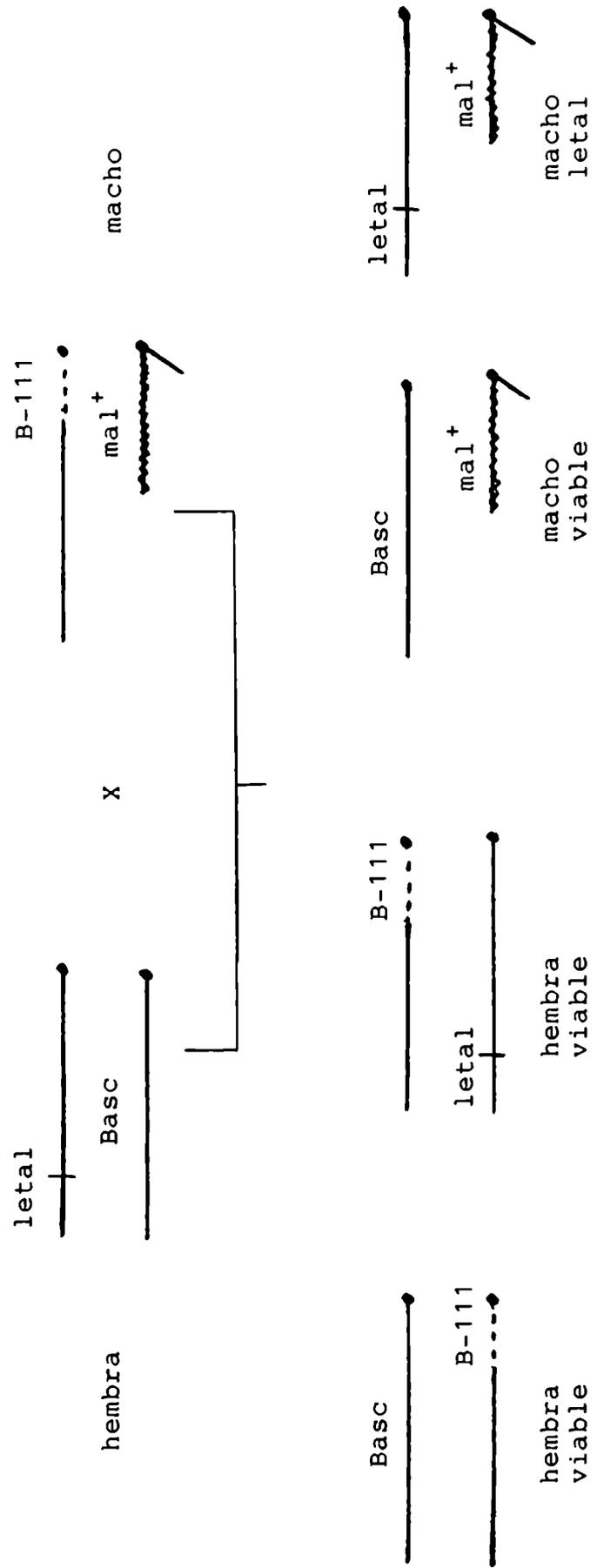


FIG. 6 : DETECCION DE LETALES EN EL CROMOSOMA X CUBIERTOS POR EL CROMOSOMA mal<sup>+</sup>.Y.-  
 LETALES NO CUBIERTOS



nálisis a letales localizados en un segmento cromosómico preseleccionado. El mapa genético de dicho segmento debe ser lo suficientemente preciso como para permitir localizar los letales a analizar y determinar los puntos de ruptura cromosómicos en caso de que se deban a deficiencias. Como se indicó más arriba, para este trabajo se eligió el segmento más proximal del cromosoma X, identificado en el cromosoma politénico de glándulas salivales como las Secciones 19 y 20, que fué mapeado por Lifschytz y Falk (1960, 1969), cruzando entre si mutaciones letales y deficiencias que indujeron con Etil Metanosulfonato y rayos X. La localización de los letales inducidos por neutrones, tomando en cuenta dicho mapa y usando las mutaciones inducidas por los citados autores, mostraron muchas inconsistencias, lo que puso en tela de juicio la exactitud del mapa.

Este hecho obligó a un nuevo análisis de todo el segmento cromosómico elegido, como paso previo a la interpretación de los resultados obtenidos hasta ese momento y a la caracterización final de los letales. Dicha tarea se llevó a cabo en colaboración con el Dr. A. Schalet y para la misma fué necesario repetir prácticamente todos los cruzamientos hechos por los citados autores y hacer adicionalmente pruebas de alelismo entre las mutaciones inducidas por ellos y las deficiencias y mutaciones mencionadas en la Tabla 1, inducidas por otros autores. También se usaron algunos de los letales y deficiencias descritos en este trabajo. Las mutaciones, duplicaciones y deficiencias del cromosoma X unidas al cromosoma Y indicadas en la Tabla se

TABLA 1: CROMOSOMAS USADOS PARA EL ANALISIS DE LETALES  
INDUCIDOS POR NEUTRONES

---

A) Mutaciones letales	<u>Origen</u>	<u>Referencias</u>
AA-33	Lifschytz y Falk	(41 y 42)
w-1	"	"
w-2	"	"
w-4	"	"
w-5	"	"
E-81	"	"
R-9-29	"	"
R-9-28	"	"
R-10-1	"	"
B-96	"	"
B-56	"	"
B-214	"	"
A-112	"	"
E-54	"	"
Q-217	"	"
Q-464	"	"
Q-56	"	"
Q-456	"	"
R-10-10	"	"
R-9-10	"	"
P-19	"	"
Q-463	"	"
x-4	"	"
R-9-18	"	"
3-Des	"	"
D-13	"	"
x-2	"	"
114	"	"
LB20	Schalet	(71 y 72)
LB14	"	"
LB11	"	"
ELC1	"	"
25C4	"	"

TABLA 1: (Continuación)

## B) Fenotipos visibles asociados a mutaciones

<u>Designación</u>	<u>Símbolo</u>	<u>Descripción</u>	<u>Referencias</u>
outheld	ot	Alas levantadas	(2,45,71,72)
short wings	sw	Alas cortas, irregulares	"
melanized	mel	Tergites oscuros	"
maroonlike	mal	Color de ojos	"
melanizedlike	mell	Similar a mel	"
legless	leg	Patas traseras ausentes	"
litle fly	lf	Mosca pequeña	"
varied outspread	vao	Alas abiertas, ojos moteados	"
uncoordinated	unc	Incoordinación en patas	"
litle fly-like	lfl	Parecido a lf	"
extra organs	eo	Antenas y patas bifurcadas	"
wings apart	wap	Alas abiertas levemente	"
uncoordinated-like	uncl	Similar a unc	"
sparse hairs	spf	Pelos escasos	
suppressor of forked	su(f)	Suprime el efecto de forked. Setas pequeñas	

## C) Deficiencias cromosómicas

	<u>Origen</u>	<u>Referencias</u>
A-118	Lifschytz y Falk	(41,42,72)
B-57	"	"
B-12	"	"
B-111	"	"
mal-10	Schalet	(71,72)
mal-6	"	"
T2-14A	"	"
T2-4A	"	"

## D) Duplicaciones

	<u>Origen</u>	<u>Referencias</u>
mal <sup>+</sup> .Y	Lifschytz y Falk	(41,42)
y <sup>+</sup> .Y.mal <sup>+</sup>	Schalet	(71,72)
y <sup>+</sup> .Y.mal <sup>126</sup>	"	"
y <sup>+</sup> .Y.B <sup>S</sup>	"	"

muestran en las Figs. 7 y 8. Como resultado se obtuvo un nuevo mapa del segmento. Dado que la construcción del nuevo mapa escapa totalmente al objetivo de esta tesis, los resultados de las innumerables pruebas de complementación que demandó dicha tarea y los fundamentos que justifican su configuración actual no serán analizados aquí. Sólo se hará referencia a aspectos estrictamente relacionados con este trabajo, como por ejemplo la identificación de nuevas unidades de complementación en el segmento y el resultado de los cruzamientos que dan fundamento a la localización de los letales y deficiencias cromosómicas inducidos por neutrones.

El nuevo mapa, usado para la localización de los letales inducidos por neutrones se muestra en la parte inferior de la Fig. 8, en donde se han indicado las unidades de complementación con efecto letal. En la parte media de la Figura se indican las mutaciones visibles. Algunas de las mutaciones descritas inicialmente como letales (41, 42) resultaron ser en realidad mutaciones semiletal con efecto visible (71), (unidades 10, 15, 16, 22, 23, 25, 32 y 33). En la parte superior de esta Figura se muestra la extensión de las deficiencias más frecuentemente usadas para el mapeo y de las duplicaciones  $mal^+Y$  y  $y^+.Y.B^S$ . En la Figura también se muestra la relación existente con las Secciones 19 y 20 del cromosoma politénico de glándulas salivales.

El análisis de los letales permitió identificar tres nuevas unidades de complementación elevándose así a

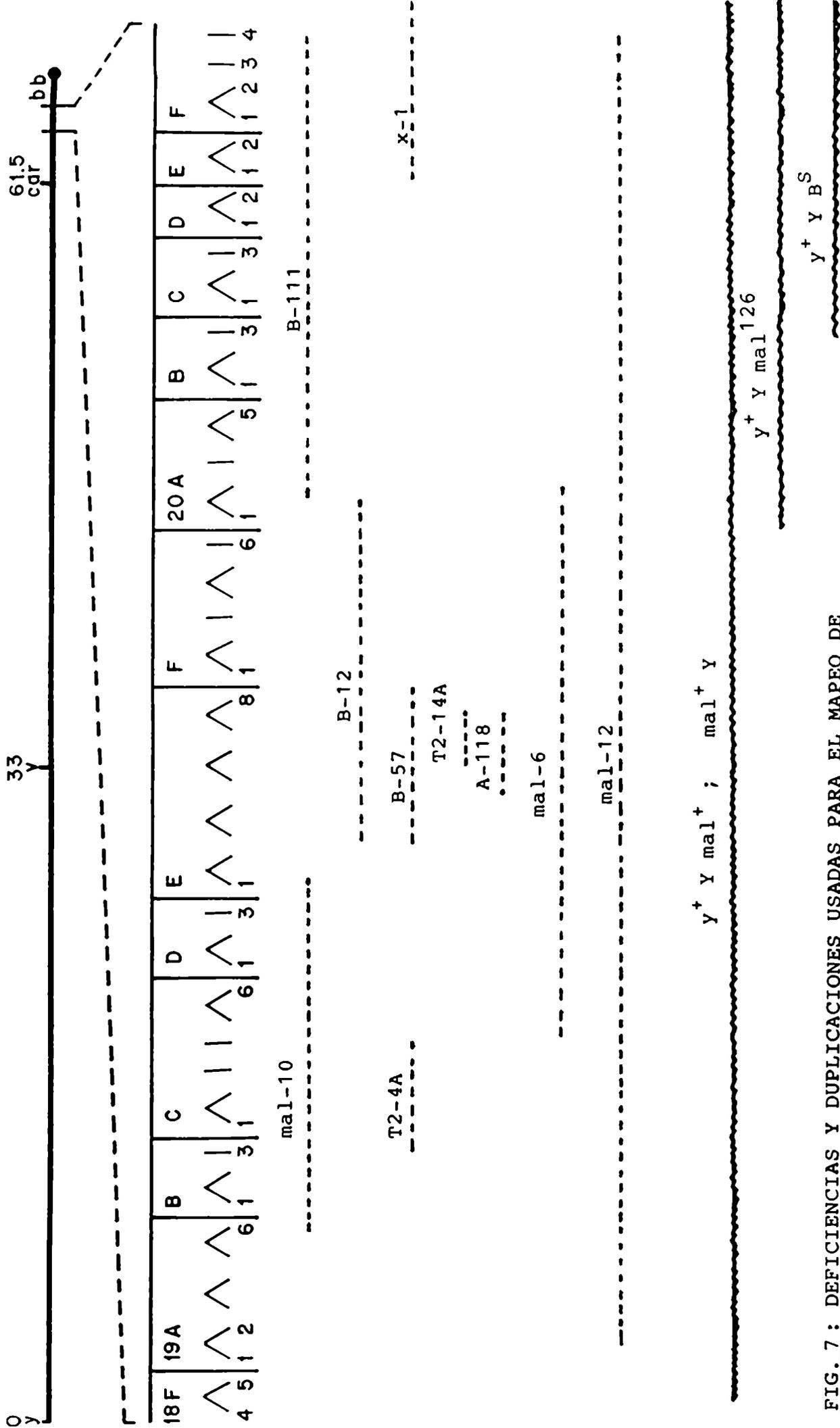


FIG. 7 : DEFICIENCIAS Y DUPLICACIONES USADAS PARA EL MAPEO DE LOS LETALES INDUCIDOS. ARRIBA: SEGMENTO CROMOSOMICO ESTUDIADO Y SU RELACION CON EL CROMOSOMA POLITENICO DE GLANDULAS SALIVALES

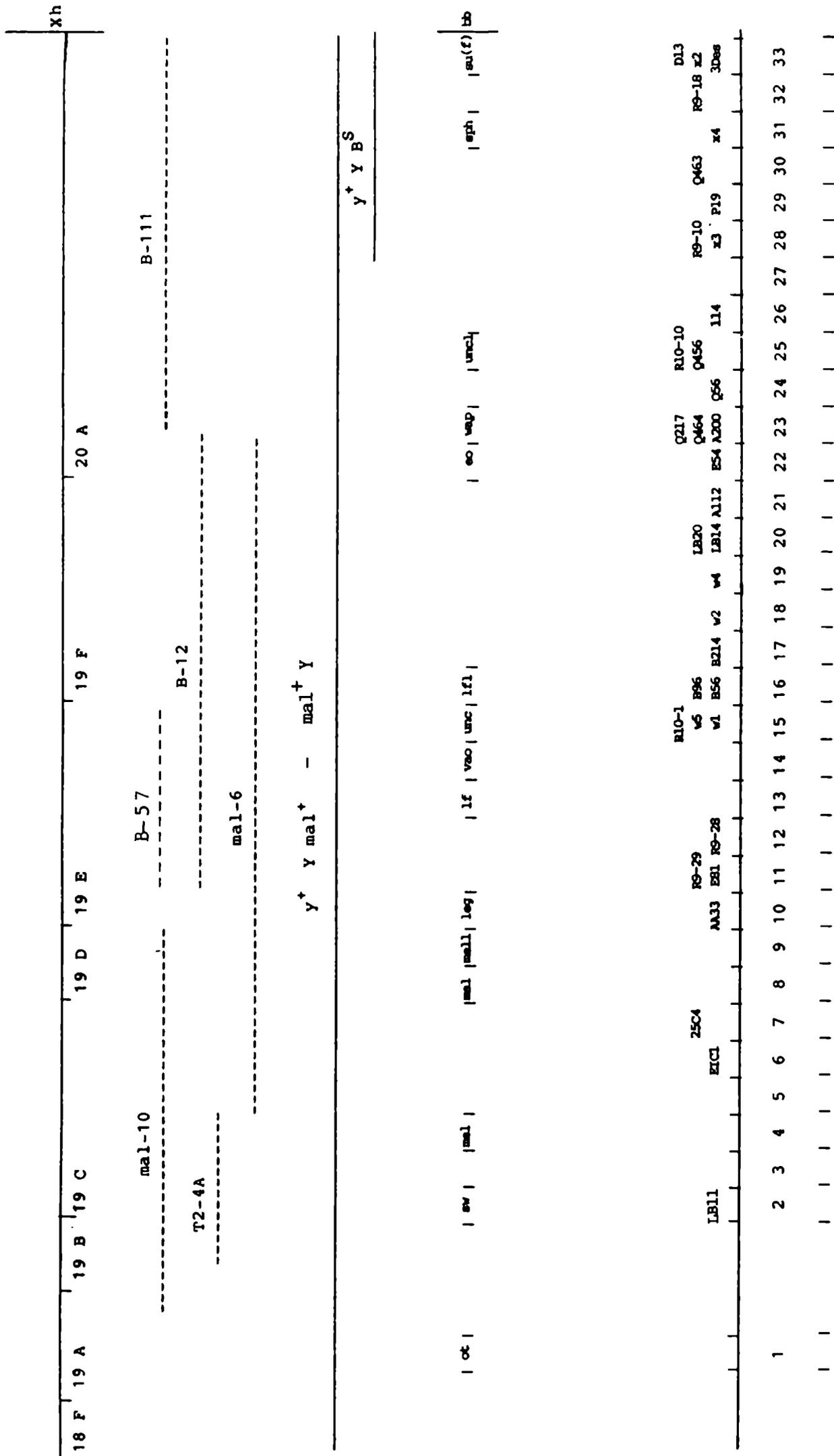


FIG. 8: MAPA DEL SEGMENTO PROXIMAL DEL CROMOSOMA X CUBIERTO POR LA DUPLICACION mal<sup>+</sup>. Y

33 el número de unidades en el segmento en estudio. La localización de estas unidades en el mapa se indicará oportunamente. Todas las unidades de complementación han sido numeradas del 1 al 33 de izquierda a derecha con el objeto de facilitar su identificación y determinar el largo de las deficiencias inducidas.

Hecha esta aclaración, se describirá la metodología empleada a fin de caracterizar las mutaciones letales inducidas por neutrones. Como se indicó en el punto B) estas mutaciones se balancearon con el cromosoma "Basc". En una primera etapa moscas (hembras o machos) provenientes de cada una de estas cepas se cruzaron con machos o hembras de todas las otras cepas obtenidas en la siguiente forma:  $l^1/Basc \times l^2/mal^+.Y$ ;  $l^1/Basc \times l^3/mal^+.Y$ , etc. La única excepción la constituyeron aquellos casos en que los machos de ambas cepas a ser cruzadas entre si resultaron estériles. Si bien "a priori" parecería como superfluo cruzar letales alélicos a las deficiencias B-111 o B-12 con aquellos que no lo eran, la posible existencia en el mismo cromosoma X de dos o más letales independientes cubiertos por la duplicación  $mal^+.Y$ , alguno de los cuales fuera alélico a dichas deficiencias y otro(s) no, obligó a proceder en la forma indicada. Debe recordarse además que la falta de un mapa confiable del segmento elegido cuando comenzó el trabajo, dió origen a incertidumbres que obligaron a hacer cruzamientos que a la luz del resultado final aparecen como innecesarios. Sin embargo, fué gracias a este aparente exceso de cruzamientos que se pudo corregir el mapa del seg-

mento y ubicar los letales con precisión como se verá en Resultados.

La prueba de alelismo prosiguió cruzando cada letal con moscas portadoras de duplicaciones y deficiencias de diferentes longitudes y con mutaciones letales o visibles localizadas genética o citológicamente por otros autores que figuran en la Tabla 1. En todos los casos dos letales se consideraron alélicos cuando los cruzamientos no produjeron ninguna hembra heterocigota para ambos letales, la frecuencia de éstas estuvo muy disminuída, en cuyo caso se investigó la existencia de un posible efecto semi letal o cuando se detectó un efecto visible.

Con este procedimiento es posible no solo la localización de los letales sino también determinar la extensión de la zona afectada. Se siguió en este caso el mismo criterio usado en la etapa previa en que nuestros letales se cruzaron todos "inter se" y se procedió a un análisis exhaustivo a fin de detectar letales múltiples.

Dado que los daños en algunas de las cepas utilizadas para mapear los letales tienen puntos de ruptura o localización conocida en el mapa de cromosomas politénicos, es posible hacer una correlación entre dicho mapa y la ubicación y extensión de la zona dañada.

Todos los cruzamientos descritos se hicieron por triplicado utilizando una hembra y un macho por tubo y los cultivos se mantuvieron a 25° C.

Las comparaciones estadísticas se hicieron utilizando la prueba de Anova y los contrastes de medias median-

te la comparación de Scheffe.

Durante el análisis de los letales inducidos, éstos fueron codificados con los prefijos 14-, 15-, 16-, 17-, 18- y 19-, por ejemplo: l(1)16-3-93. Esto se hizo con fines puramente prácticos para facilitar su identificación dentro del laboratorio con respecto al experimento en que se indujo, el subcultivo, etc. Lamentablemente muchos de estos letales fueron solicitados por otros investigadores antes de que fueran numerados en forma definitiva para ser usados con distintos propósitos y han sido citados usando dicha denominación. A fin de evitar confusiones que puedan surgir en la literatura, en la Tabla 2 figura la designación transitoria referida y la definitiva que es la usual y consiste de un número precedido por la letra n (de neutrón). Por ejemplo: l(1) n89, donde la l significa letal que afecta una sola unidad de complementación y (1) cromosoma X o N<sup>o</sup>1. Las mutaciones letales que afectan más de una unidad de complementación son deficiencias cromosómicas y han sido designadas por ejemplo: Df.(1) n60, etc.

TABLA 2 : DESIGNACION DE LOS LETALES MAPEADOS EN EL SEGMENTO  
PROXIMAL DEL CROMOSOMA X. A) DEFICIENCIAS

---

<u>Transitoria</u>	<u>Definitiva</u>	<u>Transitoria</u>	<u>Definitiva</u>
16-2-14	Df(1)n1	17-466	Df(1)n48
16-2-17	" n2	17-439	" n49
16-3-71	" n3	17-252	" n50
16-3-93	" n4	17-19	" n51
16-3-145	" n5	17-257	" n52
16-3-211	" n6	17-241	" n53
15-13	" n7	17-322	" n54
15-17	" n8	14-11	" n55
18-6	" n9	16-3-139	" n56
17-319	" n10	18-70	" n57
18-30	" n11	17-369	" n58
18-57	" n12	16-3-95	" n59
18-67	" n13	17-351	" n60
17-459	" n14	16-1-29	" n61
17-196	" n15	18-80	" n62
17-408	" n16	16-3-160	" n63
16-1-79	" n17	17-190	" n64
16-2-3	" n18	17-90	" n65
17-401	" n19	16-3-35	" n66
17-274	" n20	16-3-53	" n67
17-148	" n21	16-2-19	" n68
17-441	" n22	16-3-20	" n81
17-123	" n23	17-454	" n83
18-61	" n24	17-228	" n96
16-1-85	" n25	18-74	" n99
16-3-112	" n26	16-2-5	" n101
16-3-162	" n27	17-25	" n102
17-87	" n28		
17-137	" n29		
17-59	" n30		
17-412	" n31		
17-8	" n32		
18-36	" n33		
17-244	" n34		
17-489	" n35		
19-2	" n36		
16-1-88	" n37		
19-18	" n38		
16-3-23	" n39		
16-3-129	" n40		
16-3-153	" n41		
16-3-46	" n42		
16-3-34	" n43		
17-326	" n44		
16-1-80	" n45		
16-2-13	" n46		
18-76	" n47		

TABLA 2: (Continuación) B)LETALES

---

<u>Transitoria</u>	<u>Definitiva</u>
16-3-98	1(1)n69
16-1-27	" n70
17-234	" n71
17-238	" n72
17-457	" n73
16-2-9	" n74
17-26	" n75
17-44	" n76
17-169	" n77
16-3-212	" n78
17-456	" n79
16-3-190	" n82
16-3-119	" n84
17-96	" n85
17-189	" n86
17-360	" n87
17-62	" n89
16-1-49	" n90
17-347	" n91
16-3-4	" n92
17-410	" n93
14-1	" n94
17-36	" n95
17-260	" n97
17-427	" n98
16-2-27	" n100
17-344	" n103

## RESULTADOS

### A) Frecuencia de letales en el cromosoma X

La Tabla 3 resume los resultados obtenidos en las pruebas de letales recesivos ligados al sexo. Las frecuencias de letales inducidos se obtuvieron excluyendo los cultivos estériles y fueron: 6,8% (355/5245), 8,7% (606/6958) y 9,8% (48/491) con dosis de 21, 22 y 22,1 Gy respectivamente.

Las pequeñas diferencias de dosis entre las tres repeticiones se deben a que cuando se utilizan neutrones la dosimetría exacta se hace con posterioridad a la irradiación y no simultáneamente con ésta como sucede con otras radiaciones ionizantes, por lo que es dable esperar diferencias. Como las diferencias entre las frecuencias de letales obtenidos en los tres experimentos son bajas, todos los cromosomas tratados pueden sumarse y la frecuencia de letales inducidos calcularse sobre el total. Máxime aún cuando el propósito del trabajo no fué establecer relaciones dosis respuesta, sino coleccionar el mayor número posible de mutaciones letales recesivas en el cromosoma X, con el objeto de analizar la extensión de la zona afectada. Se obtuvieron en total 1009 mutaciones letales.

### B) Selección de letales cubiertos por el cromosoma mal<sup>+</sup>.Y

De los 1009 letales inducidos en el cromosoma X, 982 fueron probados para determinar su cobertura por el cromosoma mal<sup>+</sup>.Y, los restantes se perdieron durante el estable-

TABLA 3: FRECUENCIAS DE LETALES RECESIVOS LIGADOS AL SEXO INDUCIDAS POR NEUTRONES DE 3 MEV

Dosis (Gy)	Cromosomas probados	Estériles Nº	Estériles %	Letales Nº	Letales %
21	5825	580	9,96	355	6,77
22	7315	357	4,88	606	8,71
22,1	541	50	9,24	48	9,77
Total	13.679	987	7,21	1.009	7,95
Control	6.109	210	3,44	14	0,24

La frecuencia de letales se calculó excluyendo los cultivos que resultaron estériles debido a esterilidad de las hembras de la F1 portadoras del cromosoma tratado

cimiento de las cepas. Como se indicó en Materiales y Métodos, hembras vírgenes de la cepa a analizar se cruzaron con machos Df(1)B111/mal<sup>+</sup>Y y machos Df(1)B-12/mal<sup>+</sup>Y. En la Tabla 4 puede verse que 10,4% (102/982) de los letales inducidos estaban cubiertos por el cromosoma mal<sup>+</sup>Y; 95 fueron analizados exhaustivamente y mapeados y siete se perdieron durante el estudio. Los resultados resumidos en la Fig. 9 corresponden a estos 95 letales. De acuerdo al resultado los letales fueron divididos en: 1) no cubiertos por la duplicación unida al cromosoma Y, ni alélicos a ninguna de las dos deficiencias. Se encontraron 881 de estos letales y fueron descartados; 2) (Fig. 9) cubiertos por la duplicación y alélicos a la deficiencia B-111 (46 letales); 3) cubiertos y alélicos a la deficiencia B-12 (25 letales); 4) cubiertos y alélicos a las dos deficiencias (16 letales); 5) cubiertos pero no alélicos a ninguna de las dos deficiencias (8 letales). La ubicación de estos letales planteó un problema al comienzo del trabajo debido a que según Lifschytz y Falk (1969) la deficiencia B-111 abarcaría la mitad derecha y la deficiencia B-12 la mitad izquierda del segmento en estudio. Como se indicó en Materiales y Métodos, el remapeo del segmento indicó que dichas deficiencias son de menor tamaño (Fig. 3) y los letales de esta clase mapean a la izquierda de ambas, es decir en la porción más distal; 6) letales no cubiertos pero alélicos a ambas o a alguna de las dos deficiencias. Este grupo estaría formado por letales dobles, uno alélico a alguna de las deficiencias y en consecuencia cubierto por la duplicación y otro no cubierto, o por grandes

TABLA 4 : FRECUENCIAS DE LETALES CUBIERTOS POR EL  
CROMOSOMA mal<sup>+</sup>.Y

Dosis (Gy)	Letales probados	Cubiertos	
	N	N	%
21	337	37	10,98
22	599	61	10,18
22,1	46	4	8,69
Total	982	102	10,39

FIG. 9: ARRIBA: CROMOSOMA X POLITENICO DE GLANDULAS SALIVALES. ABAJO: CLASIFICACION DE LOS LETALES INDUCIDOS POR NEUTRONES DE ACUERDO AL RESULTADO OBTENIDO CRUZANDO HEMBRAS HETEROCIGOTAS PARA LOS LETALES EN EL CROMOSOMA X CON MACHOS PORTADORES DE LAS DEFICIENCIAS B-111 Y B-12

Clase 2: Letales alélicos a la deficiencia B-111

Clase 3: Letales alélicos a la deficiencia B-12

Clase 4: Letales alélicos a las dos deficiencias

Clase 5: Letales no alélicos a ninguna de las dos deficiencias

Clase 6: Letales alélicos a alguna de las dos deficiencias (o a ambas) pero no cubiertos por el cromosoma  $mal^+$ .Y

B-12

letales tipo 2:

1-2-3-4-5-6-7-8-9-10-11-12-13-  
14-15-16-17-18-19-20-21-22-23-  
24-25-26-27-28-43-44-45-46-47-  
48-49-50-51-74-82-83-90-91-92-  
93-99-81

letales tipo 3:

52-54-59-60-61-62-63-  
66-67-75-76-77-79-84-  
85-86-87-89-94-95-97-  
98-100-103-78

letales tipo 4:

29-30-31-32-33-34-35-36-37-  
38-40-53-55-56-58-96

mal<sup>+</sup> y

letales tipo 6:

39-41-42-57-64-65

deficiencias que, incluyendo a B-111 o B-12, se extienden distalmente hacia la izquierda del cromosoma X más allá del segmento en estudio. Se encontraron 6 de estos letales y aunque fueron analizados han sido excluidos de los cálculos finales por extenderse más allá del segmento preseleccionado.

### C) Análisis de los letales cubiertos por el cromosoma mal<sup>+</sup>Y

Con el objeto de localizar los letales en el segmento cromosómico elegido y de precisar la extensión de las deficiencias, se llevaron a cabo las pruebas de alelismo indicadas en Materiales y Métodos, y para la interpretación de los resultados se consideró que: i) dos letales no alélicos afectan unidades funcionales diferentes; ii) dos letales alélicos comparten por lo menos una unidad funcional; iii) un letal alélico a dos letales que no son alélicos entre sí, afecta como mínimo a dos unidades funcionales que pueden ser adyacentes o no.

Como se señaló en Materiales y Métodos los letales obtenidos en estos experimentos se cruzaron entre sí en todas las combinaciones posibles, al igual que con mutaciones y deficiencias de otros orígenes. Sin embargo, por razones de simplicidad y espacio, en las Tablas solamente se indican aquellos cruzamientos cuyos resultados dan fundamento a la localización final de los letales y a la determinación de la extensión de las deficiencias. Si bien los resultados de los cruzamientos que se omiten refuerzan dichas localizaciones y aseguran la falta de otra lesión letal en el mismo

cromosoma, a la luz del resultado final que se muestra en la Fi. 71 resultan redundantes y pueden inferirse observando la Figura. Siguiendo este mismo criterio también se han excluido resultados con letales alélicos, por ejemplo: en la parte media de la Fig. 71 puede verse que en la unidad 23 se localizan tres mutaciones semi letales alélicas, Q-217, Q-464 y A-200; en las Tablas de resultados sólo se han incluido los correspondientes a cruzamientos con el letal A-200. Los letales analizados que afectan las mismas unidades de complementación han sido agrupados en una misma Tabla.

1) Letales clase 2 (alélicos a la deficiencia B-111)

Lo expresado en los párrafos anteriores se ejemplifica con los resultados obtenidos con los letales n1, n7, n8, n13 y n81 que figuran en la Tabla 5 y han hecho posible la ubicación que se indica en la Fig. 10. Como puede verse, en la Tabla solo se menciona un alelo para cada unidad de complementación del mapa del segmento, a diferencia de lo que ocurre en la Fig. 10, en donde aparecen también los otros alelos empleados.

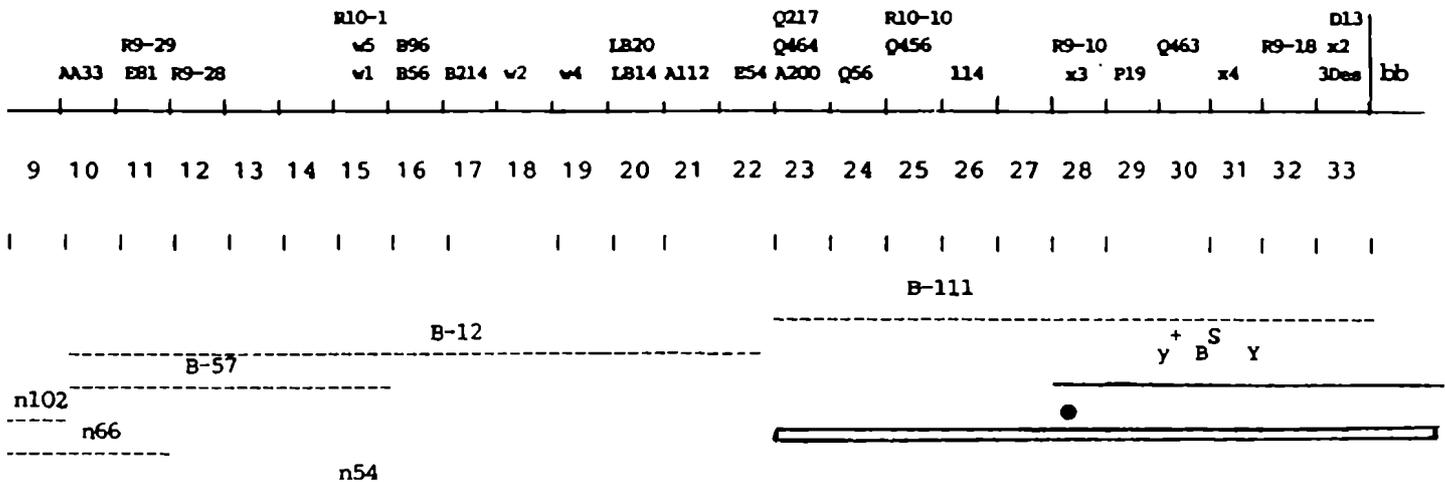
En la primera columna de las Tablas y bajo el título "combinación", se indica la composición de la hembra de la F1 esperada al cruzar una mosca portadora del letal analizado con otra portadora del cromosoma "probador". Si las hembras esperadas no aparecen en el cultivo o muestran algún efecto visible, significa que el letal investigado es alélico a la mutación letal o visible presente en el cromosoma.

TABLA 5 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
LOS LETALES n1-n7-n8-n13 y n81

<u>Combinación</u>		<u>Resultado</u>
letal	/ B-111	letal
probado	/ B-57	viable
	/ B-12	"
	/ n66	"
	/ n102	"
	/ A-200	letal
	/ Q-56	"
	/ Q-456	semi letal
	/ 114	letal
	/ x-3	"
	/ P-19	"
	/ Q-463	"
	/ x-4	"
	/ R-9-18	"
	/ 3-Des	"
	/ "bobbed letal"	letal
	/ n54	viable

No cubiertos por la duplicación y<sup>+</sup>. B<sup>S</sup>. Y

FIG. 10 : MAPEO DE LOS LETALES n1-n7- n8-n13 y n81 (●)



soma "probador". La viabilidad de estas hembras o su fenotipo normal indican que ambas mutaciones no son alélicas sino que se complementan.

El primer resultado de la Tabla 5 indica que los letales n1, n7, n8, n13 y n81 son alélicos a la deficiencia B-111, pero no aporta información sobre el número de unidades afectadas. En consecuencia, cada uno de estos letales debe ser probado con todas las mutaciones incluídas en dicha deficiencia. Los resultados de los correspondientes cruza- mientos con los letales A-200, Q-56, Q-456, 114, x-3, P-19, Q-463, x-4, R-9-18 y 3-Des (que se muestran en la misma co- lumna más abajo) indican que los letales investigados son alélicos a todos ellos, que todos son iguales por haber dado el mismo resultado, y que en realidad se trata de largas de- ficiencias que abarcan el fragmento más proximal del segmen- to analizado (unidades 23 a 33). Estas deficiencias son se- mejantes a la deficiencia B-111, pero a diferencia de ésta, se extienden hacia la heterocromatina pericentromérica e in- cluyen el alelo normal para "bobbed". A la luz del resultado final, aparece como obvio que estas deficiencias resultaran letales en combinación con todos los otros letales y defi- ciencias que afectan parcial o totalmente el segmento com- prendido entre las unidades 23 y 33 (Fig. 10), y según se expresó más arriba estos resultados no se indican en la Ta- bla por ser innecesarios para fundamentar el mapeo.

El hecho de que los letales n1, n7, n8, n13 y n81 sobrevivan en combinación con las deficiencias B-57, B-12, n66, n102 y n54 y que no muestren el fenotipo "outheld"

(ot), cuando se los cruza con una cepa portadora de esta mutación, indica que los cromosomas analizados son normales desde el punto de ruptura distal de la deficiencia B-111 hacia la izquierda (Fig. 10). Si bien los resultados de los cruzamientos con otras mutaciones que finalmente se encontró que mapean en este fragmento izquierdo corroboran estos resultados, tampoco se muestran en la Tabla porque resultan redundantes y podrían llevar a confusión. De acuerdo a estos resultados que indican que el efecto de las mutaciones letales analizadas se debe a deficiencias cromosómicas, la designación correcta de éstas es: Df(1)n1, Df(1)n7, etc.

#### Letal n6

Los resultados de la Tabla 6 indican que se trata de una deficiencia (Df(1)n6) similar a las anteriores, con la diferencia de que incluye solo parcialmente el locus normal para "bobbed", porque muestra este fenotipo en combinación con "bobbed lethal" (bbl); en éste y otros casos similares esto se indica con línea entrecortada (Fig. 11). Es oportuno aclarar que bbl es letal en combinación con una deficiencia, muestra un fenotipo "bobbed" muy marcado en combinación con "bb" y es normal con el alelo normal (45).

#### Letales n2, n3, n4, n5, n9, n10, n11\*, n12 y n14\*

En la Tabla 7 pueden verse los resultados de las pruebas de alelismo que fundamentan la localización de estos letales que se indica en la Fig. 12. Son deficiencias similares a la deficiencia B-111, es decir que no afectan el alelo normal para "bobbed", con la diferencia de que dos de ellas (marcadas con asteriscos) confieren esterilidad a los

TABLA 6 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n6

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n6 / B-111	letal
/ B-57	viabile
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	"
/ A-200	letal
/ Q-56	"
/ Q-456	semi letal
/ 114	letal
/ x-3	"
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "bobbed letal"	visible "bb"
/ n54	viabile

No cubierto por la duplicación  $y^+$ ,  $B^S$ . y

---

FIG.11 : MAPEO DEL LETAL n6 (●)

TABLA 7 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
LOS LETALES n2-n3-n4-n5-n9-n10-n11\*-n12 y n14\*

<u>Combinación</u>		<u>Resultado</u>
letal	/ B-111	letal
probado	/ B-57	viable
	/ B-12	"
	/ n66	"
	/ n102	"
	/ A-200	letal
	/ Q-56	"
	/ Q-456	semi letal
	/ 114	letal
	/ x-3	"
	/ P-19	"
	/ Q-463	"
	/ x-4	"
	/ R-9-18	"
	/ 3-Des	"
	/ "bobbed letal"	normal
	/ n54	viable

\* macho estéril

No cubiertos por la duplicación y<sup>+</sup>, B<sup>S</sup>. y

FIG. 12 : MAPEO de los letales n2-n3-n4-n5-n9-n10-n11\*-n12 y n14\* (●)

machos portadores. Se designan: Df(1)n2, Df(1)n3, etc.

#### Letales n15 y n16

Según se muestra en la Tabla 8 estas mutaciones, que sobreviven en combinación con bbl, son letales con todos los letales que se ubican a la izquierda de este locus, hasta la unidad 25 (Fig. 13). Es decir que se trata de deficiencias (Df(1)n15 y Df(1)n16). En combinación con las Df(1)n45 y n46, estas deficiencias muestran el fenotipo "uncoordinated-like" (uncl) (incoordinación de las patas) que tiene efecto semiletal. A todos los fines este efecto ha sido considerado como letal, debido a que las pocas moscas que logran emerger del pupario se pegan inmediatamente en la comida y mueren rápidamente porque no pueden caminar. Esta mutación sólo se detecta si después de vaciado el tubo de cultivo se inspecciona la comida en donde eventualmente pueden verse las moscas pegadas.

#### Letales n17\* y n18\*

En ambos casos se trata de deficiencias (Df(1)n17 y Df(1)n18) (Tabla 9) que confieren esterilidad a los machos y se extienden de la unidad 27 a la 33 (Fig. 14). En combinación con la Df(1)n47 muestran un efecto visible consistente en alas levemente abiertas y caídas en grados variables, con pequeñas ondulaciones, abdomen algo más ancho que el normal, setas del escutelo más finas y frecuentemente ausencia de algunas de ellas. Esta mutación, que define una nueva unidad de complementación en el segmento, ha sido designada "abnormal wings and bristles" (awb", está ubicada entre los letales 114 y x-3 y ha sido identificada en las Figuras con

TABLA 8 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
LOS LETALES n15 y n16

<u>Combinación</u>		<u>Resultado</u>
letal probado	/ B-111	letal viable
	/ B-57	"
	/ B-12	"
	/ n66	"
	/ n102	"
	/ A-200	"
	/ Q-56	"
	/ Q-456	semi letal
	/ 114	letal
	/ x-3	"
	/ P-19	"
	/ Q-463	"
	/ x-4	"
	/ R-9-18	"
	/ 3-Des	"
	/ "bobbed letal"	normal
	/ n45	viable

No cubiertos por la duplicación y<sup>+</sup>. B<sup>S</sup>. Y

FIG. 13: MAPEO DE LOS LETALES n15 y n16 (●)

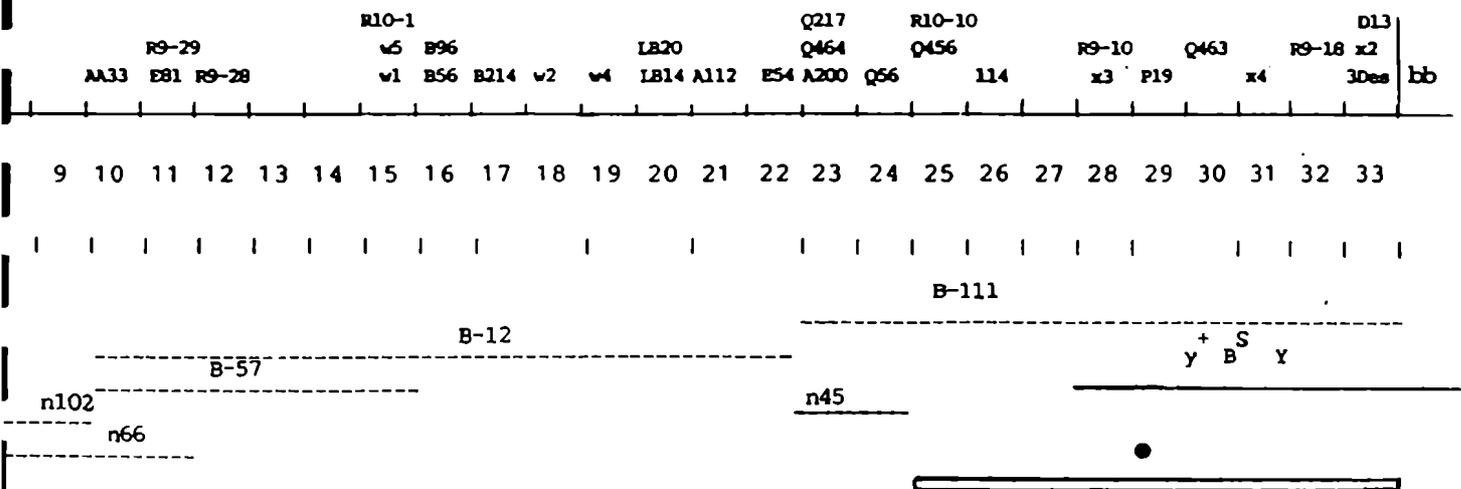


TABLA 9 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
LOS LETALES n17\* y n18\*

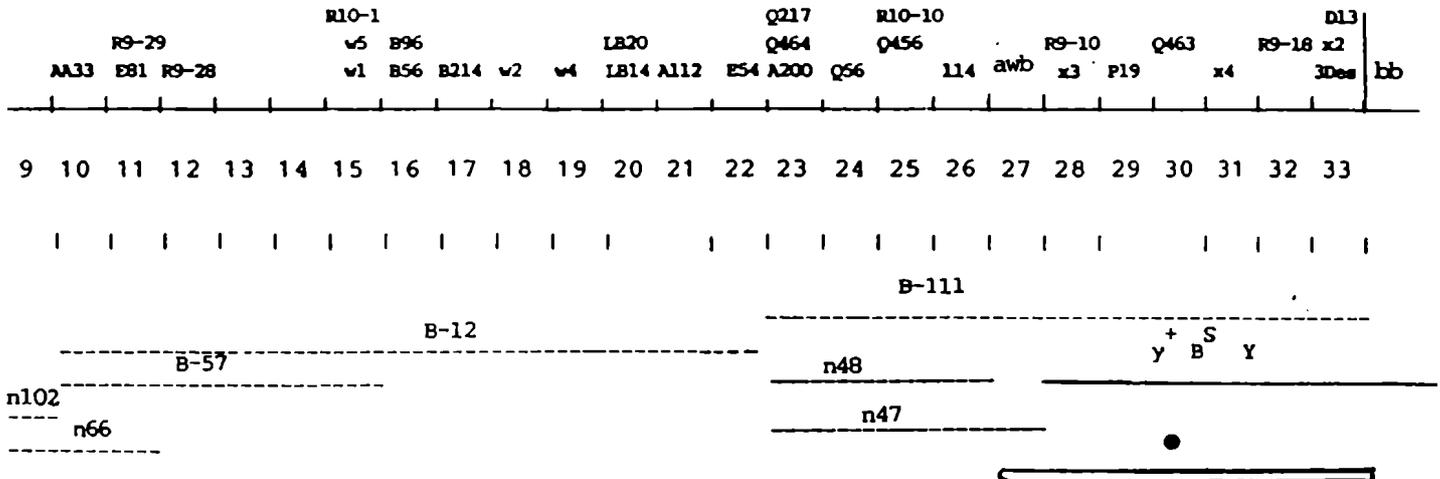
<u>Combinación</u>		<u>Resultado</u>
letal probado	/ B-111	letal viable
	/ B-57	"
	/ B-12	"
	/ n66	"
	/ n102	"
	/ A-200	"
	/ Q-56	"
	/ Q-456	"
	/ 114	"
	/ x-3	letal
	/ P-19	"
	/ Q-463	"
	/ x-4	"
	/ R-9-18	"
	/ 3-Des	"
**	/ "bobbed letal"	normal
	/ n47	visible "awb"
	/ n48	viable

\* macho estéril

\*\* el letal n18 no fué probado

No cubiertos por la duplicación y<sup>+</sup>, B<sup>S</sup>, Y

FIG. 14: MAPEO DE LOS LETALES n17 y n18 (●)



el número 27. Esta unidad queda definida además por los cruzamientos entre la Df(1)n47 con las Df(1)n23 y n24 y por los cruzamientos de las Df(1)n83 y n56 con las Df(1)n23 y n24, según se verá más adelante. En todos los casos las hembras heterocigotas para las dos deficiencias involucradas en cada uno de los cruzamientos, sobreviven y muestran el fenotipo indicado en grados variables, pero siempre claramente identificable. Con esta mutación visible se eleva a dos el número de unidades de complementación identificadas en la Sección 20B del cromosoma X politénico que contiene tres bandas.

#### Letal n19

Los resultados de la Tabla 10 indican que se trata de una deficiencia (Df(1)n19) que se extiende de la unidad 25 a la 33 (Fig. 15). Su punto de ruptura distal está a la izquierda del letal 114 y es  $bb^+$ .

Letales n20, n21\* y n22\*

La Tabla 11 resume los resultados de las pruebas de alelismo y de la misma surge que se trata de tres deficiencias que afectan las cuatro unidades de complementación más proximales. Las Df(1)n20, Df(1)n21 y Df(1)n22 solo difieren en que las dos últimas son macho estéril. Sobreviven en combinación con todos los letales a la izquierda de la unidad 30 (letal Q-463) y su ubicación aparece en la Fig. 16.

#### Letal n23

También se trata de una deficiencia (Df(1)n23) que se extiende de la unidad 27 a la unidad 31 (Fig. 17) y es

TABLA 10: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n19

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n19 / B-111	letal
/ B-57	viable
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	"
/ A-200	"
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	letal
/ x-3	"
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "bobbed letal"	normal
/ n45	viable

No cubierto por la duplicación  $y^+$ . B<sup>S</sup>. Y

---

FIG. 15: MAPEO DEL LETAL n19 (●)

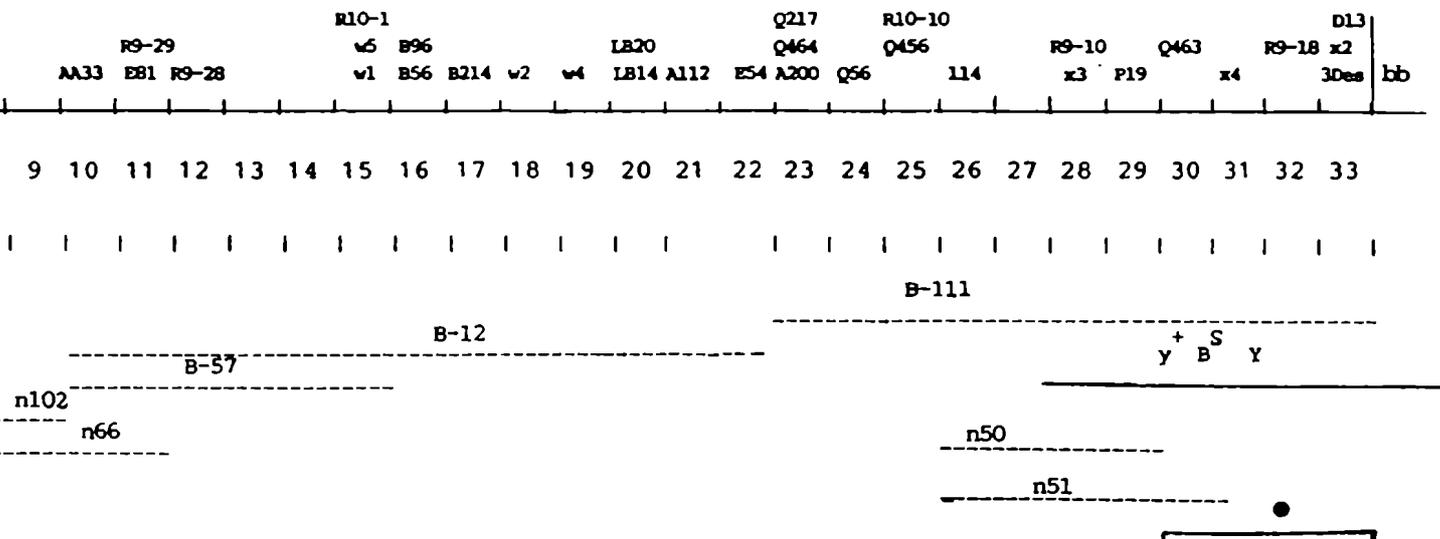
TABLA 11: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
LOS LETALES n20-n21\* y n22\*

<u>Combinación</u>		<u>Resultado</u>
letal	/ B-111	letal
probado	/ B-57	viable
	/ B-12	"
	/ n66	"
	/ n102	"
	/ A-200	"
	/ Q-56	"
	/ Q-456	"
	/ 114	"
	/ x-3	"
	/ P-19	"
	/ Q-463	letal
	/ x-4	"
	/ R-9-18	"
	/ 3-Des	"
	/ "bobbed letal"	normal
	/ n51	letal
	/ n50	viable

\* macho estéril

Cubiertos por la duplicación y<sup>+</sup>. B<sup>S</sup>. Y

FIG. 16: MAPEO DE LOS LETALES n20-n21 y n22 (●)



cubierta por el cromosoma  $y^+$  Y  $B^S$ , que lleva una duplicación del cromosoma X menor a la del cromosoma  $mal^+Y$  y que está marcada con el alelo normal para "yellow" y la mutación Bar of Stone (Bar extremo). Como se indicó más arriba, en combinación con la  $Df(1)n47$  y  $Df(1)n83$  muestra la mutación visible "awb" (Tabla 12), ya que su punto de ruptura distal está a la izquierda de ésta.

#### Letal n24

Al igual que la deficiencia anterior tiene su punto de ruptura distal a la izquierda de "awb", es decir que muestra el fenotipo mutado en combinación con las  $Df(1)n47$  y  $n83$  y sobrevive con todos los letales ubicados a la izquierda de esta mutación visible (Tabla 13). El punto de ruptura proximal de la  $Df(1)n24$  está a la derecha del alelo normal para "bb", y su ubicación aparece en la Fig. 18.

#### Letal n28\*

Los resultados de la Tabla 14 indican que es una deficiencia ( $Df(1)n28$ ) que incluye el alelo normal para "bb" a la derecha y la unidad 31 (letal x-4) a la izquierda (Fig. 19). Este efecto letal, al igual que el observado con todas las deficiencias que incluyen x-4, ha sido confirmado cuidadosamente debido a que otros autores (71) consideran que x-4 no es letal. Esto se basa en resultados obtenidos combinando la  $Df(1)n28$  con x-4 o alguno de sus alelos (R-9-5 y el letal 4P1), que mostraron que a 24-25°C aparecían hembras normales y a 29-30°C éstas mostraban la mutación "sparse hairs" (sph) caracterizada por falta de setas en el torax, ojos rugosos y alas abiertas.

TABLA 12: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n23

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n23 / B-111	letal
/ B-57	viable
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	"
/ A-200	"
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	"
/ x-3	letal
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	viable
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "bobbed letal"	normal
/ n47	visible "awb"
/ n83	" "
/ n82	viable
/ n25	"

No cubierto por la duplicación y<sup>+</sup>. B<sup>S</sup>. Y

FIG. 17 : MAPEO DEL LETAL n23 (●)

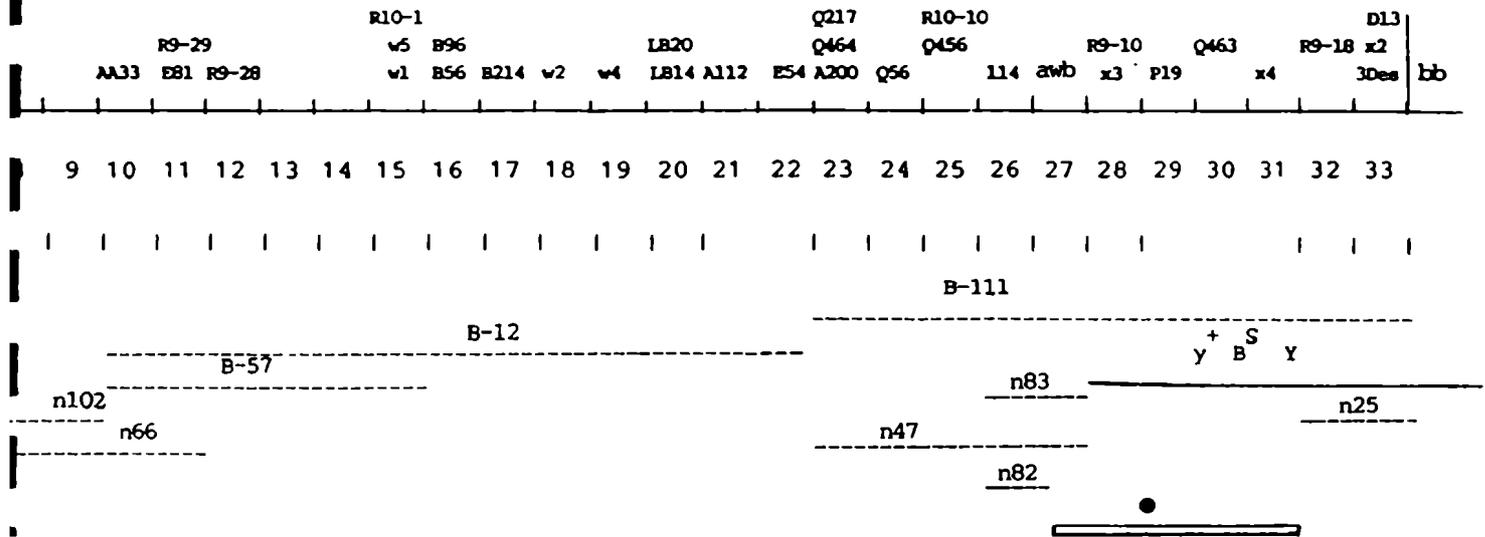


TABLA 13: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n24

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n24 / B-111	letal
/ B-57	viable
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	"
/ A-200	"
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	"
/ x-3	letal
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "bobbed letal"	"
/ n47	visible "awb"
/ n83	" "
/ n82	viable

No cubierto por la duplicación y<sup>+</sup>. B<sup>S</sup>. Y

FIG.18 : MAPEO DEL LETAL n24 (●)

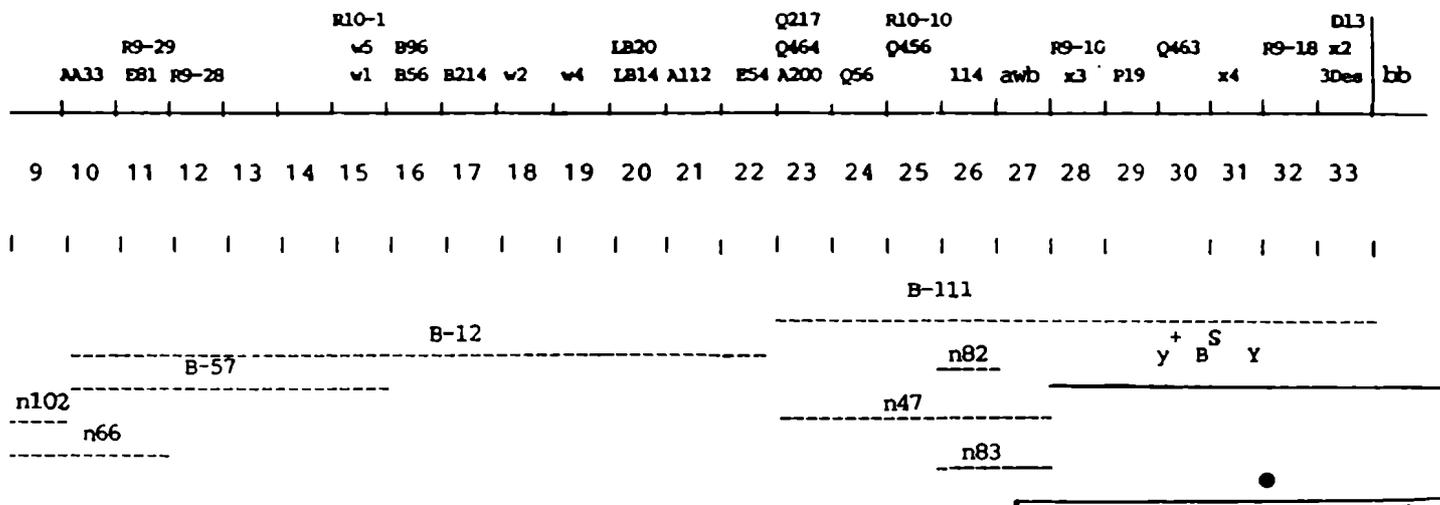


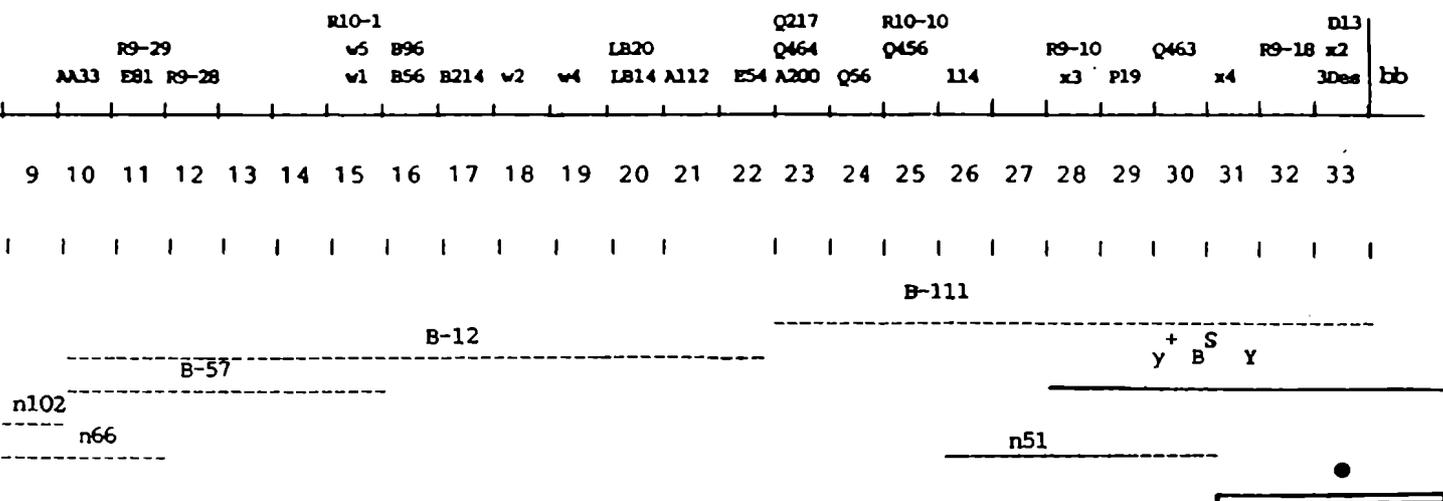
TABLA 14: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n28\*

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n28 / B-111	letal
/ B-57	viable
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	"
/ A-200	"
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	"
/ x-3	"
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	letal
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "bobbed letal"	letal
/ n51	viable

\* macho estéril

Cubierto por la duplicación  $y^+$ . B<sup>S</sup>. Y

FIG. 19: MAPEO DEL LETAL n28 (●)



Esto está en oposición a lo afirmado por Lifschytz y Falk (1968) que fueron quienes encontraron el letal x-4 después de tratamientos con Rayos X. También se opone a nuestros resultados, que adicionalmente indican que las hembras Df(1)n28/Df(1)n23 no sobreviven, a pesar de que la única unidad que se superpone es la unidad 31. Para determinar el tamaño de las deficiencias que claramente incluyen x-4 carece de importancia práctica si esta última mutación tiene un efecto letal o visible. Sin embargo, para aquellos casos en que la deficiencia, supuestamente no incluye la unidad definida por la mutación x-4, es decir que en combinación con ésta da hembras viables en la F1, debe buscarse cuidadosamente el efecto visible a las dos temperaturas indicadas, antes de concluir que la unidad 31 no está involucrada. Si bien este criterio se adoptó rutinariamente, solo se mencionará específicamente en la descripción de los letales n25, n26, n27, n51 y n92 por estar muy próximos a la mutación x-4 y no incluirla. Los machos Df(1)n28 son estériles.

#### Letales n25, n26 y n27

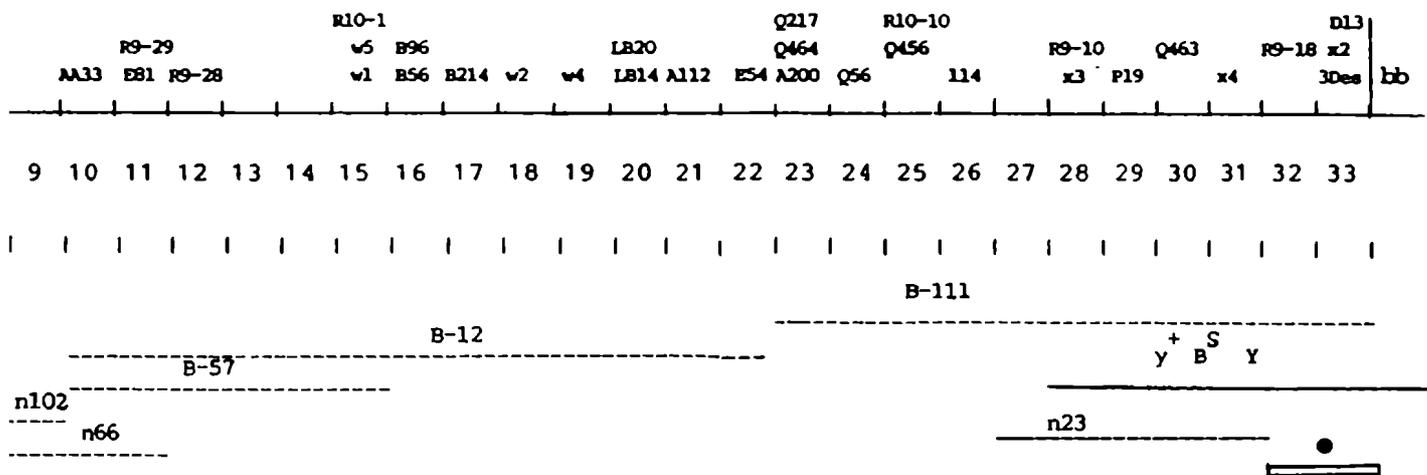
Son tres deficiencias iguales (Df(1)n25, Df(1)n25 y Df(1)n27) que afectan las dos unidades de complementación más proximales (32 y 33), son bb<sup>+</sup> y viables en combinación con todos los letales que mapean a la izquierda del letal R-9-18 (unidad 32). Los resultados (Tabla 15) que justifican la no inclusión de x-4 se basan en que cruzamientos hechos a las dos temperaturas indicadas más arriba dieron hembras de fenotipo normal. Su localización se muestra en la Fig. 20.

TABLA 15 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
LOS LETALES n25-n26 y n27

<u>Combinación</u>		<u>Resultado</u>
letal	/ B-111	letal
probado	/ B-57	viable
	/ B-12	"
	/ n66	"
	/ n102	"
	/ A-200	"
	/ Q-56	"
	/ Q-456	"
	/ 114	"
	/ x-3	"
	/ P-19	"
	/ Q-463	"
	/ x-4	"
	/ R-9-18	letal
	/ 3-Des	"
	/ "bobbed letal"	normal
	/ n23	viable

Cubiertos por la duplicación  $y^+$ . B<sup>S</sup>. Y

FIG. 20 : MAPEO DE LOS LETALES n25-n26 y n27 (●)



Letales n43 y n44

Según los resultados de la Tabla 16 se trata de dos deficiencias iguales que afectan solamente dos unidades de complementación (23 y 24) y en consecuencia sobreviven con los letales que mapean a la izquierda y derecha de dichas unidades (Fig. 21). Las Df(1)n43 y n44 en combinación con el letal A-200 o sus alelos no son totalmente letales. Se trata de un efecto semi letal y eventualmente aparece alguna hembra mostrando el fenotipo "wings apart" (wap). Sin embargo a los fines prácticos tanto en esta Tabla como en las siguientes este semi letal figura siempre como letal.

Letales n45 y n46

También son deficiencias (Df(1)n45 y Df(1)n46, cuyo punto de ruptura distal es similar al de las dos anteriores (Fig. 22). Según los resultados de la Tabla 17 el punto de ruptura proximal está entre los letales 114 y Q-456. Como ya se indicó más arriba muestra el fenotipo "uncl" en combinación con las deficiencias n15 y n16.

Letal n47

Los resultados de las pruebas con este letal (Tabla 18) indican que se trata de una deficiencia (Df(1)n47) que afecta cinco unidades, con su punto de ruptura distal entre E-54 y A-200. Es decir que coincide con el punto distal de B-111 y sobrevive en combinación con todos los letales que se encuentran a la izquierda de ésta. El punto de ruptura proximal está a la derecha del visible "awb" y muestra este fenotipo en las diversas combinaciones ya indicadas (Fig. 23).

TABLA 16: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
LOS LETALES n43 y n44

<u>Combinación</u>		<u>Resultado</u>
letal	/ B-111	letal
probado	/ B-57	viable
	/ B-12	"
	/ n66	"
	/ n102	"
	/ A-200	letal
	/ Q-56	"
	/ Q-456	viable
	/ 114	"
	/ x-3	"
	/ P-19	"
	/ Q-463	"
	/ x-4	"
	/ R-9-18	"
	/ 3-Des	"
	/ "bobbed letal"	normal
	/ n94	viable
	/ n15	"

No cubierto por la duplicación  $y^+ . B^S . Y$

FIG. 21 : MAPEO DE LOS LETALES n43 y n44 (●)

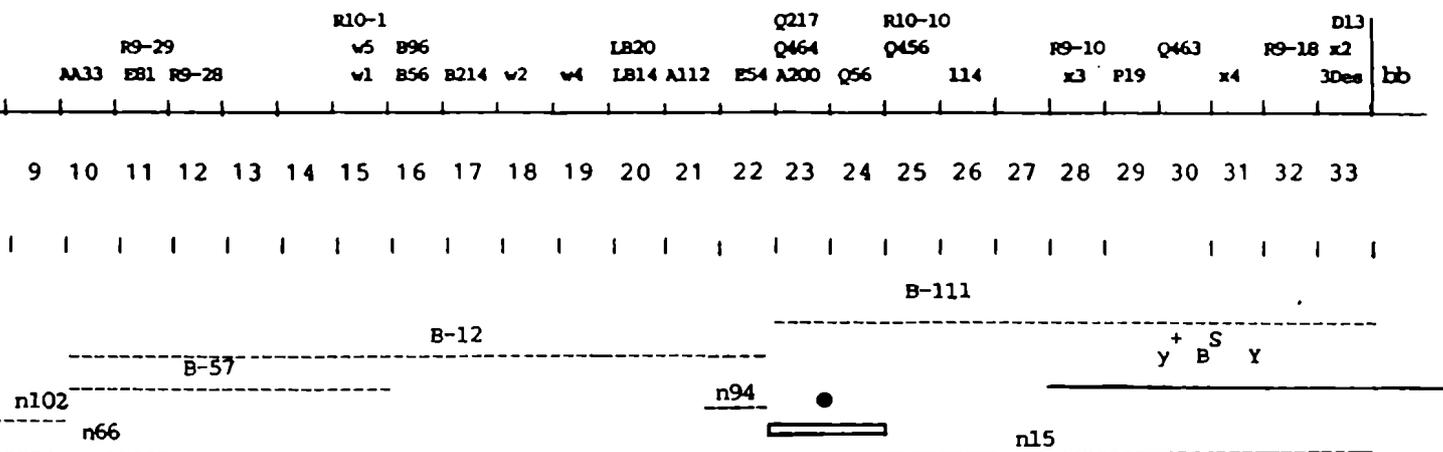


TABLA 17: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
LOS LETALES n45 y n46

<u>Combinación</u>		<u>Resultado</u>
letal	/ B-111	letal
probado	/ B-57	viable
	/ B-12	"
	/ n66	"
	/ n102	"
	/ A-200	letal
	/ Q-56	"
	/ Q-456	"
	/ 114	viable
	/ x-3	"
	/ P-19	"
	/ Q-463	"
	/ x-4	"
	/ R-9-18	"
	/ 3-Des	"
	/ "bobbed letal"	normal
	/ n94	viable
	/ n23	"
	/ n15	letal

No cubiertos por la duplicación  $y^+$ ,  $B^S$ . y

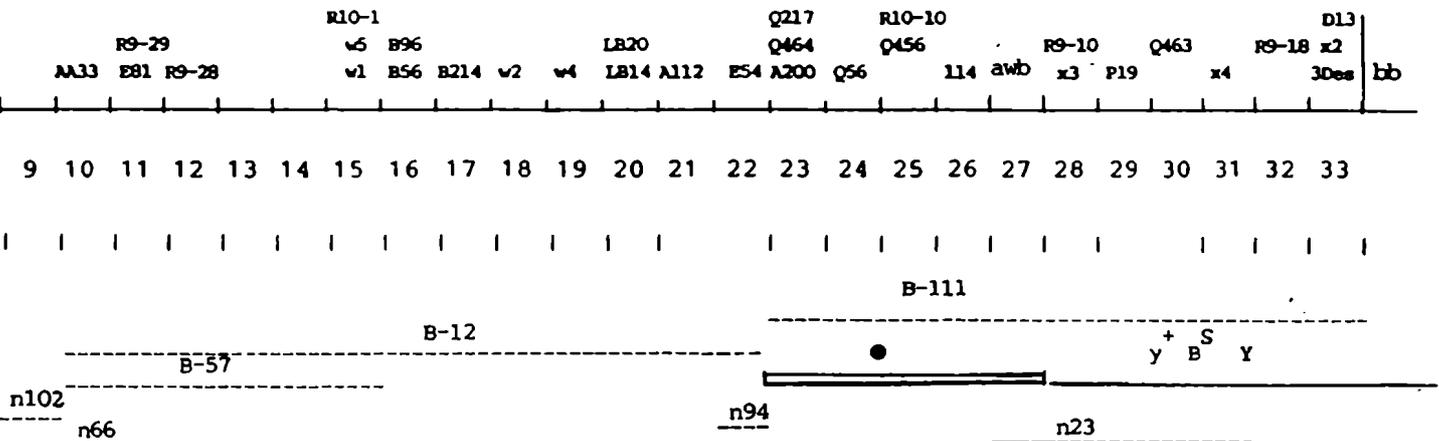
FIG. 22: MAPEO DE LOS LETALES n45 y n46 (●)

TABLA 18: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n47

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n47 / B-111	letal
/ B-57	viable
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	"
/ A-200	letal
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	"
/ x-3	viable
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "bobbed letal"	normal
/ n23	visible "awb"
/ n94	viable

No cubierto por la suplicación  $y^+$ ,  $B^S$ .  $Y$

FIG. 23: MAPEO DEL LETAL n47 (●)



Letal n48

En la Tabla 19 y en la Fig. 24 puede verse que se trata de una deficiencia (Df(1)n48) muy semejante a la anterior, pero a diferencia de aquella no incluye el visible "awb".

Letal n49

También es una deficiencia (Df(1)n49) con su punto de ruptura distal semejante a las dos anteriores y el punto de ruptura proximal entre los letales x-3 y P-19 (Tabla 20 y Fig. 25).

Letales n50 y n51

Los resultados de las pruebas de alelismo (Tablas 21 y 22 respectivamente) indican que son dos deficiencias. La Df(1)n50 se muestra en la Fig. 26 y la Df(1)n51 en la Fig. 27. Ambas tienen su punto de ruptura distal entre los letales Q-456 y 114. La deficiencia n51 es alélica al letal Q-463 y su punto de ruptura proximal está entre este letal y el letal x-4. Los cruzamientos con este último se hicieron a 25°C y a 30°C. La deficiencia n50 es una unidad más corta, complementa con Q-463 y tiene su punto de ruptura proximal entre este letal y el letal P-19. Ambas deficiencias sobreviven en combinación con todos los letales que mapean a izquierda o derecha de los puntos de ruptura indicados.

Letal n74\*

La ubicación de este letal, al igual que la del letal n77 que se verá más adelante fué particularmente laboriosa por tratarse de un letal doble. Uno de los letales es alélico al letal Q-56 (entre A-200 y Q-456) y dió resultados

TABLA 19: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n48

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n48 / B-111	letal
/ B-57	viable
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	"
/ A-200	letal
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	"
/ x-3	viable
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "bobbed letal"	normal
/ n23	viable
/ n94	"
/ n82	letal

No cubierto por la duplicación  $y^+$ ,  $B^S$ .y

FIG. 24: MAPEO DEL LETAL n48 (●)

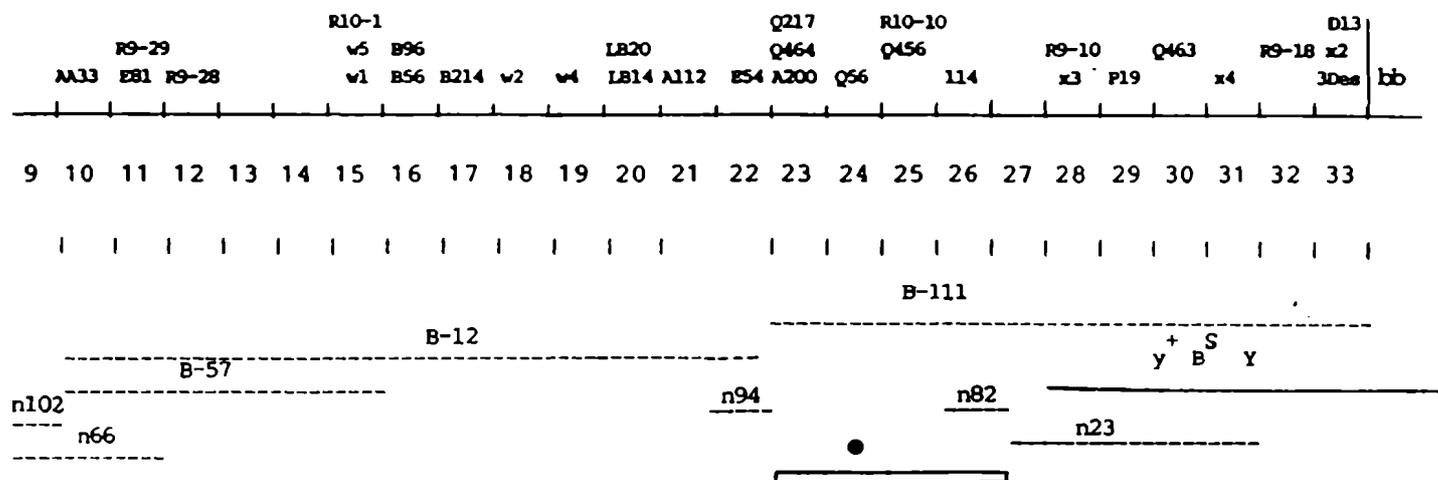


TABLA 20: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n49

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n49 / B-111	letal
/ B-57	viable
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	"
/ A-200	letal
/ Q-56	"
/ Q-456	semi letal
/ 114	letal
/ x-3	"
/ P-19	viable
/ Q-463	"
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "bobbed letal"	normal
/ n54	viable
/ n20	"

No cubierto por la suplicación  $y^+ B^S Y$

FIG. 25: MAPEO DEL LETAL n49 (●)

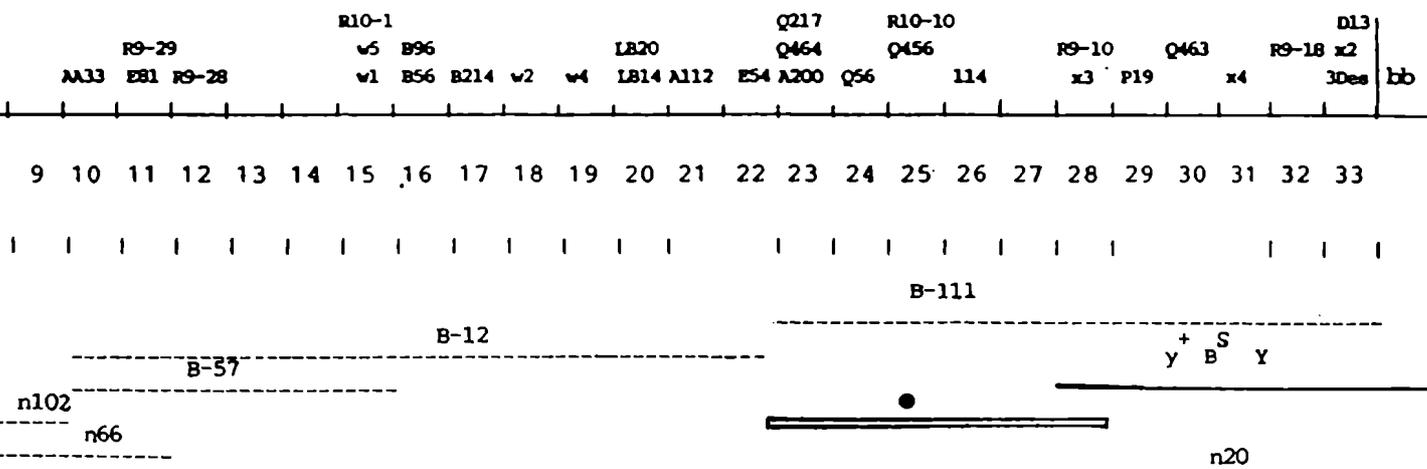


TABLA 21 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n50

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n50 / B-111	letal
/ B-57	viable
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	"
/ A-200	"
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	letal
/ x-3	"
/ P-19	"
/ Q-463	viable
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "bobbed letal"	normal
/ n20	viable
/ n45	"
/ n82	letal

No cubierto por la duplicación y<sup>+</sup>. B<sup>S</sup>. Y

FIG. 26: MAPEO n50 (●)

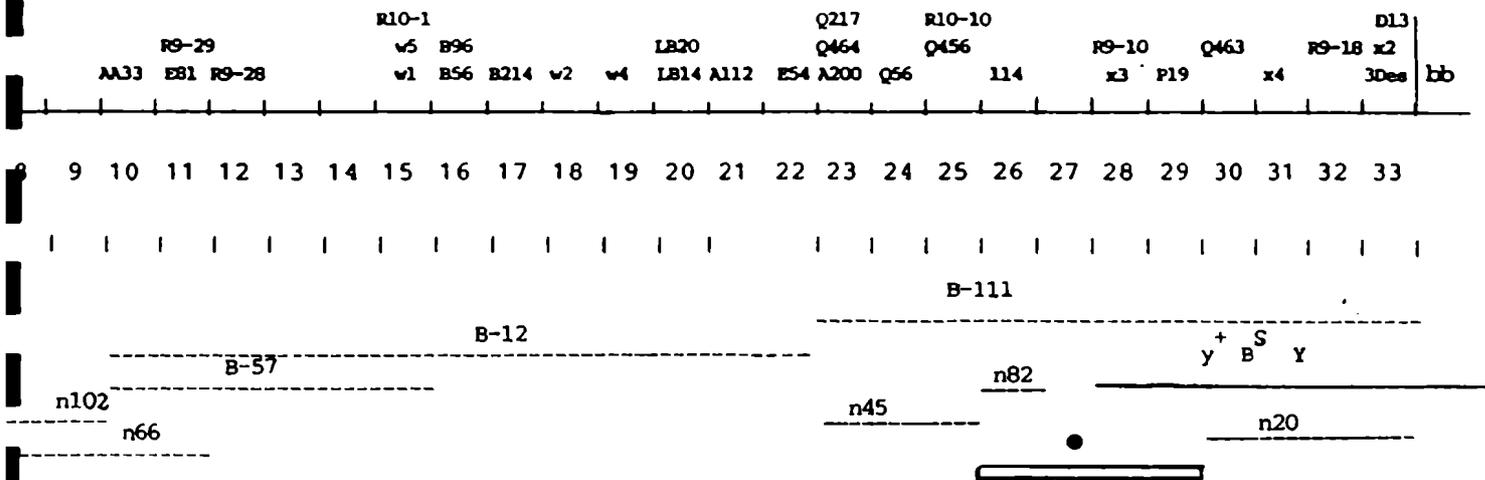
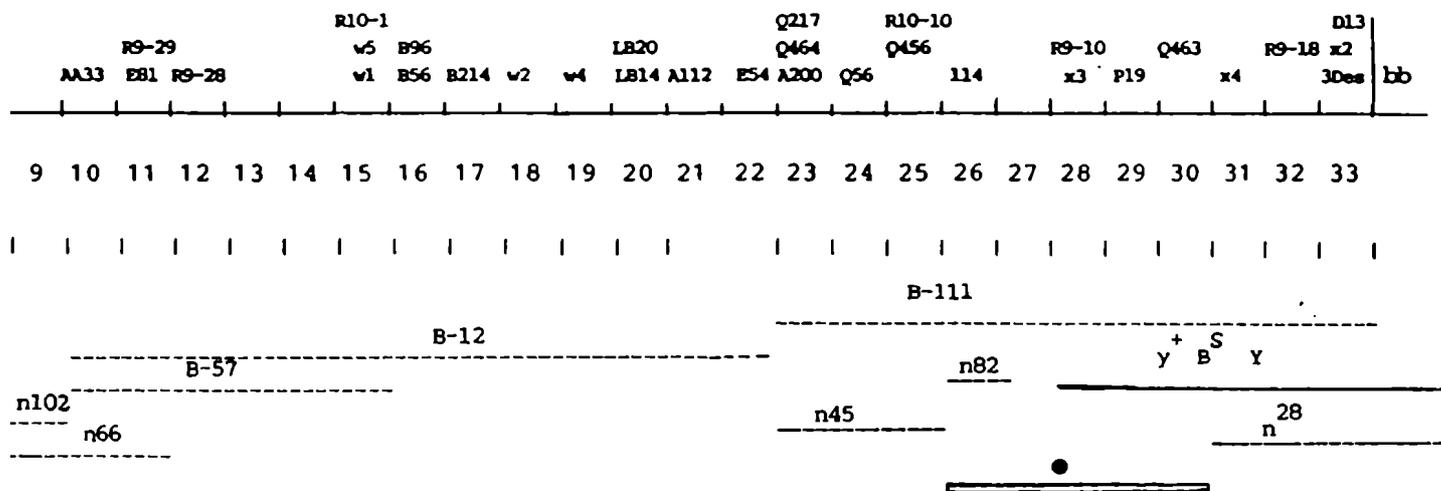


TABLA 22: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n51

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n51 / B-111	letal
/ B-57	viable
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	"
/ A-200	"
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	letal
/ x-3	"
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	viable
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "bobbed letal"	normal
/ n28	viable
/ n45	"
/ n82	letal

No cubierto por la duplicación  $y^+ . B^S . Y$

FIG. 27: MAPEO DEL LETAL n51 (●)



similares en todos los cruzamientos con deficiencias que afectan esta unidad. El otro letal se localiza más a la derecha y también afecta una sola unidad de complementación (unidad 31). El segmento cromosómico que separa estos dos letales es normal como surge de los resultados de la Tabla 23 y se indica en la Fig. 28. Los machos l(1)n74 son estériles.

#### Letal n82\*

Los resultados de la Tabla 24 indican que este letal resulta letal sólo en combinación con el letal 114, es decir que es un alelo de este último y afecta una sola unidad, la 26 (Fig. 29). En combinación con las Df(1)n23 y n24 no mostró el efecto visible "awb". Los machos portadores son estériles.

#### Letal n83\*

En la Tabla 25 puede verse que en este letal se encuentran afectadas dos unidades, la 26 y la 27. Es alélico al letal 114 y como ya se indicó muestra el fenotipo "awb" en combinación con las Df(1)n23 y n24. Se trata de una pequeña deficiencia (Df(1)n83), (Fig. 30) y los machos portadores son estériles. No es cubierta por la duplicación  $y^+YB^S$ .

#### Letal n90

En los cruzamientos cuyos resultados se muestran en la Tabla 26 sólo resultó letal en combinación con el letal x-3 y naturalmente con todas las deficiencias alélicas al mismo. Es decir que se encuentra afectada solo la unidad 28 y su designación correcta es l(1)n90. Su localización se

TABLA 23 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n74\*

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n74 / B-111	letal
/ B-57	viable
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	"
/ A-200	"
/ Q-56	letal
/ Q-456	viable
/ 114	"
/ x-3	"
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	letal
/ R-9-18	viable
/ 3-Des	"
/ "bobbed letal"	normal
/ n25	viable
/ n51	viable
/ n43	letal
/ n50	viable

\* macho estéril

No cubierto por la duplicación y<sup>+</sup>. B<sup>S</sup>. Y

FIG. 28 : MAPEO DEL LETAL n74 (●)

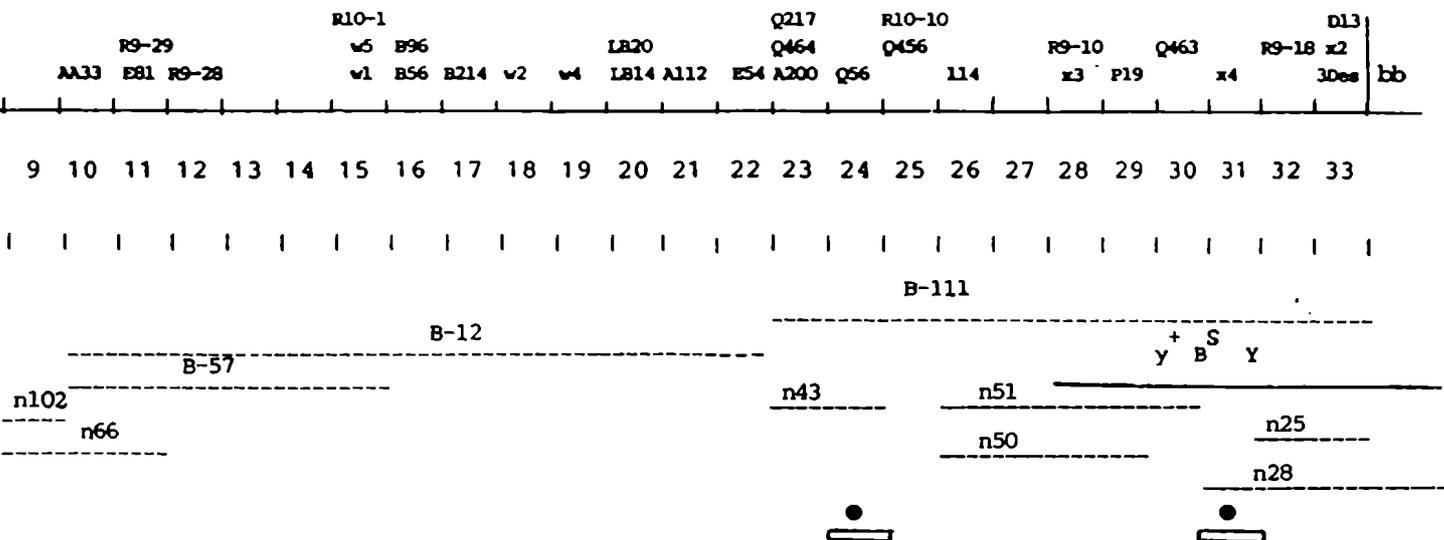


TABLA 24: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n82\*

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n82 / B-111	letal
/ B-57	viable
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	"
/ A-200	"
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	letal
/ x-3	viable
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "bobbed letal"	normal
/ n23	viable
/n45	"

\* macho estéril

No cubierto por la duplicación  $y^+, B^S \cdot Y$

FIG. 29: MAPEO DEL LETAL n82 (●)

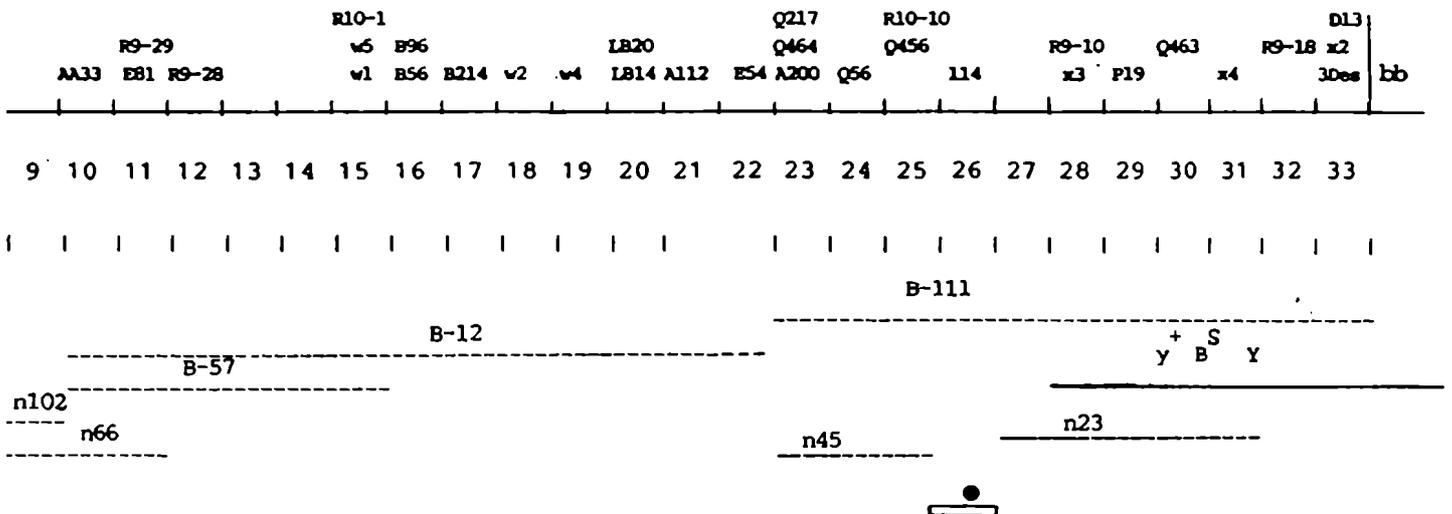


TABLA 25: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n83\*

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n83 / B-111	letal
/ B-57	viable
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	"
/ A-200	"
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	letal
/ x-3	viable
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "bobbed letal"	normal
/ n23	visible "awb"
/ n90	viable
/ n45	"

\* macho estéril

No cubierto por la duplicación  $y^+$ ,  $B^S$ ,  $Y$

FIG. 30 : MAPEO DEL LETAL n83 (●)

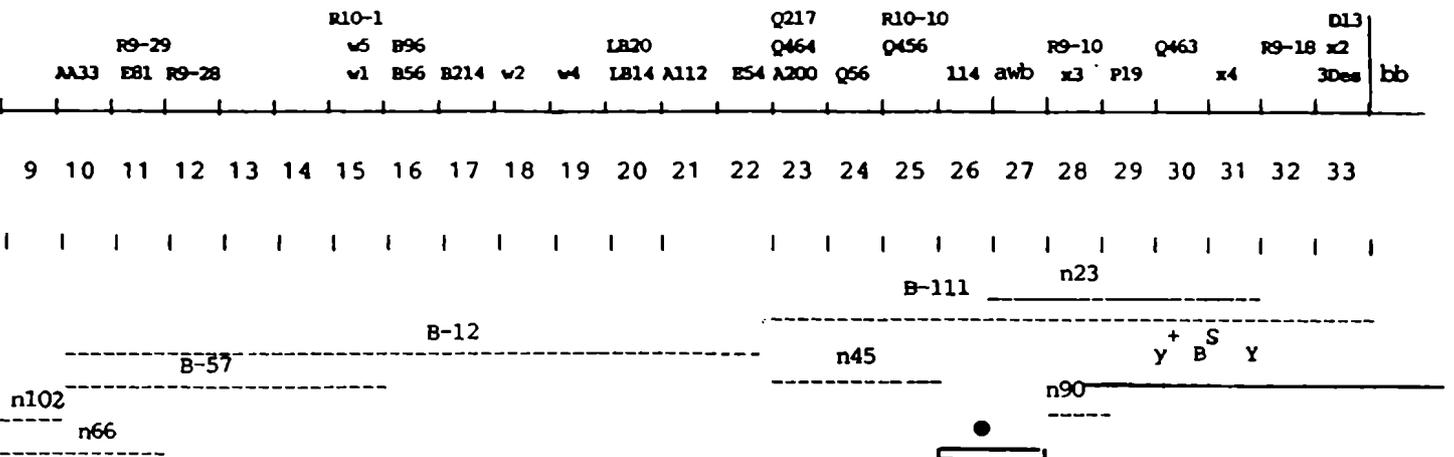
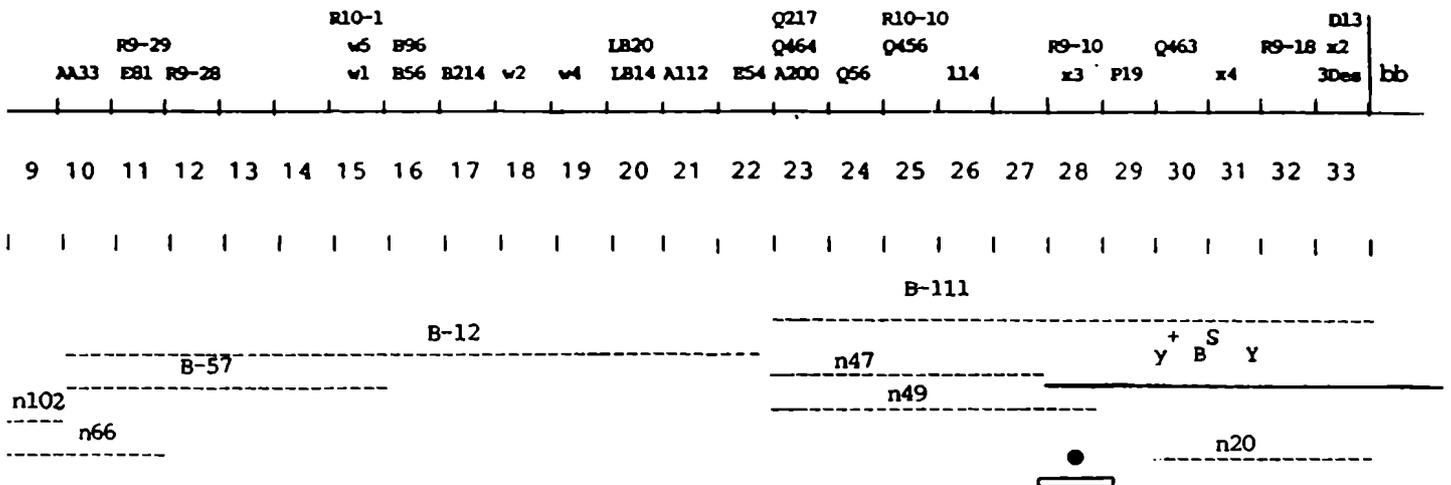


TABLA 26 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n90

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n90 / B-111	letal
/ B-57	viable
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	"
/ A-200	"
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	"
/ x-3	letal
/ P-19	viable
/ Q-463	"
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "bobbed letal"	normal
/ n20	viable
/ n47	"
/ n49	letal

Cubierto por la duplicación  $y^+ . B^S . y$

FIG. 31 : MAPEO DEL LETAL n90 (●)



mustra en la Fig. 31.

Letal n91\*

De los resultados de la Tabla 27 surge que afecta solamente la unidad 30 porque es letal en combinación con el letal Q-463 y sobrevive con todos los letales a la derecha e izquierda de éste (Fig. 32). El l(1)n91 complementa con x-4 a 25 y 29<sup>o</sup>C y los machos portadores son estériles.

Letales n92\* y n93\*

Estos dos letales son alélicos a Q-56 y sobreviven en combinación con todos los letales proximales o distales a éste, es decir que afectan una sola unidad de complementación (Tabla 28 y Fig. 33). Ambos letales confieren esterilidad a los machos y se designan l(1)n92 y l(1)n93.

Letal n99\*

Los resultados de la Tabla 29 indican que se trata de una pequeña deficiencia que afecta dos unidades de complementación (Fig. 34). La Df(1)n99 es alélica a Q-463 y X-4. La combinación con ésta última mutación es claramente letal, no muestra el fenotipo "bb" en combinación con "bb1" y sobrevive con todas las mutaciones letales y deficiencias que afectan unidades a la derecha de x-4 o a la izquierda de Q-463.

2) Letales clase 3 (alélicos a la deficiencia B-12)

En el segmento comprendido por la Df(1)B-12 se localizan algunas mutaciones visibles que fueron descritas en la Tabla 1 y aparecen en la Fig. 8. Estas son: "legless", "little fly", "varied outspread", "uncoordinated", "little

TABLA 27: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n91\*

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n91 / B-111	letal
/ B-57	viable
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	"
/ A-200	"
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	"
/ x-3	"
/ P-19	"
/ Q-463	letal
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "bobbed letal"	normal
/ n50	viable
/ n51	letal
/ n25	viable

\* macho estéril

Cubierto por la duplicación  $y^+ . B^S . Y$

FIG. 32 : MAPEO DEL LETAL n91 (●)

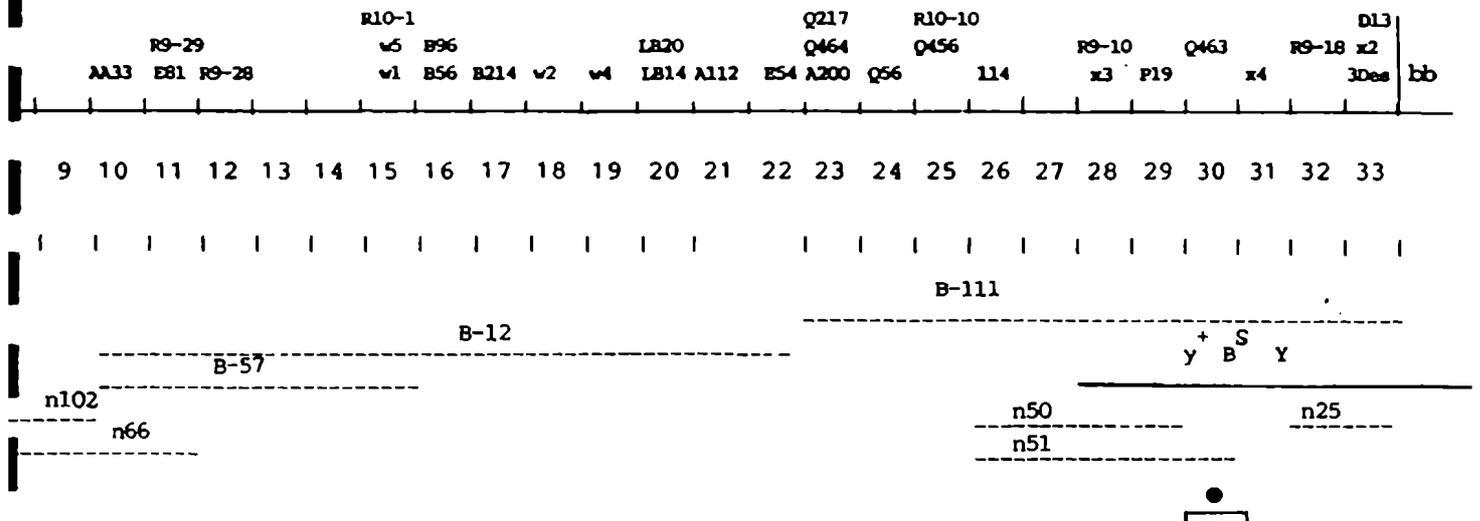


TABLA 28: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
LOS LETALES n92\* y n93\*

<u>Combinación</u>		<u>Resultado</u>
letal	/ B-111	letal
probado	/ B-57	viable
	/ B-12	"
	/ n66	"
	/ n102	"
	/ A-200	"
	/ Q-56	letal
	/ Q-456	viable
	/ 114	"
	/ x-3	"
	/ P-19	"
	/ Q-463	"
	/ x-4	"
	/ R-9-18	"
	/ 3-Des	"
	/ "bobbed letal"	normal
	/ n43	letal
	/ n15	viable

No cubiertos por la duplicación y<sup>+</sup>. B<sup>S</sup>. Y

FIG. 33: MAPEO DE LOS LETALES n92 y n93 (●)

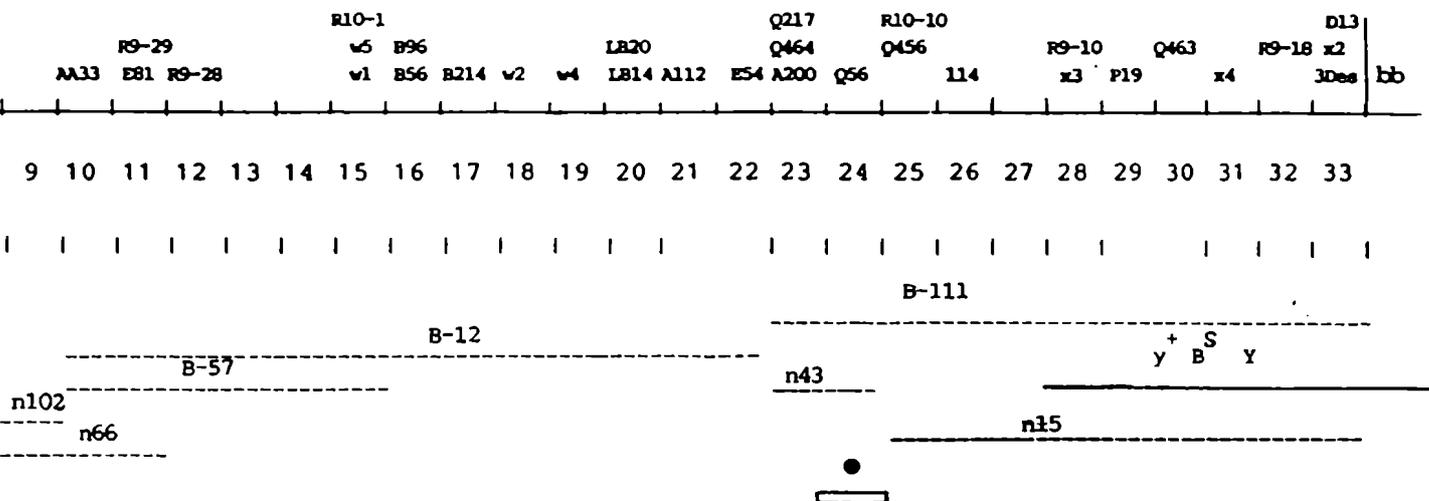


TABLA 29: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n99\*

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n99 / B-111	letal
/ B-57	viable
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	"
/ A-200	"
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	"
/ x-3	"
/ P-19	"
/ Q-463	letal
/ x-4	"
/ R-9-18	viable
/ 3-Des	"
/ "bobbed letal"	normal
/ n25	viable
/ n50	"

\* macho estéril

Cubierto por la duplicación  $y^+$ . B<sup>S</sup>. Y

FIG. 34: MAPEO DEL LETAL n99 (●)

fly like" y "extra organs". Se trata de mutaciones con efecto semi letal o que determinan retraso en el desarrollo y en condiciones habituales las hembras homocigotas prácticamente no aparecen en los cultivos. De hecho los alelos que aparecen en la Fig. 8 fueron aislados originalmente como letales (41, 42) debido a las razones señaladas. Atento a ello, en las Tablas donde se muestran los cruzamientos que involucran a estas mutaciones, los resultados aparecen como "letal" aún en aquellos casos en que apareció alguna mosca con alguno de los fenotipos señalados. Siguiendo el criterio general adoptado en todo el trabajo las hembras se consideraron viables no solo cuando aparecieron en los cultivos, sino cuando su fenotipo era normal y la conclusión fué que en ese caso las mutaciones analizadas complementaban.

#### Letal n52

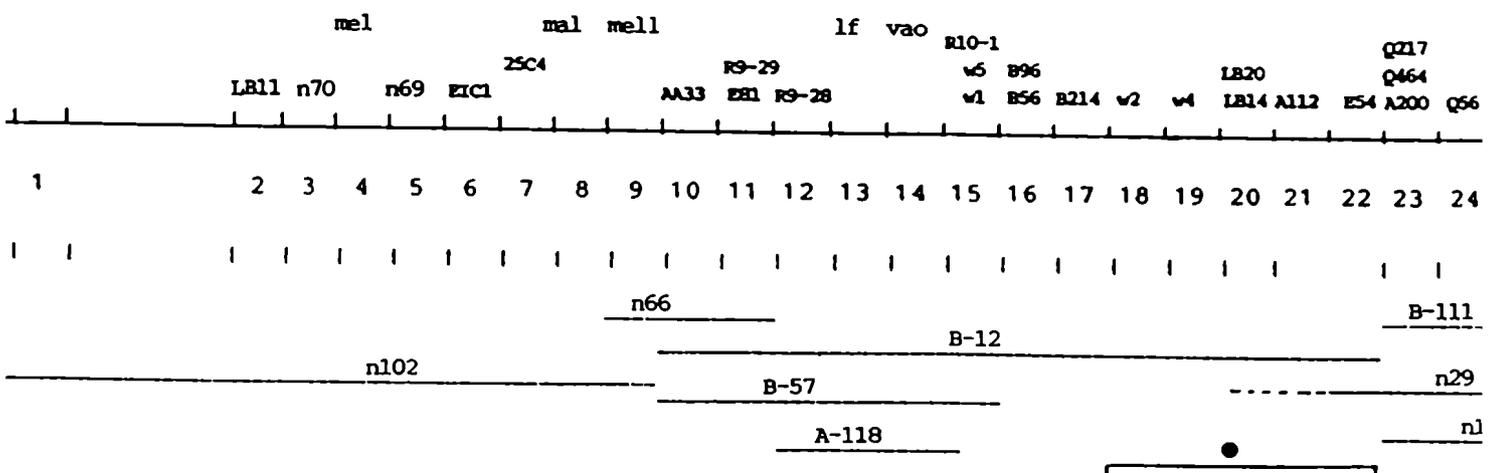
En la Tabla 30 puede verse que sobrevive con B-111 y da fenotipo normal en combinación con "bbl". Estos resultados, confirmados por el cruzamiento con la Df(1)n1 indican que el cromosoma portador de este letal es normal para el tercio más proximal del segmento en estudio. La Tabla también muestra que n52 sobrevive en combinación con las deficiencias B-57, n66 y n102 y es "ot"<sup>+</sup>. Ello significa que sólo está afectado total o parcialmente el segmento comprendido entre las unidades 16 y 22. Los restantes resultados aportan una mayor precisión e indican que el letal analizado es alélico a los letales que mapean de la unidad 18 a la 22, es decir que es una deficiencia (Df(1)n52 (Fig. 35).

#### Letal n54

TABLA 30 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n52

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n52/ B-111	viable
/ "bobbed letal"	normal
/ B-12	letal
/ B-57	viable
/ n66	"
/ n102	"
/ "outheld"	normal
/ n29	letal
/ n1	viable
/ E-54	letal
/ A-112	"
/ LB20	"
/ w-4	"
/ w-2	"
/ B-214	viable
/ B-56	"
/ w-1	"
/ A-118	"
/ R-9-28	"
/ E-81	"
/ AA-33	"

FIG.35 : MAPEO DEL LETAL n52 (●)



Los resultados de la Tabla 31 indican que sobrevive con deficiencias que se extienden de la unidad 23 a la 33 y es letal en combinación con todos los letales que afectan las unidades 10 a 22, es decir que es una deficiencia (Df(1)n54 con su punto de ruptura proximal entre los letales E-54 y A-200. El punto de ruptura distal está entre "mal" y el letal 25C4 porque complementa con todas las mutaciones a la izquierda de éste y muestra los fenotipos "maroonlike" y "melanizedlike" en combinación con la deficiencia mal-10 (Fig. 36).

#### Letal n59

Puede verse en la Tabla 32 que es alélico a todas las mutaciones incluídas en la deficiencia B-12 y complementa con las que están a la derecha de E-54, es decir que su punto de ruptura proximal es el mismo que la deficiencia anterior. Esta deficiencia (Df(1)n59) se extiende sólo hasta la unidad 10 porque complementa con la deficiencia mal-10.

#### Letale n60

La Tabla 33 muestra que este letal complementa con E-54 y es letal con n89 y los letales que mapean inmediatamente a su izquierda, es decir que se trata de una deficiencia (Df(1)n60). Se extiende hacia la izquierda hasta la unidad 12 y tiene su punto de ruptura distal entre los letales R-9-28 y E-81 porque complementa con todas las mutaciones a la izquierda de este último (Fig. 38).

#### Letal n61

Sobrevive con mal-10 y B-57, lo que ubicaría a este letal en el segmento de B-12 no alélico a B-57. De la Ta-

TABLA 31 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n54

<u>Combinación</u>		<u>Resultado</u>
letal	/ B-111	viable
	/ "bobbed letal"	normal
	/ B-12	letal
	/ B-57	"
	/ n66	"
	/ n102	"
	/ "outheld"	normal
	/ n29	letal
	/ n1	viable
	/ E-54	letal
	/ A-112	"
	/ LB20	"
	/ w-4	"
	/ w-2	"
	/ B-214	"
	/ B-56	"
	/ w-1	"
	/ A-118	"
	/ R-9-28	"
	/ E-81	"
	/ AA-33	"
	/ mal-10	visible "mell" y "mal"
	/ 25C4	viable
	/ ELC1	"
	/ n69	"
	/ T2-4A	"

FIG. 36: MAPEO DEL LETAL n54 (●)

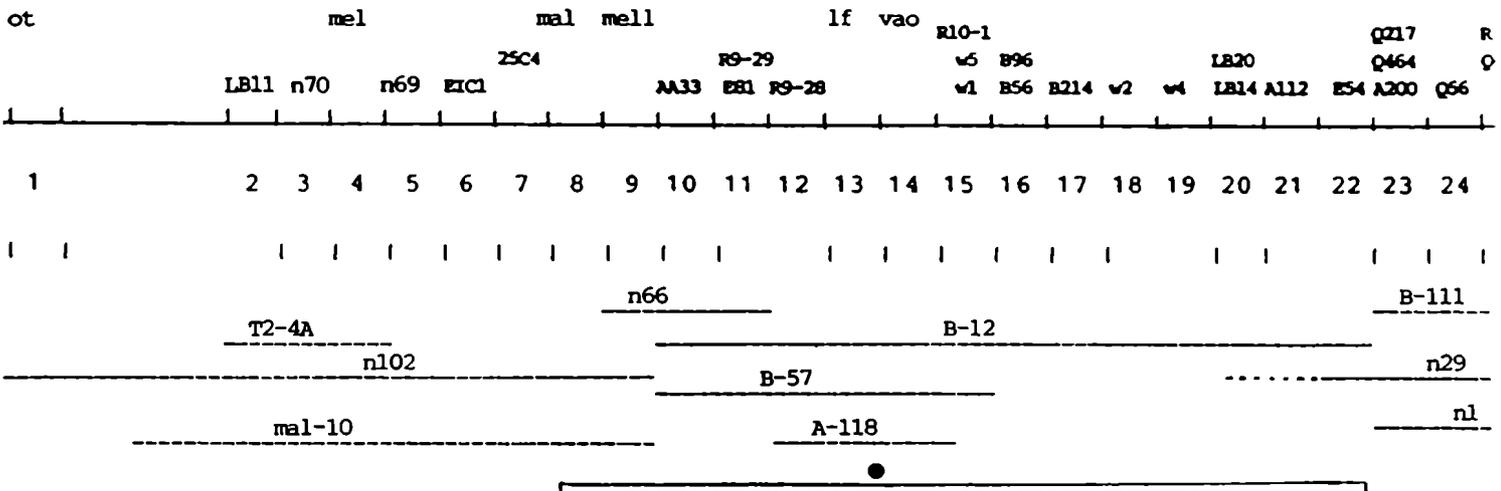


TABLA32 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n59

<u>Combinación</u>		<u>Resultado</u>
letal	/ B-111	viable
	/ "bobbed letal"	normal
	/ B-12	letal
	/ B-57	"
	/ n66	"
	/ n102	viable
	/ "outheld"	normal
	/ n29	letal
	/ n1	viable
	/ E-54	letal
	/ A-112	"
	/ LB20	"
	/ w-4	"
	/ w-2	"
	/ B-214	"
	/ B-56	"
	/ w-1	"
	/ A-118	"
	/ R-9-28	"
	/ E-81	"
	/ AA-33	"
	/ mal-10	viable

FIG.37 : MAPEO DEL LETAL n59 (●)

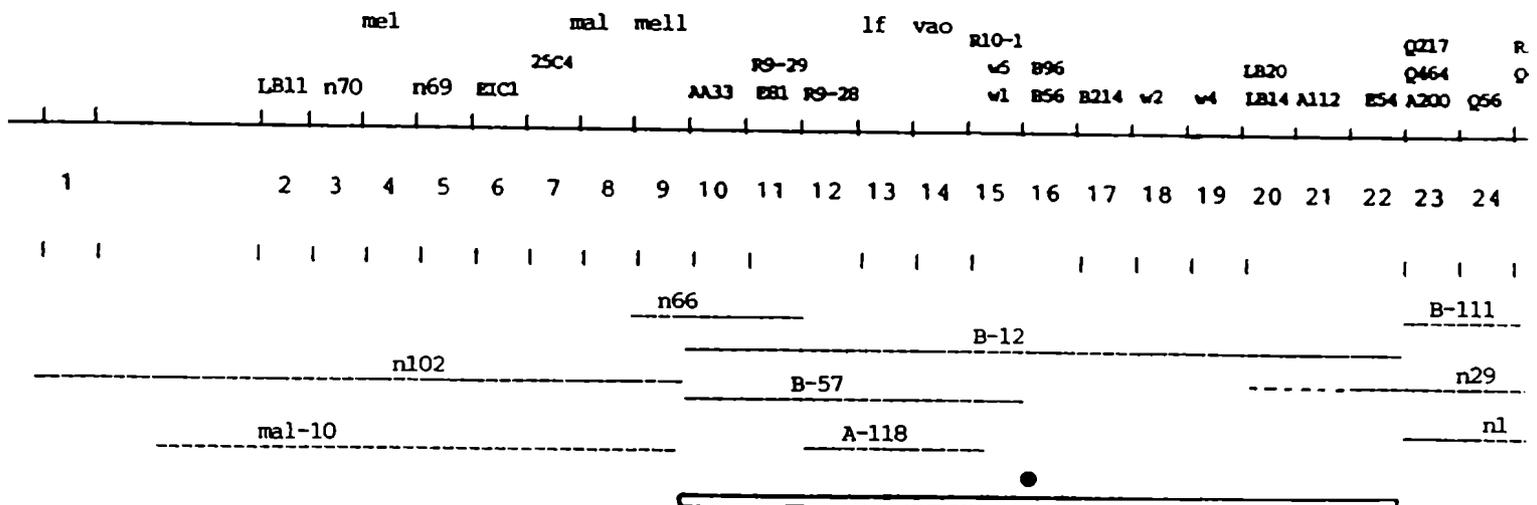
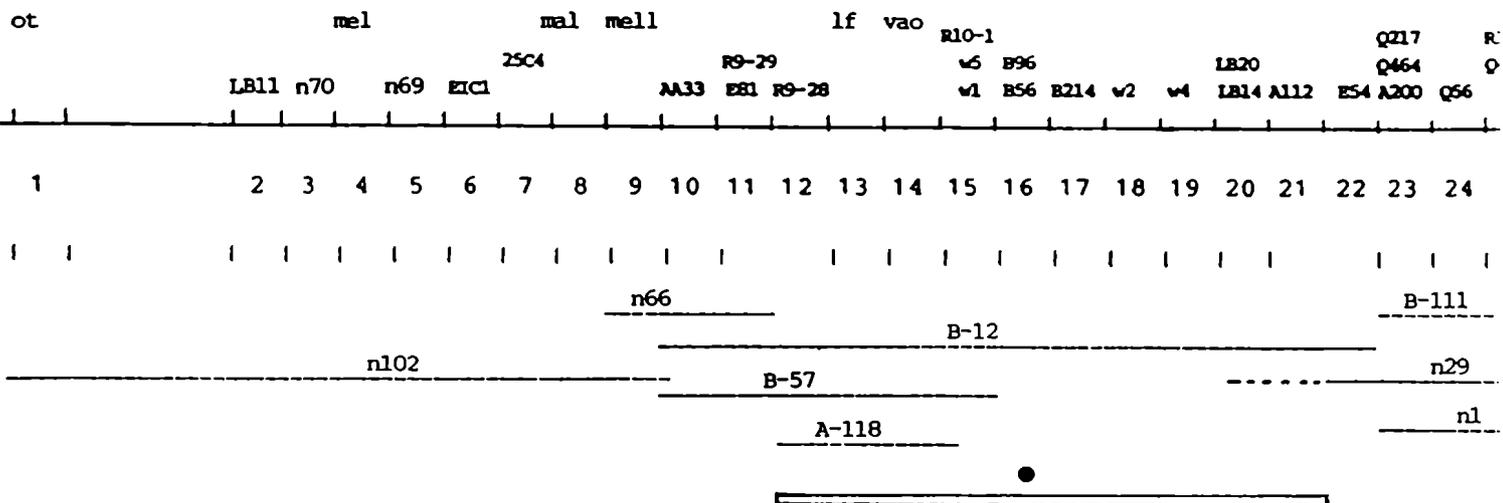


TABLA 33 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n60

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n60/ B-111	viable
/ "bobbed letal"	normal
/ B-12	letal
/ B-57	"
/ n66	viable
/ n102	"
/ "outheld"	normal
/ n29	letal
/ n1	viable
/ E-54	"
/ A-112	letal
/ LB20	"
/ w-4	"
/ w-2	"
/ B-214	"
/ B-56	"
/ w-1	"
/ A-118	"
/ R-9-28	"
/ E-81	viable
/ AA-33	"

FIG.38: MAPEO DEL LETAL n60 (●)



bla 34 surge que es letal en combinación con B-56, B-214 y w-2 y complementa con las restantes mutaciones a derecha e izquierda, lo que indica que es una deficiencia (Df(1)n61) que afecta tres unidades de complementación contiguas 16, 17 y 18 ( Fig. 39).

#### Letal n62

También es una pequeña deficiencia que comparte con la anterior la unidad 18 y se extiende una unidad más hacia la derecha. La Df(1)n62 tiene un punto de ruptura entre los letales LB20 y w-4 y el otro entre w-2 y B-214 y sobrevive en combinación con todas las otras deficiencias y letales del segmento (Tabla 35 y Fig. 40).

#### Letal n63

Los resultados de la Tabla 36 indican que con la excepción de AA-33, esta mutación es alélica a todos los letales comprendidos en la deficiencia B-12. La Df(1)n63 sobrevive en combinación con todas las deficiencias y letales a la derecha de E-54 y a la izquierda de E-81, o sea que tiene un largo de 12 unidades de complementación. Su localización se muestra en la Fig. 41.

#### Letal n66

Complementa con la Df(1)n60 (Tabla 37) y con todos los letales a su derecha y es letal con los letales E-81 y AA-33, esto significa que es una deficiencia (Df(1)n66) y que su punto de ruptura proximal está entre E-81 y R-9-28. En combinación con las deficiencias mal-10 y Df(1)n102 muestra el fenotipo "mell" pero no "mal", lo que indica que su punto de ruptura distal estaría entre estas dos mutaciones visi-



TABLA 35: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n62

---

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n62/ B-111	viable
/ "bobbed letal"	normal
/ B-12	letal
/ B-57	viable
/ n66	"
/ n102	"
/ "outheld"	normal
/ n29	viable
/ n1	"
/ E-54	"
/ A-112	"
/ LB20	"
/ w-4	letal
/ w-2	"
/ B-214	viable
/ B-56	"
/ w-1	"
/ A-118	"
/ R-9-28	"
/ E-81	"
/ AA-33	"

TABLA 36: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON EL LETAL n63

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n63/ B-111	viable
/ "bobbed letal"	normal
/ B-12	letal
/ B-57	"
/ n66	"
/ n102	viable
/ "outheld"	normal
/ n29	letal
/ n1	viable
/ E-54	letal
/ A-112	"
/ LB20	"
/ w-4	"
/ w-2	"
/ B-214	"
/ B-56	"
/ w-1	"
/ A-118	"
/ R-9-28	"
/ E-81	"
/ AA-33	viable
/ n75	"
/ mal-10	"

FIG.41: MAPEO DEL LETAL n63 (●)

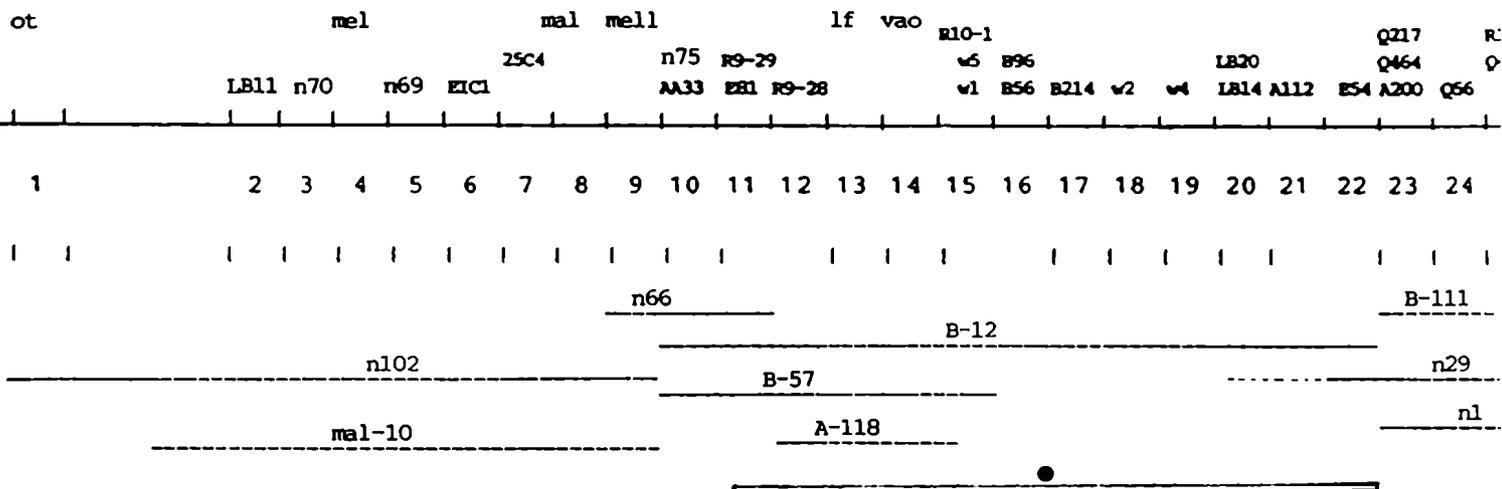
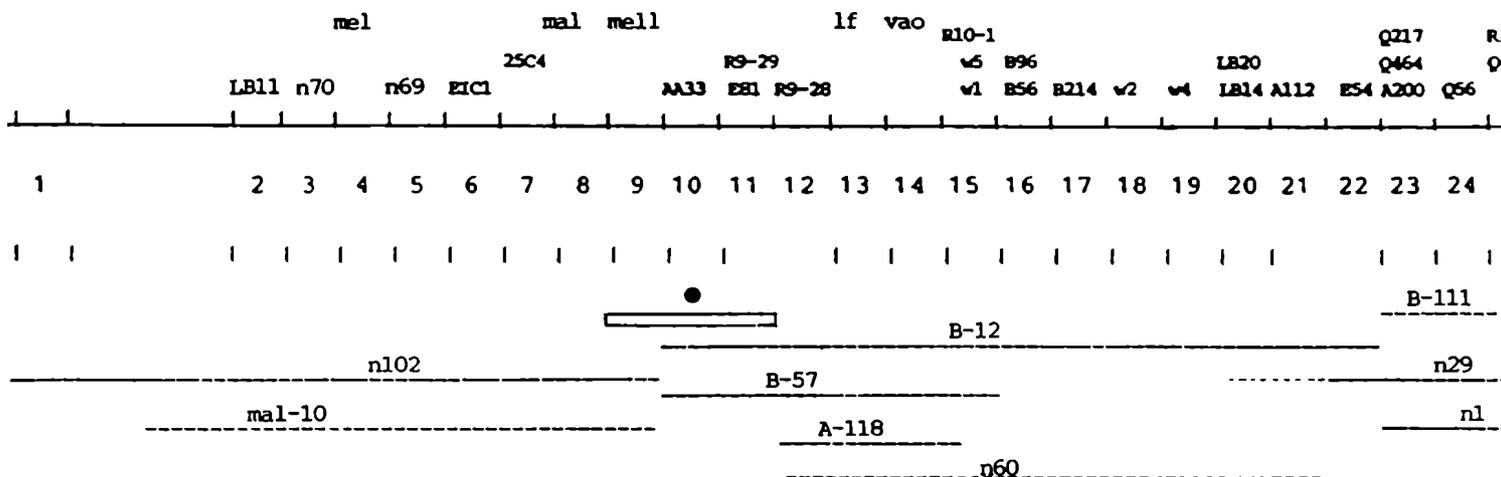


TABLA 37: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON EL LETAL n66

<u>Combinación</u>		<u>Resultado</u>
letal	/ B-111	viabile
	/ "bobbed letal"	normal
	/ B-12	letal
	/ B-57	"
	/ n66	"
	/ n102	visible "mell"
	/ "outheld"	normal
	/ n29	viabile
	/ n1	"
	/ E-54	"
	/ A-112	"
	/ LB20	"
	/ w-4	"
	/ w-2	"
	/ B-214	"
	/ B-56	"
	/ w-1	"
	/ A-118	"
	/ R-9-28	"
	/ E-81	letal
	/ AA-33	"
	/ mal-10	visible "mell"
	/ n60	viabile

FIG.42: MAPEO DEL LETAL n66 (●)



bles (Fig. 42).

Letales n67\* y n79\*

Sobreviven en combinación con el letal R-9-28 y todos los letales a su derecha y no muestran el fenotipo "bb" en combinación con "bbl" (Tabla 38). Según puede verse en la Tabla es letal con AA-33 y E-81, sobrevive con la Df(1)n102 y es "ot<sup>+</sup>", lo que significa que es una deficiencia de solo dos unidades de complementación (10 y 11) (Fig. 43). En ambos casos los machos portadores son estériles.

Letales n75\* y n76\*

Como en el caso anterior son letales alélicos a B-12 y B-57, lo que obligó a cruzarlos con todos los letales alélicos a éstos. Los resultados de la Tabla 39 muestran que son letales con AA-33 y complementan con todas las mutaciones a derecha e izquierda de este letal, es decir que afecta sólo la unidad 10 (Fig. 44). Los l(1)n75 y n76 son macho estéril.

Letal n77\*

Los resultados de la Tabla 40 indican que en combinación con la Df(1)A-118 muestra el fenotipo "vao" y es letal con AA-33. Es letal con Df(1)n66 y con todos los otros letales que afectan una sola unidad de complementación probados. Esto significa que están afectadas sólo dos unidades de complementación, pero que las mismas no son adyacentes, sino que están separadas por un segmento cromosómico normal (unidades 10 y 14) (Fig. 45). Los machos portadores del l(1)n77 son estériles.

Letal n78

**TABLA 38:** RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
LOS LETALES n67\* y n79\*

<u>Combinación</u>		<u>Resultado</u>
letal	/ B-111	viable
	/ "bobbed letal"	normal
	/ B-12	letal
	/ B-57	"
	/ n66	"
	/ n102	viable
	/ "outheld"	normal
	/ n29	viable
	/ n1	"
	/ E-54	"
	/ A-112	"
	/ LB20	"
	/ w-4	"
	/ w-2	"
	/ B-214	"
	/ B-56	"
	/ w-1	"
	/ A-118	"
	/ R-9-28	"
	/ E-81	letal
	/ AA-33	"
	/ mal-10	viable
	/ n60	"

\* macho estéril

**FIG.43:** MAPEO DE LOS LETALES n67 y n79 (●)

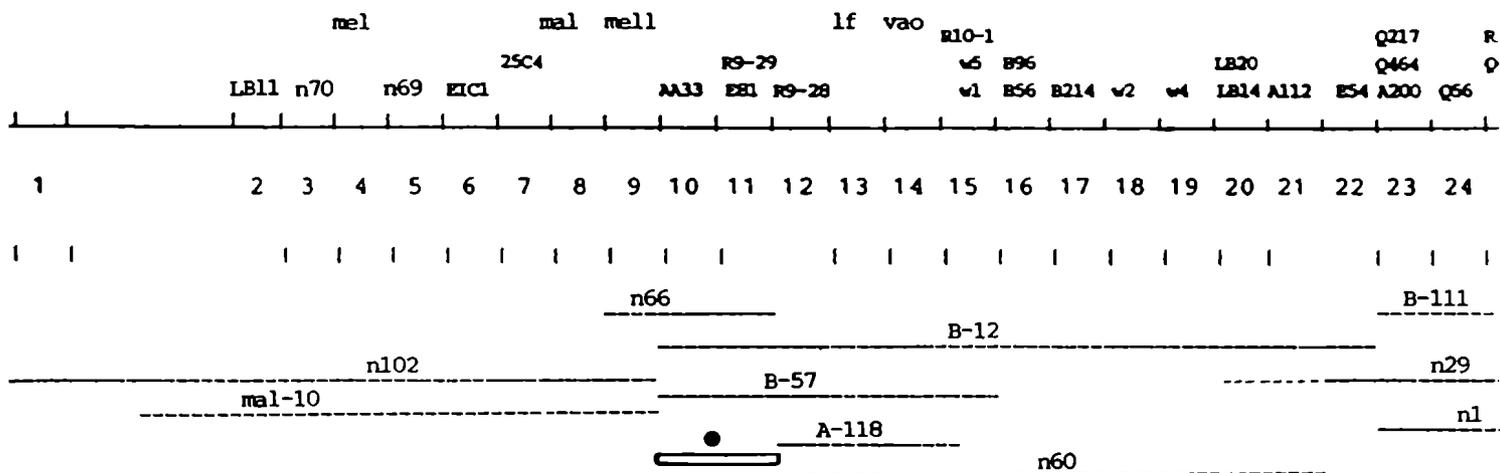


TABLA 39: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
LOS LETALES n75\* y n76\*

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal / B-111	viable
probado / "bobbed letal"	normal
/ B-12	letal
/ B-57	"
/ n66	"
/ n102	viable
/ "outheld"	normal
/ n35	viable
/ E-54	"
/ n63	"
/ E-81	"
/ AA-33	letal
/ mal-10	viable

\* macho estéril

FIG.44: MAPEO DE LOS LETALES n75 y n76 (●)

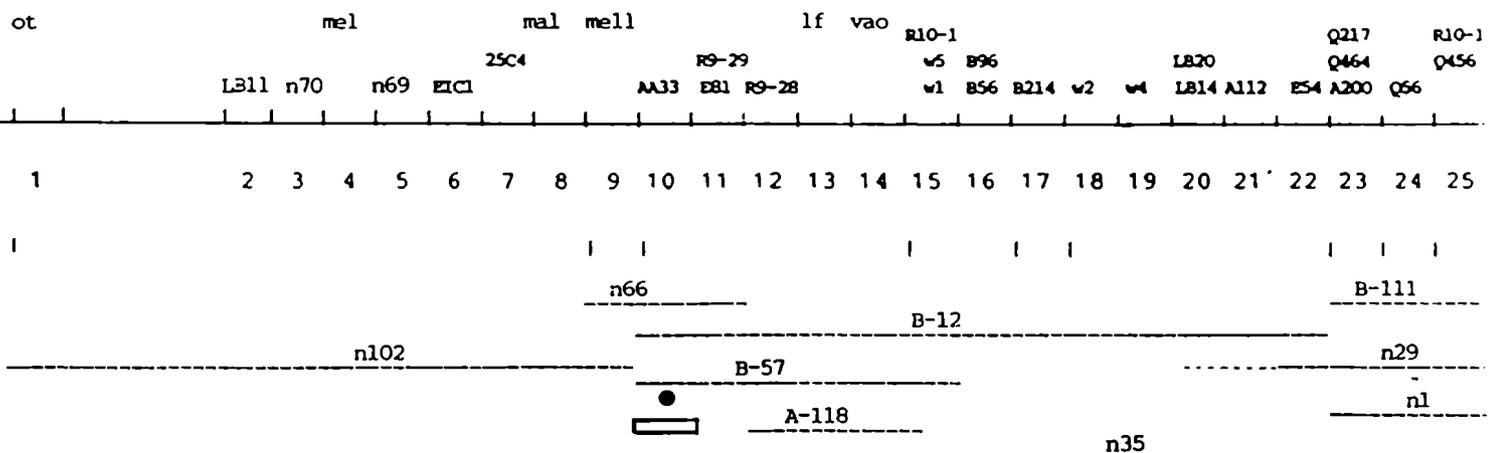
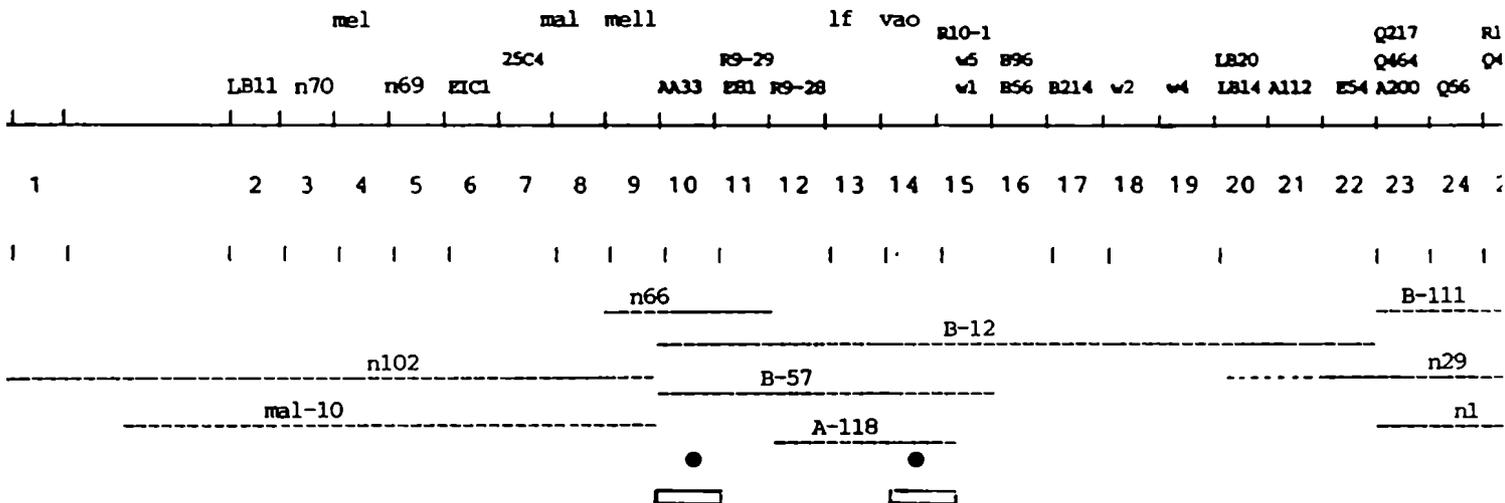


TABLA 40: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n77\*

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n77/ B-111	viable
/ "bobbed letal"	normal
/ B-12	letal
/ B-57	"
/ n66	"
/ n102	viable
/ "outheld"	normal
/ n29	viable
/ n1	"
/ E-54	"
/ A-112	"
/ LB20	"
/ w-4	"
/ w-2	"
/ B-214	"
/ B-56	"
/ w-1	"
/ A-118	visible "vao"
/ R-9-28	viable
/ E-81	"
/ AA-33	letal
/ mal-10	viable
/ "little fly"	normal

\* macho esteril

FIG.45: MAPEO DEL LETAL n77 (●)



Complementa con todos los letales probados a derecha e izquierda de la unidad 15 (Fig. 46). Es alélico a w-1 y afecta una sola unidad de complementación. En los cultivos no muy poblados es posible observar moscas pegadas en la comida que muestran el fenotipo "unc". Los resultados de las pruebas de alelismo con el l(1)n78 se muestran en la Tabla 41.

Letales n85\*, n86\* y n87

Los resultados de la Tabla 42 indican que son alélicos al letal E-81 y complementan con todas las mutaciones a derecha e izquierda de éste (Fig. 47). Es decir que afectan sólo una unidad de complementación. Los machos portadores del l(1)n87 son fértiles y los portadores de los l(1)n85 y l(1)n86 son estériles.

Letal n89

El hecho de que es letal con B-12, pero sobrevive con B-57 y la Df(1)n102 (Tabla 43) indica que está localizado en el segmento más proximal de B-12. Con la excepción del letal A-112 (unidad 21) complementa con todos los letales de dicho segmento (unidades 16 a 22). Es decir que es un letal (l(1)n89) que afecta una sola unidad de complementación (Fig. 48). Los cruzamientos con las Df(1)n29, Df(1)n61 y Df(1)n60 reafirman esta conclusión.

Letales n84, n94, n95, n97, n98 y n100

Son todos letales con E-54 y alélicos entre si, Tabla 44. Complementan con todas las mutaciones a derecha e izquierda de E-54, lo que indica que afectan una sola unidad de complementación. Esto es corroborado por la observa-

TABLA 41: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON EL LETAL n78

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n78 / B-111	viable
/ "bobbed letal"	normal
/ B-12	letal
/ B-57	"
/ n66	viable
/ n102	"
/ "outheld"	normal
/ n32	viable
/ B-56	"
/ w-1	letal
/ A-118	viable
/ n77	"
/ n61	"

FIG.46: MAPEO DEL LETAL n78 (●)

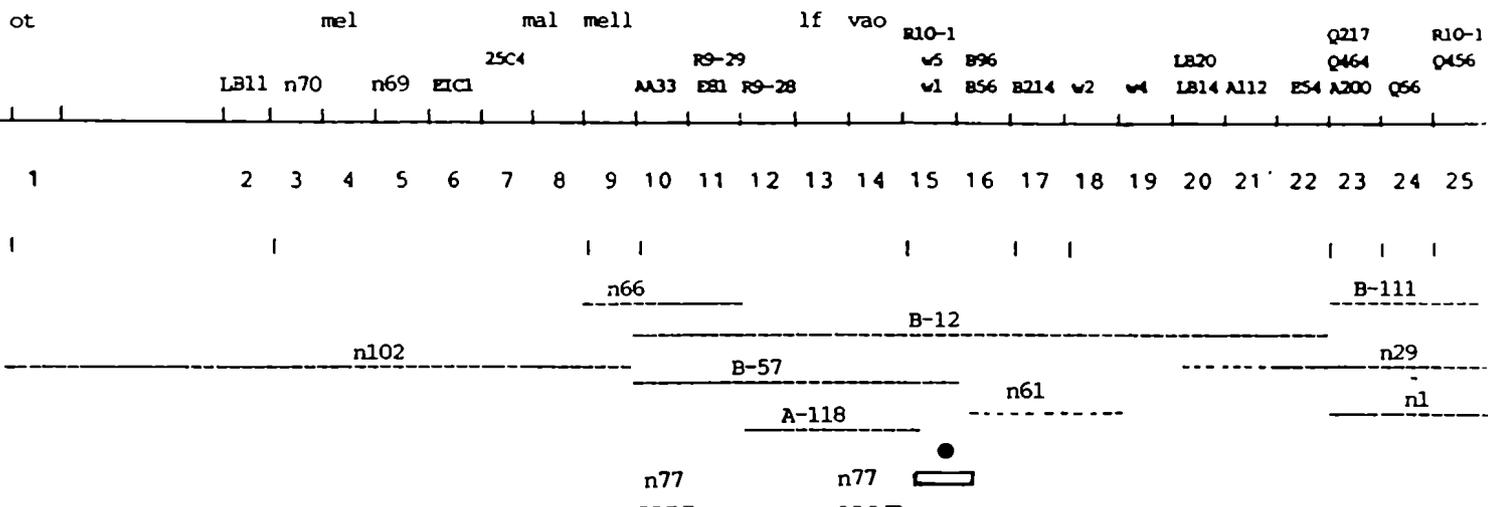


TABLA 42: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
LOS LETALES n85\*-n86\*\*y n87

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal / B-111	viabile
probado / "bobbed letal"	normal
/ B-12	letal
/ B-57	"
/ n66	"
/ n102	viabile
/ "outheld"	normal
/ n32	viabile
/ B-56	"
/ w-1	"
/ A-118	"
/ R-9-28	"
/ E-81	letal
/ AA-33	viabile
/ n60	"
/ n63	letal

\* macho estéril; \*\* macho semi estéril

FIG.47: MAPEO DE LOS LETALES n85 - n86 y n87 (●)

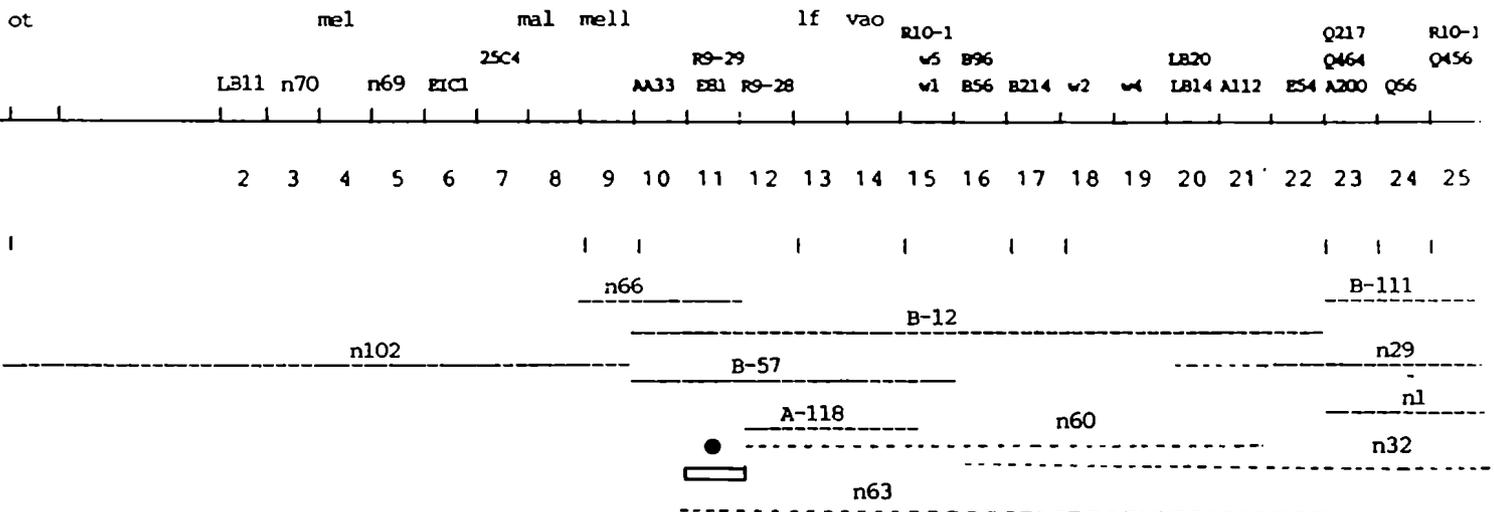
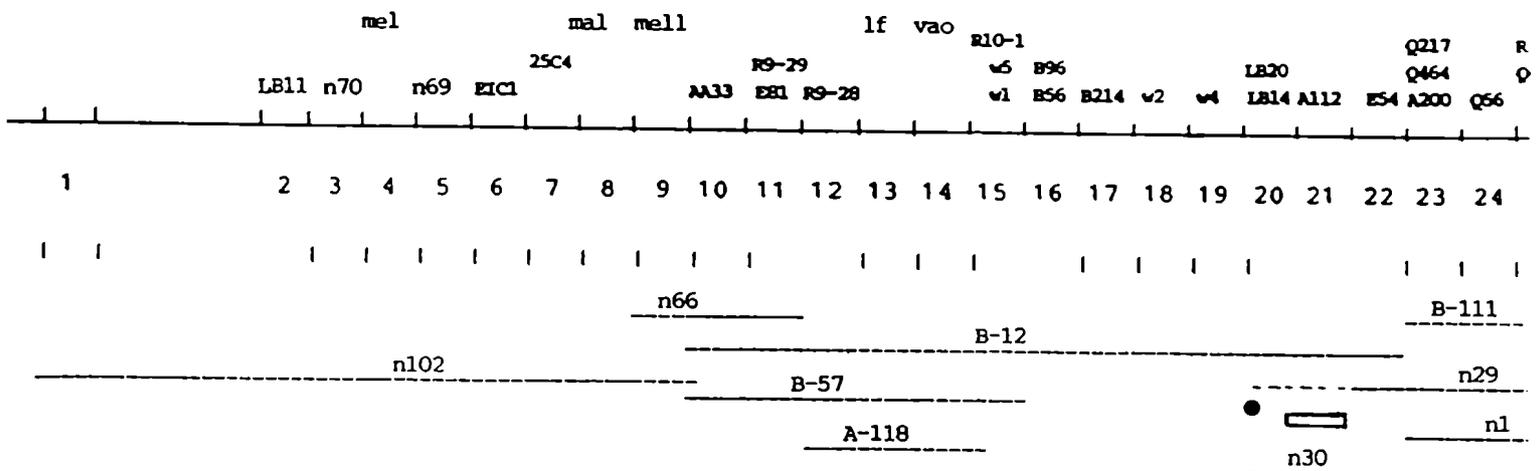


TABLA 43: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n89

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal / B-111	viable
/ "bobbed letal"	normal
/ B-12	letal
/ B-57	viable
/ n66	"
/ n102	"
/ "outheld"	normal
/ n29	letal
/ n1	viable
/ E-54	"
/ A-112	letal
/ LB20	viable
/ w-4	"
/ w-2	"
/ B-214	"
/ B-56	"
/ w-1	"
/ A-118	"
/ R-9-28	"
/ E-81	"
/ AA-33	"
/ n30	letal

FIG.48: MAPEO DEL LETAL n89 (●)



**TABLA 44 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
LOS LETALES n84-n94-n95-n97-n98 y n100**

---

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal / B-111	viable
probado / "bobbed letal"	normal
/ B-12	letal
/ B-57	viable
/ n66	"
/ n102	"
/ "outheld"	normal
/ n29	letal
/ n1	viable
/ E-54	letal
/ A-112	viable
/ LB20	"
/ w-4	"
/ w-2	"
/ B-214	"
/ B-56	"
/ w-1	"
/ A-118	"
/ R-9-28	"
/ E-81	"
/ AA-33	"

ción de que son viables en combinación con B-111 y con la Df(1)n60 y letales en combinación con las Df(1)n52 y n29 que se superponen solamente en la unidad 22. Se muestran en la Fig. 49 y se designan l(1)n84, etc.

#### Letal n103

En la Tabla 45 puede verse que es alélico al letal R-9-28 y complementa con todas las otras mutaciones a su derecha e izquierda, es decir que afecta sólo una unidad (l(1)n103). Esto es corroborado por los resultados obtenidos en los cruzamientos con las deficiencias n35, n66, n60 y T2-4A (Fig. 50). Los machos portadores del letal n103 son estériles.

#### 3) Letales clase 4 (alélicos a las deficiencias B-111 y B-12)

El análisis de estos letales exige llevar a cabo pruebas de complementación con todas las mutaciones conocidas en el segmento comprendido por dichas deficiencias, ya que puede tratarse de letales múltiples o largas deficiencias.

#### Letales n30 y n31\*

De los resultados de la Tabla 46 surge que son letales en combinación con todos los letales incluidos en la Df(1)(B-111 y son  $bb^+$ . El hecho de que sobreviven en combinación con las deficiencias n102 y B-57 indica que su punto de ruptura distal tiene que estar a la derecha de esta última. En efecto, las deficiencias se extienden hacia la izquierda hasta el letal LB20 y complementan con w-4. El punto



TABLA 46: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
LOS LETALES n30 y n31\*

<u>Combinación</u>		<u>Resultado</u>
letal	/ B-111	letal
probado	/ B-57	viable
	/ B-12	letal
	/ n66	viable
	/ n102	"
	/ A-200	letal
	/ Q-56	"
	/ Q-456	"
	/ 114	"
	/ x-3	"
	/ P-19	"
	/ Q-463	"
	/ x-4	"
	/ R-9-18	"
	/ 3-Des	"
	/ "outheld"	normal
	/ "bobbed letal"	"
	/ B-56	viable
	/ B-214	"
	/ w-2	"
	/ w-4	"
	/ LB20	letal
	/ n89	"
	/ n94	"
	/ n78	viable
	/ n61	"
	/ n62	"

\* macho estéril



de ruptura distal es corroborado por los resultados de los cruzamientos con Df(1)n61 y n62. Los machos portadores de la Df(1)n30 son fértiles y los machos de la Df(1)n31 que tiene la misma extensión son estériles. Su localización se muestra en la Fig. 51.

#### Letal n32

También resultó alélico a todas las mutaciones comprendidas en la Df(1)B111 y resultó letal en combinación con "bbl", lo que significa que su punto de ruptura distal está a la derecha de "bb" (Tabla 47). Sobrevive en combinación con la Df(1)B-57 y es letal con todos los letales que mapean a su derecha. Es decir que su punto de ruptura distal coincide con el de esta última deficiencia entre los letales w-1 y B-56. Al ser "ot<sup>+</sup>" y sobrevivir en combinación con la Df(1)n102 queda confirmado que la Df(1)n32 no tiene ningún otro letal más allá del punto de ruptura izquierdo indicado (Fig. 52).

#### Letal n33

Según los resultados de la Tabla 48 muestra el fenotipo "bb" en combinación con "bbl" y es alélico a todas las mutaciones que mapean a su izquierda incluida "ot". Es decir que se trata de una gran deficiencia (Df(1)n32) que abarca todo el segmento cubierto por el cromosoma mal<sup>+</sup>Y (Fig. 53). Esta deficiencia es la única que hemos encontrado con estas características y es interesante señalar que a pesar de su gran tamaño los machos portadores son fértiles.

#### Letal n34

Este letal complementa con las mutaciones a la de-

TABLA 47 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n32

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n32/ B-111	letal
/ B-57	viable
/ B-12	letal
/ n66	viable
/ n102	"
/ A-200	letal
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	"
/ x-3	"
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "outheld"	normal
/ "bobbed letal"	letal
/ B-56	"
/ B-214	"
/ w-2	"
/ w-4	"
/ LB20	"
/ n89	"
/ n94	"
/ n78	viable

FIG 52: MAPEO DEL LETAL n32 (●)

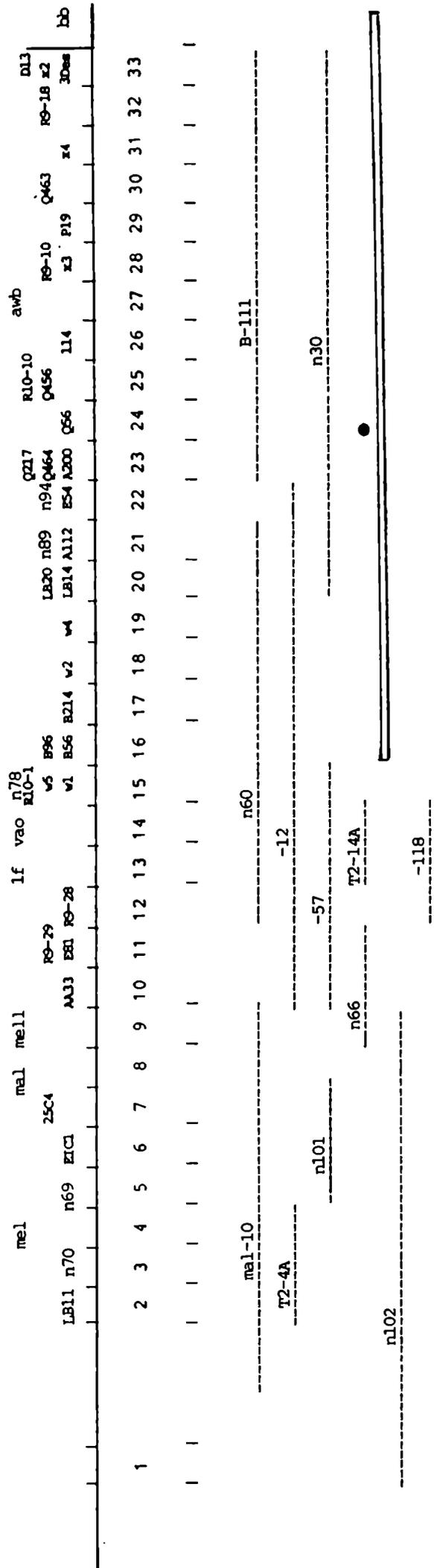


TABLA 48: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n33

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n33/ B-111	letal
/ B-57	"
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	"
/ A-200	"
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	"
/ x-3	"
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "outheld"	visible "ot"
/ "bobbed letal"	" "bb"
/ B-56	letal
/ B-214	"
/ w-2	"
/ w-4	"
/ LB20	"
/ n89	"
/ n94	"
/ n78	"
/ E-54	"
/ A-112	"
/ w-1	"
/ A-118	"
/ R-9-28	"
/ E-81	"
/ AA-33	"
/ "maroon like"	visible "mal"
/ 25C4	letal
/ ELC1	"
/ T2-4A	"
/ n69	"
/ n70	"
/ n71	"
/ n101	"

FIG 53: MAPEO DEL LETAL n33 (●)

	mel	mal	mell	1f	vao	n78 R10-1	B96	v4	B214	v2	w4	LB14	AL12	ES4	A200	Q56	R10-10 Q456	awb	RS-10 x3	P19	x4	RS-18	x2	DL3	DL3		
1	LB11	n70	n69	EICI	25C4	AAJ3	EB1	RS-28																		bb	
2																											
3																											
4																											
5																											
6																											
7																											
8																											
9																											
10																											
11																											
12																											
13																											
14																											
15																											
16																											
17																											
18																											
19																											
20																											
21																											
22																											
23																											
24																											
25																											
26																											
27																											
28																											
29																											
30																											
31																											
32																											
33																											
					</																						

recha de B-57 y es letal en combinación con esta deficiencia y B-12, lo que confina el análisis al subsegmento que va de la unidad 10 a la 33. Los resultados de la Tabla 49 indican que es letal en combinación con todos los letales desde la unidad 15 (w-1) a la derecha. En combinación con la deficiencia Q-539 no muestra el fenotipo "vao", lo que ubicaría el punto de ruptura distal de la Df(1)n34 entre este visible y w-1. La Tabla también muestra que es "bb<sup>+</sup>", es decir que esta deficiencia tiene su punto de ruptura proximal entre el letal 3-Des y el alelo normal para "bb" (Fig. 54).

#### Letales n35 y n36\*

Ambos letales complementan con el letal E-81 y todas las mutaciones a la izquierda de éste y son letales en combinación con todos los letales a la derecha de w-1 (unidad 15) incluido "bbl" (Tabla 50). En la Fig. 55 se ha indicado el punto de ruptura distal entre las unidades 12 y 13 aunque es posible que esté entre las unidades 13 y 14. Esto no ha podido ser determinado con exactitud porque si bien las Df(1)n35 y n36 son letales en combinación con la deficiencia T2-14A, ésta afecta a dos unidades (la 13 y la 14) y el efecto letal observado podría deberse a cualquiera de ellas. Mayor precisión se obtendría si contáramos con una mutación letal que afectara sólo la unidad 13 o con una deficiencia con su punto de ruptura proximal a la derecha de esta unidad. Los cruzamientos con T2-14A se repitieron varias veces y en algunos casos aparecieron unas pocas hembras que mostraron el fenotipo "vao", pero ninguna el fenotipo "lf" y por ello el punto de ruptura se ubicó entre estas dos

TABLA 49 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n34

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n34/ B-111	letal
/ B-57	"
/ B-12	"
/ n66	viable
/ n102	"
/ A-200	letal
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	"
/ x-3	"
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "outheld"	normal
/ "bobbed letal"	"
/ B-56	letal
/ B-214	"
/ w-2	"
/ w-4	"
/ LB20	"
/ n89	"
/ n94	"
/ n78	"
/ A-118	viable



TABLA 50 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
 LOS LETALES n35 y n36\*

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal / B-111	letal
probado / B-57	"
/ B-12	"
/ n66	viable
/ n102	"
/ A-200	letal
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	"
/ x-3	"
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "outheld"	normal
/ "bobbed letal"	letal
/ B-56	"
/ B-214	"
/ w-2	"
/ w-4	"
/ LB20	"
/ n89	"
/ n94	"
/ n78	"
/ A-118	"
/ R-9-28	viable
/ E-81	"
/ AA-33	"
/ T2-14A	letal

\* macho estéril



mutaciones. Sin embargo, como se aclaró previamente estas hembras son muy poco viables y dicho punto no es seguro. Los machos portadores de la Df(1)n35 son fértiles y los portadores de la Df(1)n36 son estériles.

Letal n37\*

De los resultados de la Tabla 51 surge que también se trata de una larga deficiencia, Df(1)n37, con su punto de ruptura proximal similar a las deficiencias anteriores, es decir a la derecha de "bb". El punto de ruptura distal está entre los letales E-81 y AA-33 y complementa con las mutaciones a la derecha de este último (Fig. 56). Los machos portadores de esta deficiencia son estériles.

Letales n38 y n40

Como en los casos anteriores se trata de largas deficiencias (Tabla 52) que son letales en combinación con "bbl" a la derecha y se extienden sin interrupción hasta la unidad 10 (AA-33) a la izquierda (Fig. 57). El hecho de que sean "ot<sup>+</sup>" y complementan con la Df(1)102 indica que no tienen ningún letal adicional a la izquierda de la Df(1)B-12. Los machos portadores de la Df(1)n38 son estériles y los portadores de la Df(1)n40 son fértiles.

Letales n29, n58 y n96

Los resultados de la Tabla 53 indican que son alélicos a todos los letales comprendidos en la deficiencia B-111 y dan fenotipo normal en combinación con "bbl", es decir que se trata de deficiencias con su punto de ruptura proximal a la derecha del letal 3-Des. El punto de ruptura distal estaría entre las unidades 21 y 22 ya que son letales

TABLA 51: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n37\*

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n37/ B-111	letal
/ B-57	"
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	viable
/ A-200	letal
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	"
/ x-3	"
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "outheld"	normal
/ "bobbed letal"	letal
/ B-56	"
/ B-214	"
/ w-2	"
/ w-4	"
/ LB20	"
/ n89	"
/ n94	"
/ n78	"
/ A-118	"
/ R-9-28	"
/ E-81	"
/ AA-33	viable
/ mal-10	"

\* macho estéril

FIG 56: MAPEO DEL LETAL n37 (●)

	mel	mal	mell	if	vao	n78 R10-1	RS-29	RS-10	RS-10	RS-10	RS-10	RS-18	DL3
	LB11 n70	n69 EICI	25C4	AA33	RS-28	RS-29	RS-28						
1													
2													
3													
4													
5													
6													
7													
8													
9													
10													
11													
12													
13													
14													
15													
16													
17													
18													
19													
20													
21													
22													
23													
24													
25													
26													
27													
28													
29													
30													
31													
32													
33													



TABLA 52 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
LOS LETALES n38\*y n40

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal / B-111	letal
probado / B-57	"
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	viabile
/ A-200	letal
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	"
/ x-3	"
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "outheld"	normal
/ "bobbed letal"	letal
/ B-56	"
/ B-214	"
/ w-2	"
/ w-4	"
/ LB20	"
/ n89	"
/ n94	"
/ n78	"
/ A-118	"
/ R-9-28	"
/ E-81	"
/ AA-33	"
/ mal-10	viabile

\* macho estéril



TABLA 53: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
LOS LETALES n29- n58 y n96

<u>Combinación</u>		<u>Resultado</u>
letal	/ B-111	letal
probado	/ B-57	viable
	/ B-12	letal
	/ n66	viable
	/ n102	"
	/ A-200	letal
	/ Q-56	"
	/ Q-456	"
	/ 114	"
	/ x-3	"
	/ P-19	"
	/ Q-463	"
	/ x-4	"
	/ R-9-18	"
	/ 3-Des	"
	/ "outheld"	normal
	/ "bobbed letal"	"
	/ B-56	viable
	/ B-214	"
	/ w-2	"
	/ w-4	"
	/ LB20	"
	/ n89	"
	/ n94	letal
	/ n78	viable
	/ n61	"
	/ n62	"
	/ E-54	letal

FIG 58: MAPEO DE LOS LETALES n29-n58 y n96 (●)

	mel	mal	mell	lf	vao	n78 R10-1	w5	B96	w1	B56	B214	v2	w4	L814	A112	E54	A200	Q56	R10-10	Q456	114	x3	P19	Q463	x4	R9-18	x2	D13	30ms	bb																	
1	LB11 n70	n69	E1C1	25C4	mal	mell	RS-29	RS-28	AAJ3	EBI	RS-28	if	vao	n78 R10-1	w5	B96	w1	B56	B214	v2	w4	L814	A112	E54	A200	Q56	R10-10	Q456	114	x3	P19	Q463	x4	R9-18	x2	D13	30ms	bb									
2																																															
3																																															
4																																															
5																																															
6																																															
7																																															
8																																															
9																																															
10																																															
11																																															
12																																															
13																																															
14																																															
15																																															
16																																															
17																																															
18																																															
19																																															
20																																															
21																																															
22																																															
23																																															
24																																															
25																																															
26																																															
27																																															
28																																															
29																																															
30																																															
31																																															
32																																															
33																																															

●

en combinación con los letales E-54 y n94 y complementan con el letal n89 y todas las mutaciones a la izquierda de éste (Fig. 58). De acuerdo a esto se designan Df(1)n29 y Df(1)n58.

#### Letales n53 y n55

Complementan con el letal 114 y todas las mutaciones a su derecha y muestran fenotipo normal en combinación con "bbl" (Tabla 54). Son alélicos a Q-456 y a todas las mutaciones ubicadas entre este letal y el letal AA-33. Es decir que se trata de dos deficiencias iguales (Df(1)n53 y Df(1)n55), con su punto de ruptura proximal entre las unidades 25 y 26 y su punto de ruptura distal entre las unidades 9 y 10, ya que sobreviven en combinación con la deficiencia n102 (Fig. 59).

#### Letal n56\*

También se trata de una deficiencia (Tabla 55) con su punto de ruptura distal similar a los casos anteriores entre el letal AA-33 y la deficiencia mal-10. La Df(1)n56 se extiende sin interrupción hacia la derecha hasta la unidad 27, porque muestra el fenotipo "awb" en combinación con la deficiencia n24 y complementa con el letal x-3 y con todos los letales a su derecha (Fig. 60). Los machos portadores de esta deficiencia son estériles.

4) Letales clase 5 (no alélicos a la deficiencia B-111 ni a la deficiencia B-12)

La localización de estos letales planteó un serio problema durante las primeras etapas del trabajo debido a que se pensaba que las deficiencias B111 y B-12 comprendían

TABLA 54 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
LOS LETALES n53 y n55

<u>Combinación</u>		<u>Resultado</u>
letal	/ B-111	letal
probado	/ B-57	"
	/ B-12	"
	/ n66	"
	/ n102	viable
	/ A-200	letal
	/ Q-56	"
	/ Q-456	"
	/ 114	viable
	/ x-3	"
	/ P-19	"
	/ Q-463	"
	/ x-4	"
	/ R-9-18	"
	/ 3-Des	"
	/ "outheld"	normal
	/ "bobbed letal"	"
	/ B-56	letal
	/ B-214	"
	/ w-2	"
	/ w-4	"
	/ LB20	"
	/ n89	"
	/ n94	"
	/ n78	"
	/ E-81	letal
	/ AA-33	"
	/ n24	viable
	/ mal-10	"
	/ T2-14A	letal



TABLA 55: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n56\*

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n56/ B-111	letal
/ B-57	"
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	viable
/ A-200	letal
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	"
/ x-3	viable
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "outheld"	normal
/ "bobbed letal"	"
/ B-56	letal
/ B-214	"
/ w-2	"
/ w-4	"
/ LB20	"
/ n89	"
/ n94	"
/ n78	"
/ n20	viable
/ n24	visible "awb"
/ n23	" "
/ E-81	letal
/ AA-33	"
/ mal-10	viable
/ T2-14A	letal

\* macho estéril

FIG 60: MAPEO DEL LETAL n56 (●)

	mel	mal	me11	if	vao	n78	n10-1	awb	n10-10	Q217	Q463	P19	x4	R9-18	x2	DL3													
1	LB11 n70	n69	EICI	25C4	mal	me11	R9-29	ES1	R9-28	v1	B56	B214	w2	w4	LB14	A112	ES4	A200	Q56	Q456	114	x3	P19	x4	R9-18	x2	DL3		
2																													
3																													
4																													
5																													
6																													
7																													
8																													
9																													
10																													
11																													
12																													
13																													
14																													
15																													
16																													
17																													
18																													
19																													
20																													
21																													
22																													
23																													
24																													
25																													
26																													
27																													
28																													
29																													
30																													
31																													
32																													
33																													



la totalidad del segmento cubierto por el cromosoma mal<sup>+</sup>Y (41, 42). Es decir que todos los letales cubiertos por esta duplicación debían necesariamente ser alélicos por lo menos a una de las dos deficiencias. Como ya se indicó, esto no es así y a la izquierda de B-12 se localizan mutaciones que son cubiertas por el cromosoma mal<sup>+</sup> y definen por lo menos 9 unidades de complementación.

#### Letal n69\*

Los resultados de la Tabla 56 indican que este letal es alélico a las deficiencias n102 y mal-10 y da hembras viables en combinación con las deficiencias n54 y T2-4A. Es decir que podría estar ubicado entre estas dos deficiencias o a la izquierda del punto de ruptura distal de T2-4A. Sin embargo, su letalidad en combinación con la deficiencia mal-6 indica que su ubicación sería entre el visible "mel" y el letal ELC1. De esta forma el l(1)n69 define una nueva unidad de complementación que se suma a las ya conocidas en la Sección 19C del cromosoma politénico. En la Fig. 61 corresponde a la unidad número 5. Los machos portadores del letal n69 son estériles.

#### Letales n68\* y n102

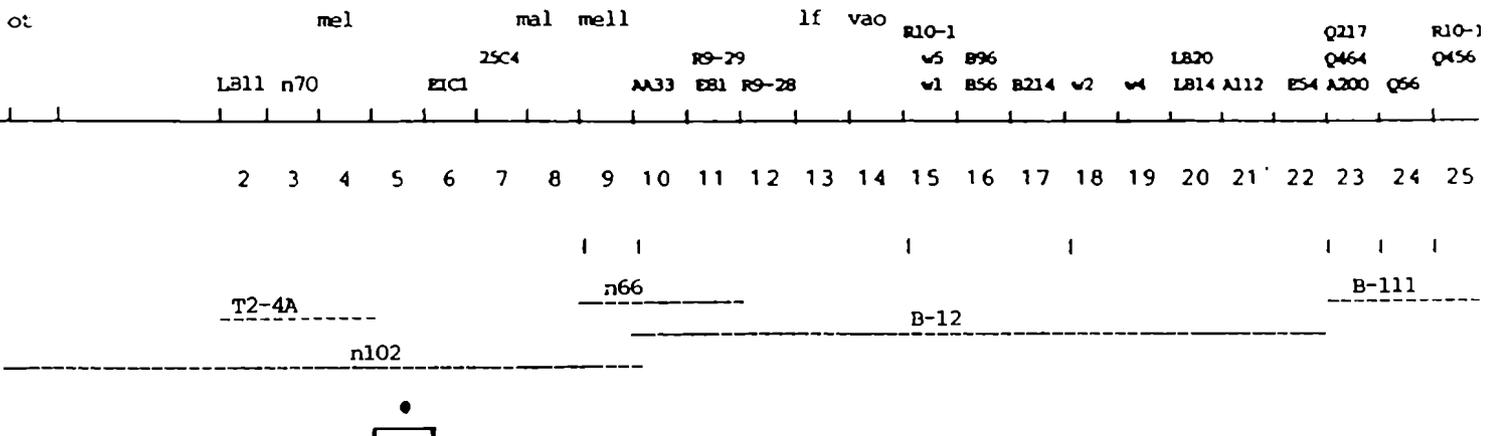
Según puede verse en la Tabla 57 son alélicos a todas las mutaciones a la izquierda de AA-33, pero "ot<sup>+</sup>". Sobre esta base su punto de ruptura distal se fijó a la derecha de este visible. Se trata de dos deficiencias iguales (Df(1)n68 y Df(1)n102) con su punto de ruptura proximal a la derecha de "mell", porque muestra este fenotipo en combinación con la deficiencia n66 y los visibles "mell" y "mal"

TABLA 56: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n69\*

Combinación	Resultado
Letal n69 / B-111	viable
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	letal
/ outheld"	normal
/ "bobbed letal"	"
/ AA-33	viable
/ 25C4	"
/ ELC1	"
/ n70	"
/ LB11	"
/ T2-4A	"
/ "maroon like"	normal

\* macho estéril

FIG.61 : MAPEO DEL LETAL n69 (●)





en combinación con Df(1)n54 (Fig. 62). Los machos portadores de n68 son estériles y los portadores de n102 fértiles.

#### Letal n71

De los resultados de la Tabla 58 surge que complementa con todas las mutaciones alélicas a la deficiencia mal-10, con la excepción del letal LB11. También resulta letal en combinación con la deficiencia T2-4A y otros autores (68) han encontrado que a 29-30°C muestra el fenotipo "short wings" (sw) pero no a 24-25°C. Nosotros tampoco hemos observado este efecto a esta última temperatura. Como puede verse en la Fig. 63 "sw" es un alelo del letal LB11 (unidad número 2). La escases de mutaciones que afectan una sola unidad de complementación y de pequeñas deficiencias en esta región, impiden precisar si en el l(1)n71 se encuentra afectada sólo una unidad de complementación.

#### Letales n70, n72 y n73

Estos tres letales son letales entre si y alélicos a la Df(1)T2-4A, pero complementan con el visible "mel" y con los letales n71 y LB11 que son alélicos. Sobre la base de los datos de la Tabla 59 estos letales definirían una nueva unidad de complementación en el segmento cubierto por el cromosoma mal<sup>+</sup> Y, que ha sido identificada en la Fig. 64 con el número 3. Es decir entre "mel" y el letal n71. Con esta adición más el letal n69 descrito previamente, el número de unidades de complementación identificadas en la Sección 19C del cromosoma politénico que contiene 6 bandas, se eleva a 5.

#### Letal n101

TABLA 58 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n71

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n71 / B-111	viabile
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	letal
/ "outheld"	normal
/ "bobbed letal"	"
/ AA-33	viabile
/ 25C4	"
/ ELC1	"
/ n70	"
/ n69	"
/ mal-10	letal
/ LB11	"
/ T2-4A	"
/ "short wings"	visible "sw"
/ n101	viabile
/ "melanized"	normal

FIG.63: MAPEO DEL LETAL n71 (●)

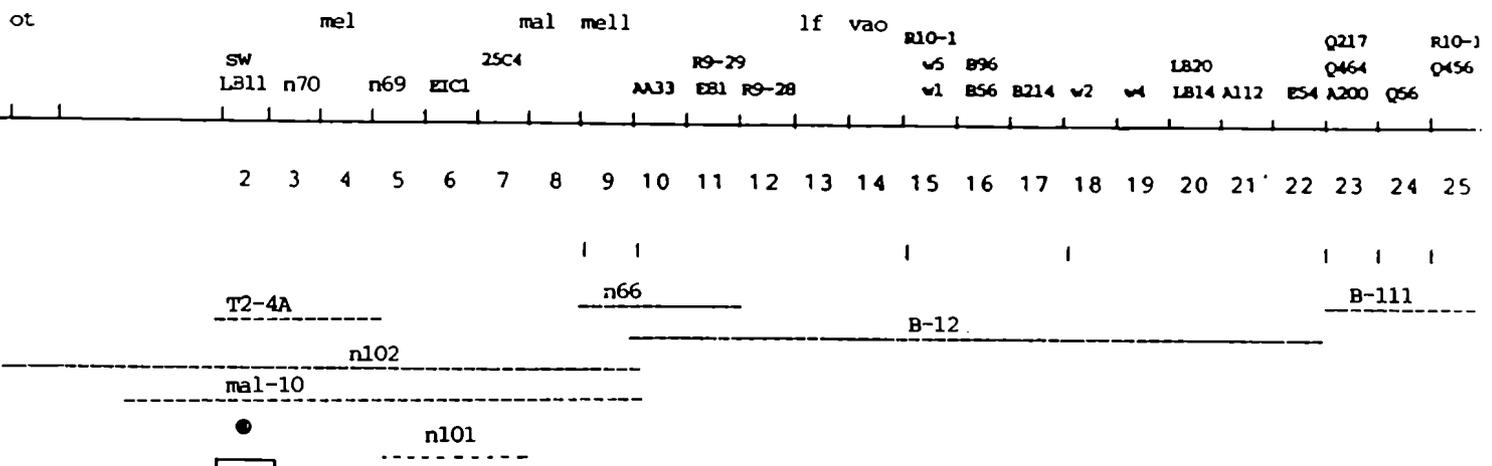
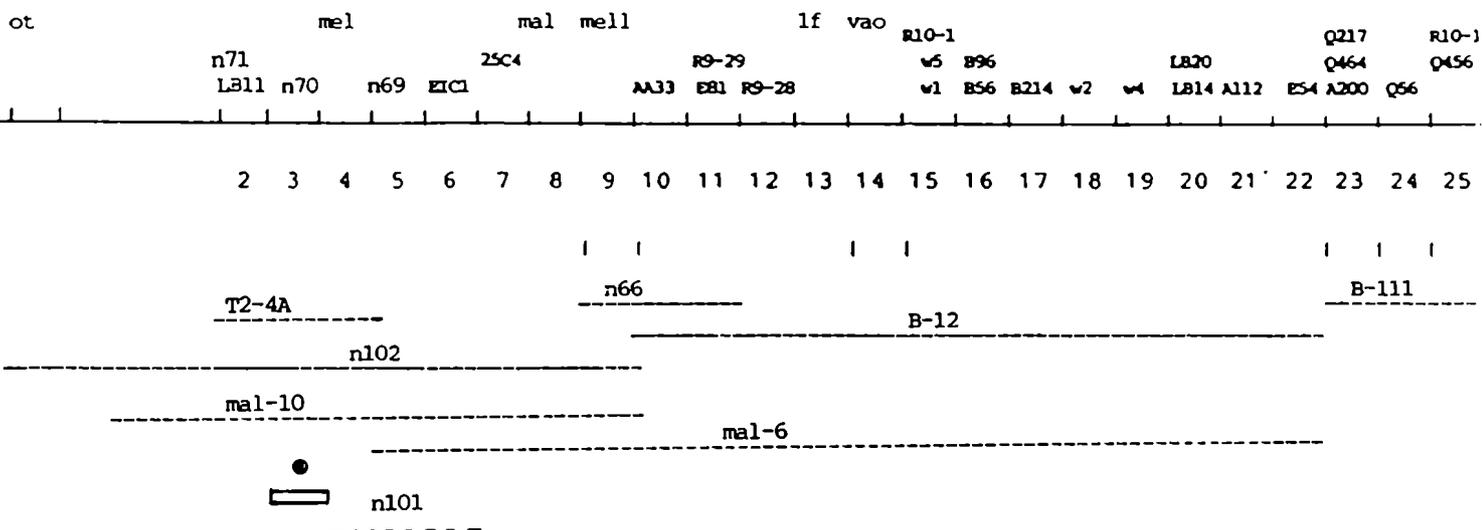


TABLA 59: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
LOS LETALES n70-n72 y n73

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal / B-111	viable
probado / B-12	"
/ n66	"
/ n102	letal
/ "outheld"	normal
/ "bobbed letal"	"
/ AA-33	viable
/ 25C4	"
/ ELC1	"
/ n69	"
/ n71	"
/ T2-4A	letal
/ mal-6	viable
/ mal-10	letal
/ n101	viable
/ "melanized"	normal

FIG.64: MAPEO DE LOS LETALES n70-n72 y n73 (●)



Este letal se perdió antes de que su extensión exacta pudiera ser establecida. En la Fig. 71 aparece en la parte inferior izquierda y ha sido dibujado con línea entrecortada.

Este letal sobrevive con todos los letales y deficiencias ubicadas a la derecha del letal AA-33 (unidad 10) y es letal con las deficiencias mal-6 y mal-10 (Tabla 60 y Fig. 65). Su extremo izquierdo fué fijado a la derecha de "mel" sobre la base de que sobrevive con los letales n70, n72 y n73 y no muestra el fenotipo "mel" en combinación con la deficiencia T2-4A. Su extremo derecho estaría a la izquierda de "mal", ya que complementa con esta mutación y las hembras 1(1)n101/Df(1)n54 son normales. Estos resultados indican que podría tratarse de un letal que afecta solamente una unidad entre "mel" y "mal" o de una deficiencia con una extensión máxima de tres unidades de complementación (5, 6, 7). El 1(1)n101 no pudo ser cruzado con el letal n69, que hemos ubicado en la unidad N° 5, debido a que en ambos casos los machos son estériles. Por las razones señaladas este letal ha sido computado como no mapeado para calcular la relación entre letales que afectan una unidad de complementación y deficiencias (ver más adelante).

5) Letales clase 6 (no cubiertos por el cromosoma mal<sup>+</sup>Y, pero alélicos a las deficiencias B-111 y/o B-12)

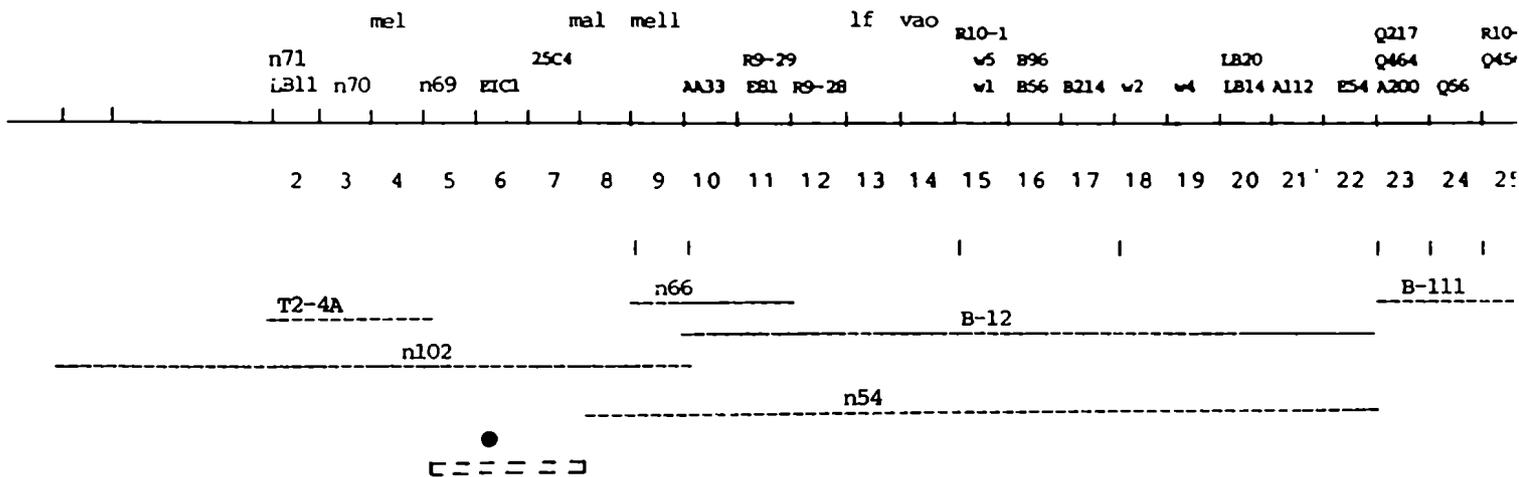
El hecho de que estos letales no sobrevivan en combinación con alguna de estas deficiencias, ni sean cubiertos por la duplicación del cromosoma X unidad al cromosoma Y,

TABLA 60: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n101\*

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n101 / B-111	viable
/ B-12	"
/ n66	"
/ n102	letal
/ AA-33	viable
/ n54	"
/ 25C4	no probado
/ ELC1	no probado
/ n70	viable
/ n71	"
/ T2-4A	"
/ n69	no probado, ambas cepas macho estéril

\* macho estéril

FIG.65: MAPEO DEL LETAL n101 (●)



indica que se trata de grandes deficiencias o de letales dobles, uno cubierto y otro no cubierto. Si bien el análisis de estos letales resulta de gran interés, han sido excluidos de los cálculos finales debido a que la región cromosómica dañada excede el segmento preseleccionado para el estudio.

#### Letales n39, n41 y n42

Los resultados obtenidos en los cruzamientos con estos letales pueden verse en las Tablas 61 y 62. El hecho de que sean alélicos a todas las mutaciones probadas, indica que se trata de grandes deficiencias (Df(1)n39, Df(1)n41 y Df(1)n42), que se extienden desde el visible "bb" cerca del centrómero, sin interrupción hacia la izquierda, con su punto de ruptura distal más allá del visible "outheld" (ot). El punto de ruptura proximal de la deficiencia n41 está en la región de "bobbed" porque en combinación con "bbl" muestra un efecto visible muy pronunciado (Fig. 67). El punto de ruptura proximal de las otras dos deficiencias está a la derecha del alelo normal de "bb", porque las combinaciones Df(1)n39/bbl y Df(1)n42/bbl son letales (Fig. 66).

#### Letal n57

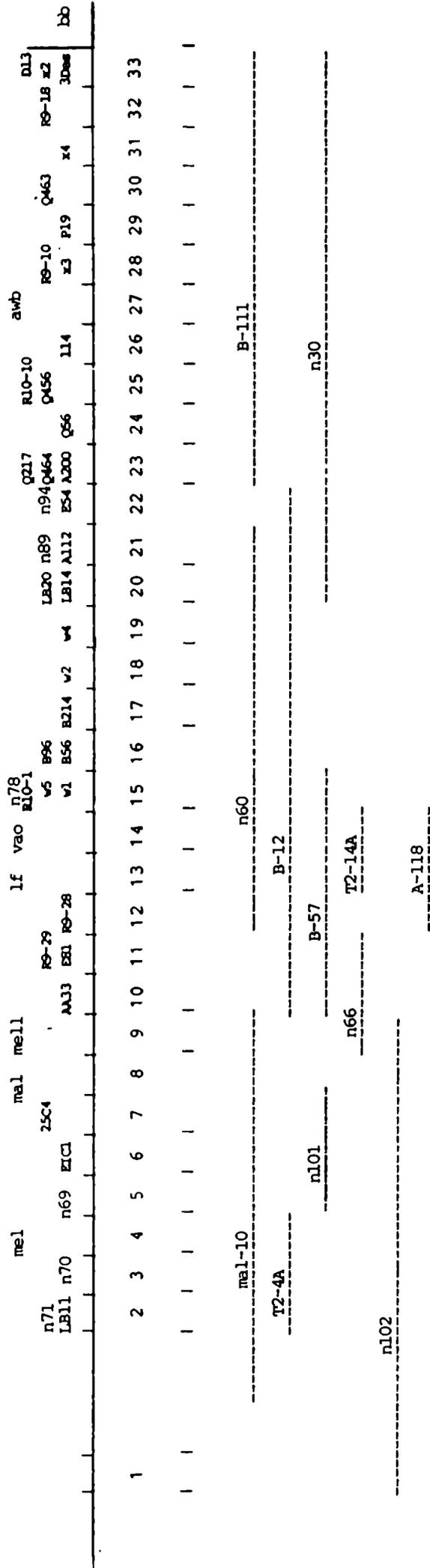
Este letal sobrevive en combinación con la deficiencia B-111, es "bb<sup>+</sup>" y alélico a E-54 y todas las mutaciones a su izquierda (Tabla 63). Es decir que se trata de una deficiencia (Df(1)n57) con su punto de ruptura proximal entre los letales E-54 y A-200 (Fig. 68). El punto de ruptura distal está más allá del extremo izquierdo del cromosoma mal<sup>+</sup>Y.

#### Letal n64

TABLA 61: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO  
CON LOS LETALES n39 y n42

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal / B-111	letal
probado / B-57	"
/ B-12	"
/ n-66	"
/ n-102	"
/ A-200	"
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	"
/ x-3	"
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "outheld"	visible "ot"
/ "bobbed letal"	letal
/ E-54	"
/ A-112	"
/ LB20	"
/ w-4	"
/ w-2	"
/ B-214	"
/ B-56	"
/ w-1	"
/ A-118	"
/ R-9-28	"
/ E-81	"
/ AA-33	"
/ "maroon like"	visible "mal"
/ 25C4	letal
/ ElC1	"
/ T2-4A	"
/ n69	"
/ n70	"
/ n71	"
/ n101	"

FIG 66: MAPEO DE LOS LETALES n39 y n42 (●)

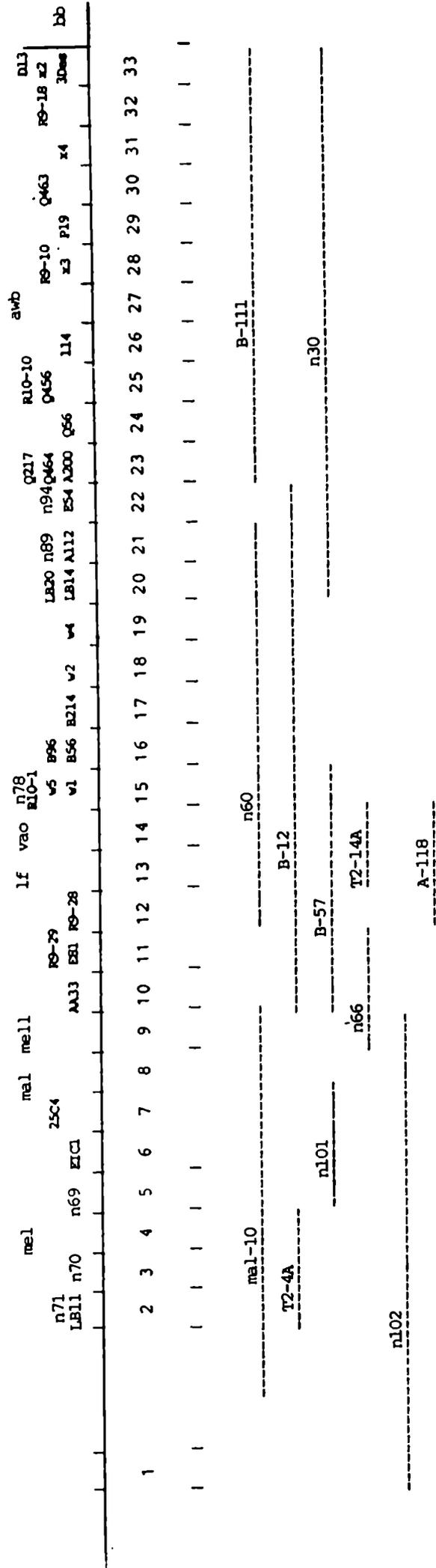


●

TABLA 62: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO  
 CON EL LETAL n41

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n41/ B-111	letal
/ B-57	"
/ B-12	"
/ n-66	"
/ n-102	"
/ A-200	"
/ Q-56	"
/ Q-456	"
/ 114	"
/ x-3	"
/ P-19	"
/ Q-463	"
/ x-4	"
/ R-9-18	"
/ 3-Des	"
/ "outheld"	visible "ot"
/ "bobbed letal"	" "bb"
/ E-54	letal
/ A-112	"
/ LB20	"
/ w-4	"
/ w-2	"
/ B-214	"
/ B-56	"
/ w-1	"
/ A-118	"
/ R-9-28	"
/ E-81	"
/ AA-33	"
/ "maroon like"	visible "mal"
/ 25C4	letal
/ ElC1	"
/ T2-4A	"
/ n69	"
/ n70	"
/ n71	"
/ n101	"

FIG 67: MAPEO DEL LETAL n41 (●)



●

TABLA 63: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO

CON EL LETAL n57

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n57/ B-111	viable
/ "bobbed letal"	normal
/ B-12	letal
/ B-57	"
/ n66	"
/ n102	"
/ "outheld"	visible "ot"
/ n29	letal
/ n1	viable
/ E-54	letal
/ A-112	"
/ LB20	"
/ w-4	"
/ w-2	"
/ B-214	"
/ B-56	"
/ w-1	"
/ A-118	"
/ R-9-28	"
/ E-81	"
/ AA-33	"
/ "maroon like"	visible "mal"
/ 25C4	letal
/ ELC1	"
/ n69	"
/ n70	"
/ n71	"
/ "melanized"	visible "mel"



Los resultados de la Tabla 64 indican que es alélico a las mutaciones que afectan el segmento que se extiende del letal AA-33 al letal B-56 (unidades 10 a 16) y complementa con todas las otras mutaciones probadas a derecha e izquierda (Fig. 69). Esto significa que si bien la región afectada es cubierta por el cromosoma mal<sup>+</sup>Y, tiene otra mutación letal a la izquierda, más allá del extremo distal de la duplicación, ya que en los cultivos no aparecen machos portadores de este letal. Se designa Df(1)n64.

#### Letal n65

Es alélico al letal E-81 y todas las mutaciones a su izquierda y complementa con todas las mutaciones a la derecha de este letal (Tabla 65 y Fig. 70). Es decir que se trata de una deficiencia (Df(1)n65) con su punto de ruptura proximal entre las unidades 11 y 12 y su punto de ruptura distal fuera del segmento en estudio.

Los resultados de todas las pruebas de alelismo se resumen en la Fig. 71, en donde se hace una correlación de los letales con el mapa del cromosoma politénico de glándulas salivales. Su análisis indica: a) Algunas unidades de complementación aparecen involucradas en letalidad más frecuentemente que otras; b) Aparentemente existirían sitios preferenciales para ruptura; c) La mitad proximal del segmento analizado está más poblada con letales que la mitad distal; d) La mayoría de los letales afectan más de una unidad de complementación.

En la Fig. 72 puede verse que el número de veces que una unidad está involucrada en letalidad crece en fun-

TABLA 64 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO  
 CON EL LETAL n64

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n64/ B-111	viable
/ "bobbed letal"	normal
/ B-12	letal
/ B-57	"
/ n66	"
/ n102	viable
/ "outheld"	normal
/ n29	viable
/ n1	"
/ E-54	"
/ A-112	"
/ LB20	"
/ w-4	"
/ w-2	"
/ B-214	"
/ B-56	letal
/ w-1	"
/ A-118	"
/ R-9-28	"
/ E-81	"
/ AA-33	"
/ mal-10	viable



TABLA 65: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ALELISMO CON  
EL LETAL n65

<u>Combinación</u>	<u>Resultado</u>
letal n65/ B-111	viable
/ "bobbed letal"	normal
/ B-12	letal
/ B-57	"
/ n66	"
/ n102	"
/ "outheld"	visible "ot"
/ n29	viable
/ n1	"
/ E-54	"
/ n61	"
/ n60	"
/ E-81	letal
/ AA-33	"
/ "maroon like"	visible "mal"
/ 25C4	letal
/ ElC1	"
/ n69	"
/ n70	"
/ n71	"
/ "melanized"	visible "mel"

FIG.70: MAPEO DEL LETAL n65 (●)

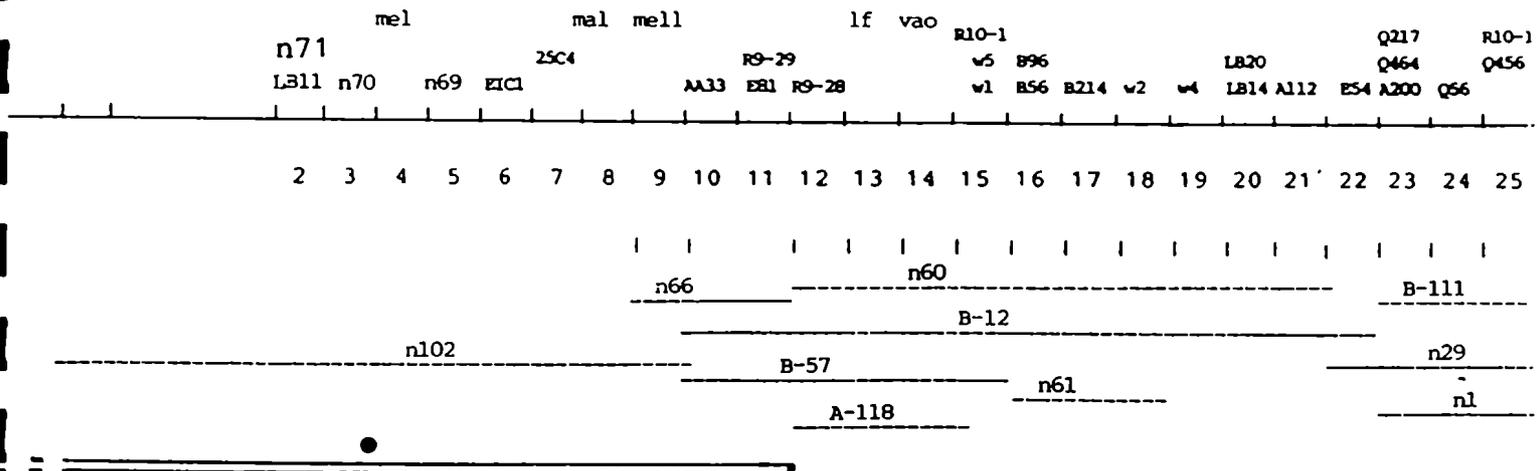


FIG. 71: ARRIBA: SECCIONES DEL CROMOSOMA X POLITENICO DE GLANDULAS SALIVALES Y DEFICIENCIAS Y DUPLICACIONES USADAS PARA EL MAPEO DEL SEGMENTO PROXIMAL DEL CROMOSOMA X CUBIERTO POR LA DUPLICACION  $mal^+$ .Y. CENTRO: MUTACIONES VISIBLES Y LETALES QUE AFECTAN UNA SOLA UNIDAD DE COMPLEMENTACION USADOS. ABAJO: LETALES Y DEFICIENCIAS INDUCIDAS POR NEUTRONES.

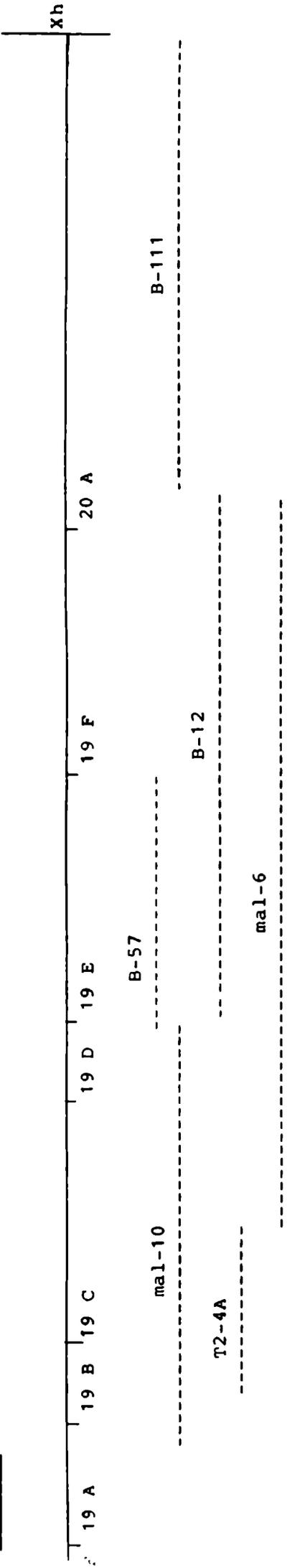
• Letales cuyos machos son semi estériles

\* Letales macho estéril

\*\* Letales no cubiertos por la duplicación pero alélicos a las deficiencias B-111 y/o B-12

1  
1  
1  
1

FIG. 71



$y^+ Y mal^+ - mal^+ Y$

$Y^+ Y B^S$

ct	ev	mal	mal	mal	leg	lf	vac	unc	lf1	eo	wap	unch	sph	su(f)	bb
1															
2	LB11														
3															
4															
5															
6		EICI													
7		25C4													
8															
9															
10			AA33												
11															
12															
13															
14															
15															
16															
17															
18															
19															
20															
21															
22															
23															
24															
25															
26															
27															
28															
29															
30															
31															
32															
33															

R10-1  
 Q217 R10-10  
 Q464 Q456  
 ES4 A200 Q56  
 LB20  
 LB14 A112  
 v4  
 B56 B214 v2  
 v1  
 B96  
 R9-29  
 E81 R9-28  
 AA33  
 25C4  
 EICI  
 LB11  
 D13  
 R9-18 x2  
 3Des  
 R9-10 Q463  
 x3 F19 x4  
 R10-10  
 Q456  
 LL4  
 114

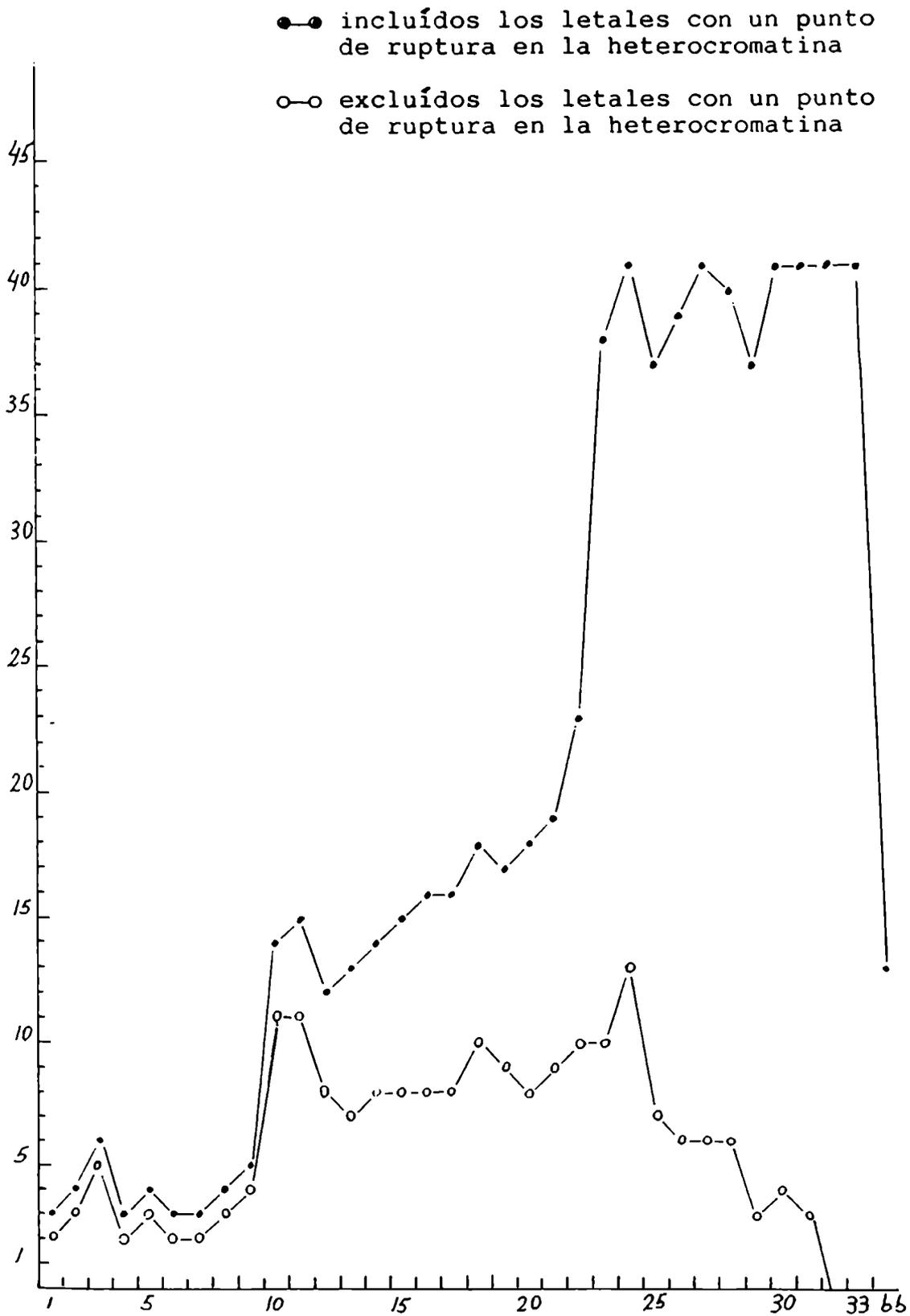


ción de su proximidad al centrómero, con picos claros en las unidades 10 y 23. El incremento entre los 3 subsegmentos resultantes: 1-9, 10-22 y 23-33 es constante y significativo (prueba de Anova). Esto se debe al gran número de deficiencias con un punto de ruptura a la derecha de la unidad 33 y el otro entre las unidades 22 y 23 y en menor medida entre las unidades 9 y 10 (Fig. 71).

En la Fig. 71 puede observarse que hay 41 deficiencias que tienen su punto de ruptura proximal en la heterocromatina (a la derecha del letal 3-Des, unidad 33) lo que significa que se extienden más allá del segmento en estudio. Si por las razones que se verán en la Discusión se excluyen estas 41 deficiencias, la diferencia en mutabilidad entre los extremos proximal y distal desaparece, así como entre los 3 subsegmentos (Fig. 72). Más aún, entre las unidades de complementación más próximas no se observan rupturas, como puede verse en la Fig. 73 en donde se han excluido las deficiencias con un punto de ruptura a la derecha del letal 3-Des. En estas unidades tampoco se detectaron letales que afecten unidades simples de complementación como surge de la Figura.

Para comparar la frecuencia de letales que afectan una sola unidad de complementación con la de deficiencias que afectan dos o más unidades, es necesario excluir de la muestra de 95 letales mapeados, los letales n74, n77 y n101. Los dos primeros porque si bien afectan dos unidades cada uno, las mismas no son contiguas y el tercero por no conocerse con exactitud la extensión de la zona afectada. La

**FIG. 72:** NUMERO DE VECES (ordenada) QUE CADA UNIDAD DE  
 COMPLEMENTACION (abscisa) ES AFECTADA POR  
 LETALIDAD



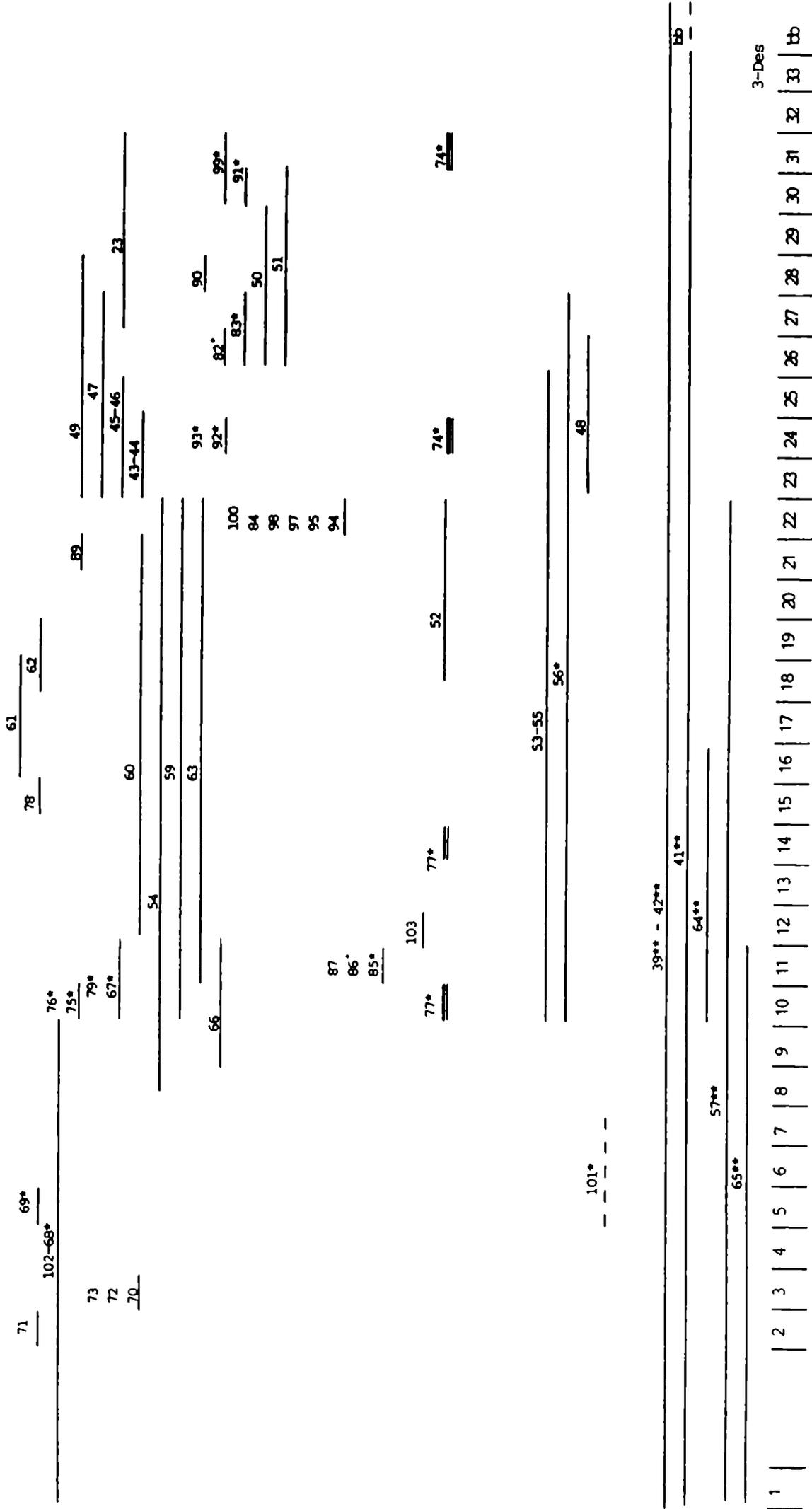


FIG.73: DISTRIBUCION DE LETALES EXCLUIDAS LAS DEFICIENCIAS CON UN PUNTO DE RUPTURA A LA DERECHA DE 1(1)3-Des

muestra de 95 letales mapeados queda así reducida a 92, de los cuales 25 (27,2%) afectan una unidad y 67 (72,8%) dos o más unidades. Sin embargo, si se excluyen las 41 deficiencias ya mencionadas, el número total de letales se reduce a 51 y el de las deficiencias a 26 (51%).

Para calcular la frecuencia de letales "dobles" encontrados es necesario adicionar a los 51 letales que no tienen puntos de ruptura fuera del segmento, los letales n74, n77 ("dobles") y n101. La frecuencia que se obtiene es de 3,7% (2/54).

De los 95 letales mapeados que aparecen en la Fig. 71, 25 confieren esterilidad a los machos portadores, es decir que se trata de una esterilidad de carácter dominante, ya que la fertilidad no es restaurada por la duplicación unida al cromosoma Y ( $mal^+Y$ ). Estos letales aparecen en las Figuras con un asterisco. Se encontró que 18 deficiencias afectan parcial o totalmente el alelo normal para el visible "bb", lo que significa que incluyen el segmento entre el letal 3-Des (o su alelo "su(f)" y el visible "bb". Como la falta de este segmento ha sido responsabilizada de esterilidad en los machos (43), es interesante destacar que sólo 5 de estas deficiencias, es decir el 27,8% resultaron estériles.

## DISCUSION

## A) Frecuencia de letales en el cromosoma X

La frecuencia de letales recesivos ligados al sexo inducidos por una dosis media de 21,7 Gy de neutrones de 3 Mev fué de 7,9% y está de acuerdo con la encontrada por otros autores (73, 26). Si bien no se hicieron tratamientos simultáneos con rayos X, es posible comparar esta frecuencia con la obtenida en nuestro laboratorio en otro trabajo usando la misma cepa de machos. 20 Gy de rayos X indujeron 4,6% de letales recesivos (54), lo que significa que para obtener la frecuencia observada con neutrones se hubiera requerido una dosis de rayos X mayor: 34,34 Gy. Esto da un RBE para neutrones de 1,58 (34,34/21,7). También es posible hacer una comparación con los datos obtenidos por González (1972) con rayos X, según los cuales se hubieran requerido 31 Gy con este agente para inducir una frecuencia de 7,9% de letales. Se obtiene así un RBE para neutrones de 1,43 (31/21,7). Estos RBEs son comparables al obtenido por el mismo González con neutrones de 0,68 MeV (RBE=1,8) y por Frei (1982), con neutrones de 0,5 MeV (RBE=1,6). Como se indicó en la Introducción los valores de RBE menores de 1 obtenidos previamente pueden haberse debido a mezcla de las células tratadas y a dificultades en la dosimetría de los neutrones. Tanto en los trabajos citados como en el nuestro se tuvo especial cuidado en utilizar esperma maduro y la dosimetría es en la actualidad más precisa.

B) Frecuencia de mutaciones letales en el segmento cubierto por la duplicación  $mal^+Y$

En general la frecuencia de mutaciones detectada en un segmento cromosómico es proporcional a su extensión, tomando como medida el número de bandas que éste contiene en el cromosoma politénico de glándulas salivales (72). Dado que existen algunas incertidumbres sobre el número exacto de bandas simples y dobles (34, 72), estas estimaciones tienen validez relativa y sólo cuando se analizan segmentos cromosómicos grandes como el utilizado en este trabajo. En este caso las diferencias que podrían existir cuando se toman fragmentos pequeños con muy pocas bandas, se compensan.

También se ha encontrado que la frecuencia de mutaciones (visibles más letales) (68, 32), de rupturas (38) y de crossing over (39) es proporcional al contenido en DNA de un determinado segmento cromosómico. Rudkin (1965) realizó un exhaustivo análisis de las frecuencias de mutaciones inducidas por rayos X y timidina tritiada detectadas por numerosos autores en once regiones que cubrían todo el cromosoma X y cuyos contenidos en DNA fueron determinados por métodos fotográficos y microespectrofotométricos (64, 65, 66). A título de ejemplo digamos que de dicho estudio surgió que de todas las mutaciones inducidas en el cromosoma X, el 17,8% se localizaron en el segmento "cut (cut) - vermilion (v)" que contiene el 18% del DNA del cromosoma X y el 10,8% en el segmento "forked (f) - carnation (car)" que contiene

el 10,6% del DNA. Sin embargo, en el segmento más proximal analizado por este autor, "carnation (car) - bobbed (bb)", que contiene el 7,2% del DNA del cromosoma X se encontró una frecuencia de mutaciones mayor (9,9%). Esta frecuencia debe ser incluso una subestimación de las mutaciones que podrían haberse recuperado en este segmento, ya que de la muestra de letales se eliminaron sistemáticamente aberraciones cromosómicas (deficiencias) que afectaban relaciones de ligamiento.

Los resultados aquí presentados indican que el 10,4% (102/982) de todos los letales inducidos en el cromosoma X mapean en el segmento analizado y son cubiertos por la duplicación  $mal^+Y$ . Esta frecuencia es similar a la encontrada para rayos X en el mismo segmento (10,2%) (41). Si se consideran sólo los 95 letales finalmente mapeados, la frecuencia que se obtiene (9,7%) no difiere de la anterior.

A la luz de lo señalado anteriormente para regiones no próximas al centrómero, estas frecuencias de alrededor del 10% para el segmento cubierto por el cromosoma  $mal^+Y$  son muy elevadas, si se tiene en cuenta que el mismo representa sólo el 5,2% del cromosoma X en término de número de bandas (53 bandas sobre un total de 1024 (13,45)). Más aún, la distribución de letales dentro del segmento no es homogénea y como lo muestran claramente las Figs. 71 y 72, su concentración es mayor en la zona más proximal constituida por la Sección 20 del cromosoma politénico. En esta Sección con solamente 19 bandas (35,8% de las 53 bandas del segmento), mapean totalmente el 58,5% de los letales que afectan el

segmento (55/94). Si se incluyen además aquellos letales que mapean parcialmente en la Sección 20, dicho porcentaje asciende a 76,6% (72/94).

El contenido en DNA del segmento cubierto por el cromosoma mal<sup>+</sup>Y analizado no se conoce, pero debería ser menor que el del segmento "car-bb" mencionado más arriba por ser más corto (Fig. 3). En efecto, la región "car - bb" comprende 74 bandas del cromosoma politénico (7,2% del total) mientras que como se dijo, el segmento estudiado en este trabajo comprende solamente las 53 bandas más proximales. De acuerdo con ésto existiría una discrepancia entre la clara relación observada en general por Rudkin (1965) entre contenido en DNA y frecuencia de mutaciones y la alta frecuencia de letales encontrada con neutrones y con rayos X, incluso cuando se compara con el segmento "car - bb", que como se vió muestra una frecuencia de mutaciones excepcionalmente alta.

Esto indicaría o bien que el contenido en DNA de las zonas eucromáticas aumenta a medida que se aproximan a la heterocromatina centromérica y de allí su mayor mutabilidad, o que la frecuencia de letales recuperados en esta región se ve influída por alguna otra causa. La primera alternativa puede descartarse debido a que existiría una distribución homogénea del DNA a lo largo de todo el cromosoma X (68), aunque no puede descartarse que en el momento del tratamiento del esperma, el segmento estudiado presente un grado de condensación diferente al resto del cromosoma y esto afecte la frecuencia de mutaciones.

Entre las otras causas que podrían conducir a una mayor concentración de letales en el segmento analizado deben considerarse: una probable influencia de la heterocromatina proximal y una mayor recuperación de letales en dicho segmento debido al método usado para la selección de los letales.

El hallazgo de un aumento de daño genético inducido por radiaciones ionizantes en regiones eucromáticas, cuando éstas son llevadas próximas al centrómero mediante rearrreglos cromosómicos (51, 52), ha sido atribuido a influencias de la heterocromatina. Esto dió origen a numerosos estudios y de ellos surgió que en la heterocromatina se concentraría una mayor proporción de rupturas que en la eucromatina. Sin embargo, en todos estos estudios las Secciones 19 y 20 del cromosoma politénico (las más proximales) se consideraron como equivalentes a la heterocromatina presente en el cromosoma X mitótico (35, 56, 57, 72), que según distintos autores constituye entre el 30% y el 50% del largo total del cromosoma (16, 72) y contiene el 32% del DNA total (68, 72). La posterior observación de que dicho segmento heterocromático del cromosoma X no se politeniza en células de glándulas salivales (25, 67, 69) indicó que la unión eucromatina-heterocromatina debería estar más próxima al centrómero (ver más adelante), dejando las estimaciones mencionadas sin fundamento (72). Se requieren nuevos estudios para aclarar la verdadera frecuencia de rupturas en la heterocromatina.

Sin embargo, no es necesario apelar a una influen-

cia de la heterocromatina para explicar la recuperación de una mayor frecuencia de mutaciones letales en el segmento proximal del cromosoma X. Como se verá, el método de detección usado conduce a la inclusión en la muestra de letales que no pertenecen íntegramente al segmento.

Cuando se estima la frecuencia de letales en un fragmento cromosómico pre establecido, no deberían incluirse deficiencias que se extienden más allá de los límites del mismo. Si bien esto puede no ser esencial cuando se analizan regiones alejadas del centrómero, es crítico cuando se estudian segmentos muy próximos a éste. Con el sistema de selección usado en este trabajo así como por otros autores, (41, 42), todas las deficiencias con un punto de ruptura en el segmento analizado y el otro distal al mismo, son automáticamente eliminadas porque son sólo parcialmente cubiertas por la duplicación unida al cromosoma Y y los machos portadores no sobreviven. Estas deficiencias pasan a integrar el grupo de letales no cubiertos que nosotros hemos eliminado de la muestra. En cambio, aquellas deficiencias con un punto de ruptura dentro del segmento y el otro (proximal) en la heterocromatina, son recuperados como letales cubiertos por la duplicación, aún cuando su tamaño exceda el del segmento analizado. Esto se debe a que el cromosoma Y normal posee una región heterocromática homóloga a la del cromosoma X que "cubre" cualquier deficiencia en la heterocromatina (44). Como consecuencia de esto cuando se usa un cromosoma Y que lleva una duplicación de la zona eucromática adyacente al centrómero, se recuperan no solo las deficiencias que mapean

íntegramente en el segmento homólogo a la duplicación, sino también aquellas con su punto de ruptura proximal fuera de ésta (en la heterocromatina). De esta forma todo el segmento y más aún su fragmento más proximal, se ven artificialmente enriquecidos por letales (deficiencias). Por ello para estimar tanto la frecuencia de letales, como la de rupturas y la relación entre deficiencias y mutaciones dentro de un segmento cromosómico, deben contabilizarse solamente aquellos letales (deficiencias) con ambos puntos de ruptura dentro de los límites impuestos por la duplicación usada.

A fin de excluir las deficiencias con un punto de ruptura en la heterocromatina, es necesario establecer cual es el punto de unión de la eucromatina con la heterocromatina pericentromérica. Esto ha sido motivo de debates por muchos años. Como ya se señaló la heterocromatina proximal no se politeniza, lo que significa que el locus para "bobbed" que es heterocromático, no está representado por ninguna banda en el mapa de Bridges (13, 45). Este locus ha sido genéticamente ubicado a la derecha de "su(f)" o su alelo el letal 3-Des, que de acuerdo a extensos análisis citogenéticos (en los que se usaron incluso algunas de las deficiencias descritas en este trabajo) se localizaría en el extremo más proximal del cromosoma politénico (71, 72) (Sección 20 E-F). Estos mismos estudios y el mapeo de los letales inducidos por neutrones, rayos X y EMS (41, 42), indican que toda la sección 20 (antes considerada heterocromática) se comporta genética y citológicamente como la eucromatina del resto del cromosoma X y el cromosoma Y no posee los alelos

de los genes que se localizan en ella. En consecuencia, la unión eucromatina-heterocromatina estaría a la derecha del letal 3-Des, entre este locus y "bb" (72). Esto implica que todas las deficiencias que tienen un punto de ruptura en el segmento estudiado e incluyen 3-Des, tienen su otro punto de ruptura (proximal) en la heterocromatina.

Como se vió en Resultados, se encontraron 41 deficiencias de este tipo y cuando son excluidas, los 95 letales analizados en el segmento que como se vió contiene 53 bandas (5,3% del total), se reduce a 54. Estos 54 letales constituyen el 5,5% de todos los letales ligados al sexo probados (54/982). Esto significa que la frecuencia de letales que mapean íntegramente dentro del segmento analizado guarda relación con su tamaño y que la discrepancia señalada más arriba con otras regiones del cromosoma X no es real. A pesar de la proximidad al centrómero del segmento estudiado, la participación en letalidad de todas las unidades que lo componen es similar, como lo muestra la Fig. 72. Más aún, en la porción del segmento más próxima a la heterocromatina la frecuencia de letales es incluso menor que en otras porciones más distales. Puede concluirse que la sensibilidad de todo el segmento a la inducción de mutaciones letales es bastante homogénea y no difiere de la encontrada en otros fragmentos cromosómicos con Rayos X. Esto estaría de acuerdo con lo sugerido para explicar el aumento de mutaciones visibles observado cuando segmentos eucromáticos son llevados próximos a la heterocromatina. En este caso no existiría un aumento de sensibilidad, sino que los locus normales corres-

pondientes serían incluidos en deficiencias que se extienden desde la heterocromatina (36).

### C) Análisis de letales cubiertos por el cromosoma mal<sup>+</sup>Y

La Fig. 71 resume los resultados de todas las pruebas de complementación. En la Figura puede verse que en un gran número de casos, a pesar de que la duplicación unida al cromosoma Y permite la recuperación de machos con mutaciones letales, éstos son estériles. El hecho de que alelos de estos letales, y deficiencias mayores que los incluyen sean fértiles, indica que la esterilidad no está estrictamente ligada al efecto letal observado. Deficiencias de todo el segmento cromosómico estudiado son fértiles, lo que demuestra que ninguna de las 33 unidades de complementación estudiadas, ni el segmento 3-Des-"bb" son indispensables para la fertilidad como fuera sugerido (43).

Este tipo de esterilidad dominante ha dado origen a diversas especulaciones, particularmente en lo relativo a la indispensabilidad de que algunos genes proximales del cromosoma X se encuentren en condición diploide para que los machos sean fértiles. Todas estas especulaciones han sido desmentidas con el transcurso del tiempo y nuevos estudios son necesarios para aclarar este problema.

La observación de la Fig. 71 sugiere que la mayoría de los letales inducidos son deficiencias cromosómicas que afectan 2 o más unidades de complementación contiguas. En efecto, el 72,8% (67/92) son deficiencias. De este cálculo

lo se han excluído los letales n74 y n77 porque si bien en ambos casos hay dos unidades de complementación afectadas, éstas no son contiguas, y el letal n101 porque se desconoce el tamaño exacto de la región afectada. Si por las razones señaladas en el punto anterior, se excluyen las 41 deficiencias con un punto de ruptura en la heterocromatina, el número de letales analizados a considerar se reduce a 51 y el de aquellos que afectan 2 o más unidades de complementación contiguas a 26. Se llega así a que la verdadera frecuencia de deficiencias en el segmento estudiado es de 51% (26/51).

Corresponde comparar estos datos con los obtenidos con rayos X por otros autores en el mismo o en otros segmentos cromosómicos.

En una muestra de 35 letales inducidos por rayos X en el mismo segmento usado en este trabajo, Lifschytz y Falk (1969) encontraron que 30, es decir el 85,7% eran deficiencias de diferentes tamaños. La inclusión por estos autores de deficiencias con un punto de ruptura en la heterocromatina ha sido cuestionada y la reevaluación de los datos condujo a considerar sólo las deficiencias con ambos puntos de ruptura dentro del segmento analizado (72).

Con dicha corrección la frecuencia de deficiencias disminuye al 53% (10/19), que es igual a la encontrada en este trabajo con neutrones. Si bien este cálculo de la proporción de los distintos tipos de daños encontrados es correcto para los letales inducidos por rayos X y el segmento analizado por los citados autores, sus datos no son estrictamente comparables con los discutidos aquí, por lo menos

en este aspecto. Ello se debe a que si bien estos autores usaron para pre seleccionar los letales a ser mapeados la misma duplicación utilizada en este trabajo, el análisis se limitó luego a aquellos letales que mapearon en un sub segmento proximal de menor longitud delimitado distalmente por el letal AA-33 (unidad 10 en la Fig. 71) y los puntos de ruptura distal de las deficiencias B-12 y B-57 (41, 42).

De la observación de la Fig. 71 surge que el tercio más distal del segmento no fué analizado, ya que se mapearon solamente aquellos letales alélicos a las deficiencias B-111 y B-12 que estos autores creían que abarcaban todo el segmento cubierto por el cromosoma mal<sup>+</sup>Y. En dicho fragmento no analizado que se extiende de la unidad 1 a la 9 inclusive, se han localizado 7 letales inducidos por neutrones, de los cuales solo 2 eran deficiencias. Esto permite conjeturar que la mayoría de los letales inducidos por rayos X que no fueron mapeados pueden haberse debido a daño en una sola unidad de complementación, en cuyo caso la frecuencia de deficiencias del 53% sería una sobreestimación.

Los resultados de este trabajo son más comparables con los obtenidos por Lefevre (1981) en un estudio de 171 letales inducidos por rayos X en esperma maduro en el mismo segmento cromosómico. Este autor identificó 87 deficiencias (51%) que fueron verificadas citológicamente. Si como en los casos anteriores, para calcular la verdadera frecuencia de deficiencias que pertenecen íntegramente al segmento analizado se excluyen las 65 deficiencias que Lefevre detectó que tenían un punto de ruptura en la heterocromatina, el total

de la muestra se reduce a 106 y el de las deficiencias a 22. De esta forma la frecuencia de deficiencias baja a 21% (22/106). Este valor es menos de la mitad del 51% encontrado en este trabajo con neutrones, lo que sugiere que las densas trazas de ionización a que dan lugar estas partículas son más eficientes en la inducción de deficiencias que las menos densas que se originan cuando se usan rayos X.

Una frecuencia de deficiencias comparable a la detectada por Lefevre en el cromosoma X ha sido encontrada en el cromosoma IV por Hochman (1964, 1971), quien en una muestra de 41 letales recesivos inducidos por rayos X detectó 4 deficiencias confirmadas citológicamente y 3 posibles, lo que daría un máximo de 17% (7/41).

Es evidente que si para inducir un letal recesivo fuera siempre suficiente una ionización o una traza de rayos X, muchas de las ionizaciones presentes en la densa traza a que dan lugar los protones en la irradiación con neutrones, resultarían superfluas o inducirían letales muy próximos unos de otros que serían detectados como uno solo (51). En la Introducción se ha mencionado que estos argumentos se han usado para explicar datos que indican que los neutrones son un 30% menos eficientes que los rayos X en la inducción de letales recesivos ligados al sexo (RBE menores de 1). Sin embargo en el segmento analizado hemos identificado solo dos casos de letales dobles, los letales n74 y n77. En cada uno de estos letales se encuentran afectadas dos unidades de complementación muy próximas, pero no contiguas. En las pruebas de rutina de detección de letales en el cromosoma

X cada uno es detectado como un letal, aunque en realidad cada uno consiste de dos lesiones perfectamente separables. Es posible que en estos letales las dos lesiones hayan sido producidas por diferentes ionizaciones de una misma traza, pero su baja frecuencia, 3,7% (2/54) no solo no influye el valor del RBE, sino que permite descartar ese tipo de lesión como característico del daño inducido por neutrones. A la luz de nuestros resultados, es posible explicar la mayor frecuencia de mutaciones "yellow", "white" y "forked" con efecto letal encontradas cuando se usan neutrones, respecto de las encontradas con rayos X (51), como debida a la inclusión de los locus normales correspondientes, en deficiencias que incluyen regiones adyacentes cuya falta resulta letal y que son más frecuentemente inducidas por neutrones que por rayos X.

Pero, como también se vió en la Introducción, evidencias obtenidas en condiciones experimentales más controladas (24, 26 y este trabajo) indican que los neutrones son más eficientes que los rayos X en la inducción de mutaciones letales (RBE mayores de 1), resultado que no sería de esperar si para inducir un letal bastara con una ionización o una traza de rayos X. Esto significa que en una proporción mensurable más ionizaciones que las presentes en una traza de rayos X es requerida para inducir algunos letales, constituyendo éste un tipo de daño que sería más fácilmente inducido por los neutrones. Es necesario recordar que la evidencia experimental no sólo indica que los neutrones inducen más letales, sino también que cada uno de éstos (aunque ten-

ga dos puntos de ruptura como las deficiencias) se debe a un solo impacto, ya que tanto con Rayos X como con neutrones la relación dosis respuesta es lineal (70).

En un intento por explicar los RBE mayores de 1 encontrados en su trabajo con Rayos X y neutrones de 0,68 MeV, González (1972) propuso un modelo según el cual en el espermatozoide los cromosomas sufrirían una serie de plegamientos semejantes a la letra U con sus dos brazos muy próximos uno de otro ( $\overline{U-U-U}$ ). Cuando una traza de ionización atraviesa un pliegue, con la geometría sugerida u otra similar, rompería el cromosoma en dos lugares ( $\overline{U-U}$ ). Esto daría origen a mutaciones de punto en los lugares de restitución, a deficiencias, si se pierde un fragmento, o a inversiones con efecto letal por reunión equivocada. Si bien los electrones arrancados por la radiación X podrían producir este tipo de lesiones en dos segmentos cromosómicos contiguos, las gruesas trazas de ionización producidas por los protones, tendrían una mayor probabilidad de hacerlo. Como este autor sugiere que la mayoría de los letales recesivos inducidos por radiaciones ionizantes se deberían a la ruptura de dos segmentos cromosómicos, su mayor inducción por los neutrones resultaría en RBEs mayores de 1.

El mapeo de las mutaciones inducidas por neutrones que se ha presentado en Resultados, permite afirmar que los neutrones son más eficientes que los rayos X en la inducción de deficiencias cromosómicas. Como en *Drosophila*, con la excepción de algunas deficiencias muy pequeñas (51, 72) éstas tienen efecto letal, se propone que la mayor eficiencia

de los neutrones para inducir mutaciones letales recesivas se debería precisamente a esta mayor inducción de deficiencias. Como ya se ha mencionado, la mayor recuperación de mutaciones "yellow", "white" y "forked" con efecto letal cuando se usan neutrones, respecto de las encontradas con rayos X, se debería a la inclusión en deficiencias, no sólo de dichos locus, sino también de regiones cromosómicas adyacentes. El efecto de cualquier radiación ionizante que, dentro del conjunto de daños que produce a una determinada dosis, induzca una mayor cantidad de deficiencias, se verá reflejado en un RBE mayor de 1 para la inducción de letales recesivos. Un resultado similar al obtenido con neutrones sería de esperar con rayos  $\alpha$  y con otras partículas de alto LET.

Es posible que además, parte de las lesiones inducidas por rayos X y neutrones tengan una reparabilidad diferente. Después del tratamiento con un mutágeno, el daño final recuperado resulta del inicialmente inducido menos el reparado. Como la cantidad de daño que se repara depende de numerosas variables tales como el tipo de lesión, la eficiencia de los mecanismos de reparación, la célula tratada, etc., es común observar respuestas de distinta intensidad a una misma dosis de mutágeno dependiendo de las condiciones de experimentación. Como los valores de RBE mayores de 1 mencionados se refieren a esperma, es necesario recordar que en *Drosophila* las lesiones inducidas en esperma maduro no se reparan en el macho (51, 70), sino que persisten como daño premutacional y tanto la fijación de las mutaciones como la efectivización de los rearrreglos cromosómicos, tienen lu-

gar después de la fertilización, cuando el núcleo del espermatozoide es liberado en el citoplasma del huevo.

Debido a ello, los procesos de reparación pueden ser influenciados alterando el estado fisiológico del huevo receptivo por tratamientos de las hembras con gases (1, 7), compuestos químicos (47, 62, 63), hipoalimentación (29) etc., o usando hembras con diferente constitución genética (12, 30, 53, 74). Estos y otros trabajos relacionados han puesto en evidencia que las enzimas que intervienen se sintetizan durante oogénesis y están bajo el control del genoma de la hembra, constituyendo el sistema de reparación materno. Daños inducidos en células más inmaduras (espermátidas tempranas, espermatozooides y espermátidas) se reparan en el macho.

En *Drosophila* se han identificado alrededor de 30 genes involucrados en procesos de reparación y se conocen aproximadamente 100 mutaciones (11, 60). A pesar de ello el conocimiento actual sobre el funcionamiento de dichos procesos es fragmentario y solo dos mutaciones, *mei-9a* y *mus-101*<sup>D1</sup>, que se localizan en el cromosoma X han sido estudiadas en relación al daño inducido por neutrones.

La mutación *mei-9a* fué originalmente detectada por afectar la disyunción cromosómica durante meiosis (5, 14) y estudios posteriores demostraron que las larvas que llevan *mei-9a* son hipersensibles a una amplia gama de mutágenos tales como luz ultravioleta (UV), rayos X y  $\gamma$  (58, 6), metilmetano sulfonato (MMS), 2-acetilaminofluoreno (AAF), mostaza nitrogenada (HN2) (9), 1-oxido-4-nitroquinolina (4NQO),

N-metil-N-nitro-N-nitrosoguanidina (MNNG), benzo(a)pireno (BP), aflatoxina B<sub>1</sub> (59) etc. En la actualidad se sabe que los mutantes mei-9a son deficientes en reparación por escisión de dímeros de timina inducidos por UV, en síntesis reparativa después de irradiación con UV o rayos X y en reparación de sitiosapurínicos, pero normales en reparación de rupturas de cadena simples o dobles inducidas por rayos X (9, 18, 19, 60, 61).

La mutación mus-101<sup>D1</sup> ha sido menos estudiada y fué aislada por conferir hipersensibilidad a MMS (8). Las larvas hemi y homocigotas para la mutación también son sensibles a NH<sub>2</sub>, rayos X y  $\gamma$ , habiéndose encontrado que son parcialmente deficientes en reparación post replicativa (8, 10).

Tratamientos de machos mei-9a (espermátidas tempranas, espermatoцитos y espermatoгонias) con rayos X resultan en una frecuencia de letales recesivos ligados al sexo mayor que en los controles (21) y aumentos similares se han observado cuando se irradia esperma maduro en machos normales que se cruzan con hembras mei-9a (22, 23). La tasa de mutaciones espontáneas también está aumentada en mutantes mei-9a (21, 28), lo que sugiere que el producto del locus mei-9a<sup>+</sup> es requerido para remover una proporción mensurable de daños espontáneos o inducidos en el DNA de células somáticas y germinales. La pérdida de este mecanismo de reparación libre de error en moscas mei-9a, resultaría en un procesamiento del daño por un mecanismo propenso a error que conduciría al aumento observado de letales que se debería

a reparación equivocada.

A diferencia de lo observado con mei-9a, cuando se cruzaron machos tratados con rayos X con hembras homocigotas para mus-101<sup>D1</sup>, la frecuencia de letales recesivos aumentó poco (23, 27) o no difirió de los controles (24).

Por otro lado, cuando los machos fueron irradiados con neutrones, la frecuencia de letales recuperados usando hembras mei-9a fué menor que la del control con hembras normales, descenso que fué mucho más acentuado con hembras mus-101<sup>D1</sup>. Tanto es así que el RBE, que cuando se usaron hembras normales en reparación fué de 1,64 respecto de los rayos X, cayó a 0,85 con hembras mei-9a y a 0,48 con hembras mus-101<sup>D1</sup> (24).

Estos escasos datos con neutrones no permiten sacar conclusiones sobre las vías de reparación seguidas en uno y otro caso debido al rudimentario conocimiento que se tiene de estos procesos en *Drosophila*. Lo que si es seguro es que cuando en el cruzamiento se usan hembras deficientes en reparación los letales aumentan si los machos son tratados con Rayos X y disminuyen cuando son irradiados con neutrones, respecto de lo que ocurre cuando se usan hembras normales. Esto ha sido interpretado por Frei (1982) como dando sustento a su sugerencia de que radiaciones de diferente calidad inducirían daños de diferente naturaleza y que el procesamiento de dicho daño requeriría funciones de reparación específicas, en las que el alelo normal de los mutantes probados jugaría un papel esencial.

La evidencia presentada en este trabajo de que los

neutrones inducen una mayor proporción de deficiencias que los rayos X, da sustento experimental a lo sugerido por Frei, en el sentido de que por lo menos parte de la diferencia en la cantidad de letales recuperados, se debería a la diferente naturaleza de los daños inducidos por ambos agentes. No resulta difícil imaginar que trazas de ionizaciones tan poco densas como las originadas por los rayos X induzcan una mayor proporción de lesiones simples en una cadena del DNA. Estas serían más fácilmente reparables por un sistema libre de error, que daños producidos por gruesas trazas con energía suficiente para dañar ambas cadenas en segmentos bastante largos. La consecuencia sería que a una misma dosis se recuperarían menos mutaciones cuando se emplea el agente menos agresivo. Es decir que el hallazgo de RBEs mayores de 1 cuando se usan neutrones de debería a una mayor inducción de lesiones con efecto letal (deficiencias) que además serían menos reparables.

## CONCLUSIONES

1) La Eficiencia Biológica Relativa (RBE) calculada para los neutrones de 3 MeV, en la inducción de letales recesivos ligados al sexo en Drosophila melanogaster fué mayor de 1. Esto está de acuerdo con lo encontrado por otros autores en las mismas condiciones experimentales.

2) La mayor eficiencia de los neutrones, respecto de los rayos X en la inducción de mutaciones letales recesivas, se debería a su mayor capacidad de producir deficiencias cromosómicas. La proporción de estas deficiencias con relación a los letales que afectan una sola unidad de complementación fué más del doble que la encontrada con rayos X. Las lesiones inducidas por neutrones serían además menos reparables por un sistema libre de error que las inducidas por rayos X.

3) El hecho de que se encontraran sólo 2 letales dobles dentro del segmento cromosómico estudiado, permite afirmar que la inducción de este tipo de lesiones no es significativa cuando se usan neutrones.

4) La alta frecuencia de mutaciones letales que se recuperan en el segmento proximal del cromosoma X cubierto por la duplicación mal<sup>+</sup>.Y, no se debe a un aumento de la sensibilidad por su cercanía a la heterocromatina pericentromérica. Resulta de la inclusión de deficiencias con un punto

de ruptura en la heterocromatina, debido a la técnica de detección. Esto aumenta artificialmente el número de letales detectados en el segmento. Todo el segmento estudiado tiene una sensibilidad homogénea y no difiere de la del resto del cromosoma X.

5) El cuidadoso mapeo de los letales recuperados, permitió localizar tres nuevas unidades de complementación en el segmento estudiado no descriptas previamente, dos con efecto letal y una con efecto visible.



Enzo R. Muñoz



Lidia Poggio



J. H. HUNZIKER

## REFERENCIAS

1. ALEXANDER, M.L. (1962) The role of recovery mechanisms and oxygen effects upon changes in radiation sensitivity in sperm treated in mature males and fertilized females of *Drosophila*. *Genetics*, 47, 1505-1518
2. ASHBURNER, M. (1991) *Drosophila Genetic Maps*. Dros. Inf. Service, 69
3. BACQ, Z.M. y P. ALEXANDER (1961) *Fundamentals of Radiobiology*. Pergamon Press Ltd., London
4. BAKER, W.K. y E.S. VON HALLE (1954) The production of dominant lethals in *Drosophila* by fast neutrons from cyclotron irradiation and nuclear detonations. *Science N.Y.*, 119, 46-49
5. BAKER, B.S. y A.T.C. CARPENTER (1972) Genetic analysis of sex-chromosomal meiotic mutants in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 71, 255-286
6. BAKER, B.S., J.B. BOYD, A.T.C. CARPENTER, M.M. GREEN, T.D. NGUYEN, P. RIPOLL y P.D. SMITH (1976) Genetic controls of meiotic recombination and somatic DNA metabolism in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 73, 4140-4144
7. BONNIER, G. (1954) Secondary influences from X-ray irradiation on mutational process in *Drosophila melanogaster*. *Heredity*, 8, 199-210
8. BOYD, J.B., M.D. GOLINO, T.D. NGUYEN y M.M. GREEN (1976) Isolation and characterization of X-linked mutants of *Drosophila melanogaster* wich are sensitive to mutagens. *Genetics*, 84, 485-506
9. BOYD, J.B., M.D. GOLINO y R.B. SETLOW (1976) The mei-9a mutant of *Drosophila melanogaster* increases mutagen sensitivity and decreases excision repair. *Genetics*, 84, 527-544
10. BOYD, J.B. y R.B. SETLOW (1976) Characterization of postreplication repair in mutagen-sensitive strains of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 84, 507-526
11. BOYD, J.B. y K.E.S. SHAW (1982) Postreplication repair defects in mutants of *Drosophila melanogaster*. *Mol. Gen. Genet.*, 186, 289-294
12. BROWN, S.W. y A. HANNAH (1952) An induced maternal effect on the stability of the ring-X-chromosome of *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 38, 687-693

13. BRIDGES, C.B. (1938) A revised map of the salivary gland X-chromosome of Drosophila melanogaster. J. Heredity, 29, 11-13
14. CARPENTER, A.T.C. y L. SANDLER (1974) On recombination defective meiotic mutants in Drosophila melanogaster. Genetics, 76, 453-475
15. COGGLE, J.E. (1983) Biological Effects of Radiation. Taylor & Francis Ltd., London
16. COOPER, K.W. (1959) Cytogenetic analysis of major heterochromatic elements (especially Xh and Y) in Drosophila melanogaster and the theory of "heterochromatin". Chromosoma, 10, 235-588
17. DAUCH, F., U. APITZSCH, A. CATSCH y K.G. ZIMMER (1962). RBE scheneller Neutronen bei der Auslösung von Mutationen bei Drosophila melanogaster. Mutation Res., 3, 185-193
18. DEZZANI, W., P.V. HARRIS y J.B. BOYD (1982) Repair of double strand DNA breaks in Drosophila. Mutation Res., 92, 151-160
19. DUSENBERY, R.L., S.C. McCORMICK y P.D. SMITH (1983) Drosophila mutations at the mei-9 and mus (2)201 loci which block excision of thymine dimers also block induction of unscheduled DNA synthesis by methyl methane sulfonate, ethyl methanesulfonate, N-methyl-N-nitrosourea, UV light and X-rays. Mutation Res., 112, 215-230
20. EDINGTON, C.W. y M.L. RANDOLPH (1958) A comparison of the relative effectiveness of radiation of different average linear energy transfer on the induccion of dominant and recessive lethals in Drosophila. Genetics, 43, 715-727
21. EEKEN, J.C.J. y F.H. SOBELS (1985) Studies on mutagen sensitive strains of Drosophila melanogaster. VI. The effect of DNA repair deficiencies in spermatids, spermatocytes and spermatogonia irradiated in N2 or O2. Mutation Res., 149, 409-414
22. FERRO, E. (1983) Studies on mutagen-sensitive strains of Drosophila melanogaster. II. Detection of qualitative diferences between genetic damage induced by X-irradiation of mature spermatozoa in oxygenated and anoxic atmospheres through the use of the repair deficient mutant mei-9a. Mutation Res., 107, 79-92
23. FERRO, W. y J.C.J. EEKEN (1985) Studies on mutagen sensitive strains of Drosophila melanogaster. IV Modification of genetic damage induced by X-irradiation of spermatozoa and spermatids in N2 or O2 by mei-9a mei-41D5 and mus (1)101-D1. Mutation Res., 149, 385-398

24. FREI, H. (1962) Genetic damage induced by X-rays or neutrons in spermatozoa of Drosophila melanogaster; diferencial processing in the oocytes of females carrying the DNA-repair-deficient mutants mei-9a and mus-101 D1. Mutation Res., 94, 63-78
25. GALL, J.G., E.H. COHEN y M.L. POLAN (1971) Repetitive DNA sequencess in Drosophila. Chromosoma, 33, 319-344
26. GONZALEZ, F.W. (1972) Dose-response kinetics of genetic effects induced by 250-kVp X-rays and 0.68 MeV neutrons in mature sperm of Drosophila melanogaster. Mutation Res., 15, 303-324
27. GRAF, U, M.M. GREEN y F.E. WURGLER (1979) Mutagen-sensitive mutants in Drosophila melanogaster. Mutation Res., 63, 101-112
28. HASSON, E. y E.R. MUÑOZ (1988) Spontaneous second-chromosome recessive lethals in a Drosophila melanogaster repair-deficient (mei-9a) mutant. Mutation Res., 197, 77-83
29. HERSKOWITZ, I.H. (1963) An influence of maternal nutrition upon the gross chromosomal mutation frequency recovered from X-rayed sperm of Drosophila melanogaster. Genetics, 48, 703-710
30. HILDRETH, P.E. y G.L. CARLSON (1957) Influence of the type of inseminated females on the lethal frequency in the X chromosome from the male. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 43, 157-183
31. HOCHMAN, B., H. GLOOR y M.M. GREEN (1964) Analysis of chromosome 4 in Drosophila melanogaster. I: Spontaneous and X-ray-induced lethals. Genetics, 35, 109-126
32. HOCHMAN, B. (1971) Analysis of chromosome 4 in Drosophila melanogaster. II: Ethyl methanesulfonate induced lethals, Genetics, 67, 235-252
33. IVES, P.T., R.P. LEVINE y H.J. YOST (Jr.) (1954) The production of mutations in Drosophila melanogaster by the fast neutron radiation of an atomic explosion. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 40, 165-171
34. JUD, B.H., M.W. SHEN y T.C. KAUFMAN (1972) The anatomy and function of a segment of the X-chromosome of Drosophila melanogaster. Genetics, 71, 139-156
35. KAUFMANN, B.P. (1946) Organization of the chromosome. I. Break distribution and chromosome recombination in Drosophila melanogaster J. Exp. Zool., 102, 293-320

36. LEFEVRE, G. (Jr), F.J. RATTY (Jr), y G.D. HANKS (1953) Frequency of Notch mutations induced in normal, duplicated and inverted X-chromosomes of Drosophila melanogaster. *Genetics*, 38, 345-359
37. LEFEVRE, G. (Jr) y U.B. JONSSON (1964) X-ray induced mutability in male germ cells of Drosophila melanogaster. *Mutation Res.*, 1, 231-246
38. LEFEVRE, G. (Jr.) 1969 The eccentricity of vermilion deficiencies in Drosophila melanogaster. *Genetics*, 63, 589-600
39. LEFEVRE, G. (Jr) (1971) Salivary chromosome bands and the frequency of crossing over in Drosophila melanogaster. *Genetics*, 67, 497-513
40. LEFEVRE, G. (Jr.) (1981) The distribution of randomly recovered X-ray-induced sex-linked genetic effects in Drosophila melanogaster, *Genetics*, 99, 461-480
41. LIFSCHYTZ, E. y R. FALK (1968) Fine structure analysis of a chromosome segment in Drosophila melanogaster. Analysis of X-ray induced lethals. *Mutation Res.*, 6, 235-244
42. LIFSCHYTZ, E. y R. FALK (1969) Fine structure analysis of a chromosome segment in Drosophila melanogaster. Analysis of ethyl methanesulphonate induced lethals. *Mutation Res.*, 9, 147-155
43. LIFSCHYTZ, E. y D.L. LINDSLEY (1972) The role of X-chromosome inactivation during spermatogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 69, 182-186
44. LINDSLEY, D.L., C.W. EDINGTON y E. VON HALLE (1960) Sex linked recessive lethals in Drosophila whose expression is suppressed by the Y chromosome. *Genetics*, 45, 1649-1670
45. LINDSLEY, D.L. y E.H. GRELL (1968) Genetic Variations of Drosophila melanogaster. *Carnegie Inst. Wash. Publ.*, 627
46. LEWIS, E.B. (1954) The theory and application of a new method of detecting chromosomal rearrangements in Drosophila melanogaster. *Am. Nat.*, 88, 225-239
47. MENDELSON, D. (1974) The effect of caffeine on repair systems in oocytes of Drosophila melanogaster. I. *Mutation Res.*, 22, 145-156
48. MICKEY, G.H. (1954) Visible and lethal mutations in Drosophila. *Am. Nat.*, 88, 241-255
49. MULLER, H.J. (1927) Artificial transmutation of the gene.

Science, 66, 84-87

50. MULLER, H.J. (1954a) The nature of the genetic effects produced by radiation, en A. Hollaender (Ed.), Radiation Biology, Vol. L, Parte I, McGraw-Hill, New York, 351-473
51. MULLER, H.J. (1954b) The manner of production of mutations by radiation. en A. Hollaender (Ed.), Radiation Biology, Vol. I, Parte I, McGraw-Hill New York, 475-626
52. MULLER, H.J. (1962) Studies in Genetics. Indiana University Press, Bloomington
53. MUÑOZ, E.R. y B. MAZAR BARNETT, (1978) Influencia de deficiencias en la sección 20 del cromosoma X de Drosophila melanogaster sobre la frecuencia de letales embrionarios y translocaciones II-III. Mendeliana, 3, 23-30
54. MUÑOZ, E.R. (1990) Effect of ethanol pretreatment on genetic damage induced by X-rays in Drosophila melanogaster sperm. Mutation Res., 232, 3-10
55. NAKAO, Y, y I. MACHIDA (1970) Comparisons of the RBE of the various genetic changes between X-rays and neutrons in Drosophila melanogaster en "Livre des Résumés" IVe. Congres International de Radiobiologie et de Physico Chimie des Rayonnements, pág. 155
56. NICOLETTI, B., y D.L. LINDSLEY (1960b) Cytogenetic analysis of T(X;Y)'s. Dros. Inf. Ser., 34, 95-97
57. NICOLETTI, B., y D.L. LINDSLEY (1960a) Translocation between the X and Y chromosomes of Drosophila melanogaster. Genetics, 45, 1705-1722
58. NGUYEN, T.D. y J.B. BOYD (1977) The meiotic-9 (mei-9) mutants of Drosophila melanogaster are deficient in repair replication. DNA, Molec. Gen. Genet., 158, 141-147
59. NGUYEN, T.D., J.B. BOYD y M.M. GREEN (1979) Sensitivity of Drosophila mutants to chemical carcinogens. Mutation Res., 63, 67-77
60. OLIVIERI, D.R., P.V. HARRIS y J.B. BOYD (1990) X-Ray sensitivity and single strand DNA break repair in mutagen-sensitive mutants of Drosophila melanogaster. Mutation Res., 235, 25-31
61. OSGOOD, C.J. y J.B. BOYD (1982) Apurinic endonuclease from Drosophila melanogaster reduced enzymatic activity in excision deficient mutants of the mei-9 and mus(2)201 loci. Mol. Gen., Genet. 186, 235-239
62. PROUST, J.P. (1969) Action d'un traitement des femelles

- Drosophila melanogaster avec de l'Actinomycine D sur la fréquence des létaux dominants induits par les rayons X dans les spermatozoïdes murs. Compt. Rend. Acad. Sci. Paris, 269, 86-88
63. PROUST, J.P., K. SANKARANARAYANAN, K., y F.H. SOBELS, (1972) The effects of treating *Drosophila* females with actinomycin D on the yield of dominant lethals, translocations and recessive lethals recovered from X-irradiated spermatozoa. *Mutation Res.*, 16, 65-76
  64. RUDKIN, G.T., J.F. ARONSON, D.A. HUNGERFORD y J. SCHULTZ (1955) A comparison of the ultraviolet absorption of haploid and diploid salivary gland chromosomes. *Expt. Cell Res.*, 9, 193-211
  65. RUDKIN, G.T. (1960) The application of ultraviolet absorbance measurements to problems in cell biology. *IRE Trans. Med. Electron. ME-7*, 122-129
  66. RUDKIN, G.T. (1961) Cytochemistry in the ultraviolet. *Microchem. J. Ser. 1*, 261-276
  67. RUDKIN, G.T. (1964) The structure and function of heterochromatin, en: *Genetics Today, Proc. XI Int. Congr. Genet.*, La Haya, Vol. 2, pp. 359-374, Pergamon Press
  68. RUDKIN, G.T. (1965) The relative mutabilities of DNA in regions of the X-chromosome of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 52, 665-681
  69. RUDKIN, G.T. (1969) Non replicating DNA in *Drosophila*. *Genetics (Suppl.)*, 61, 227-238
  70. SANKARANARAYANAN, K. y F.H. SOBELS (1976) Radiation genetics, en: *The Genetics and Biology of Drosophila*. M. Ashburner y E. Novitski (Eds.), Academic Press, New York, p. 1089-1250
  71. SCHALET, A. y G. LEFEVRE (Jr.) (1973) The localization of "ordinary" sex-linked genes in Section 20 of the polytene X chromosome of *Drosophila melanogaster*. *Chromosoma*, 44, 183-202
  72. SCHALET, A. y G. LEFEVRE (Jr.) (1976) The proximal region of the X chromosome, en: *The Genetics and Biology of Drosophila*, vol. 1b, ASHBURNER, M., y E. NOVITSKI (eds.), Academic Press, London, pág. 947-902
  73. SOBELS, F.H. y J.J. BROERSE (1970) RBE values of 15 MeV neutrons for recessive lethals and translocations in mature spermatozoa and late spermatids of *Drosophila*. *Mutation Res.*, 9, 395-406
  74. WURGLER, F.E. y P. MAIER (1972) Genetic control of

mutation induction in Drosophila melanogaster I. Sex chromosome loss in X-rayed mature sperm. Mutation Res., 15, 41-53

75. WURGLER, F.E., F.H. SOBELS y E. VOGEL (1977) Drosophila as assay system for detecting genetic changes. Handbook of Mutagenicity Test Procedures. Kilbey et al. (Eds.) Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 335-373
76. ZIMMERING, S., I.I. OSTER y H.J. MULLER (1960) High effectiveness of fast neutrons in inducing minute deletions (Abstr.) Science N.Y., 131, 1322