

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

TÍTULO DE LA TESIS

FOTOTAXIS Y SELECCIÓN A ESTÍMULOS  
LUMINOSOS EN *Drosophila melanogaster*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A

MARCO TULIO TEJEDA RODRÍGUEZ

NOMBRE DEL ALUMNO

DRA. PATRICIA RAMOS MORALES

TUTORA

2009



FACULTAD DE CIENCIAS  
UNAM



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo fue realizado gracias al apoyo del programa PAPIME- DGAPA EN206803 y PAPIME PE206305 y surge de diversos experimentos realizados por estudiantes de bachillerato que asistieron al Taller de Biología del proyecto laboratorios para la enseñanza de las ciencias en el Bachillerato (Experimenta), quiero agradecer a los académicos que dirigen el centro: Francisco Fernández de Miguel, Ana Maria Sosa, Patricia Ramos y Armando Muñoz, así como a los compañeros de los diferentes talleres por todas las facilidades, apoyo, ideas, comentarios y sabiduría que compartieron conmigo para la realización de este trabajo.

A la Secretaria de Desarrollo Institucional por su atención, apoyo técnico y gran administración.

Al Laboratorio de Genética y Toxicología Ambiental y su profesores, que compartieron conmigo sus conocimientos, enseñándome a comprender las ideas y a analizarlas.

Al Banco de moscas de la Facultad de Ciencias por la donación de los organismos utilizados en el estudio.

A los Técnicos Académicos Adriana Muñoz y Hugo Rivas, por su apoyo en el mantenimiento de cepas de moscas, bibliografía especializada, entrenamiento técnico y sus valiosas observaciones.

Al profesor Armando Muñoz por su apoyo en todo momento y amistad.

A la Doctora Patricia Ramos por la oportunidad que me dio de ser su alumno.

A mis compañeros del laboratorio Linda, Ana, Hugo y Pablo, por todos los buenos momentos en esta etapa, en la que estoy seguro todos hemos crecido. A Natalie por su ayuda crucial en el desarrollo de la tesis y a mis demás compañeras por su alegría y ayuda.

A mis hermanos Carlos y Angel y Alexis por su apoyo y fé; a Maritza por su paciencia, a mis Tíos Román, Alvio y Edith por sus consejos y en general a toda mi familia por su preocupación.

## **Dedicatoria**

Este trabajo esta dedicado a mis tres pilares:  
mi Mamá, mi Papá y mi Abuela;  
los cimientos que me dieron fueron  
más que suficientes para salir adelante.

## Datos del jurado



FACULTAD DE CIENCIAS  
Secretaría General  
División de Estudios Profesionales

Votos Aprobatorios

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ  
Jefe de la División de Estudios Profesionales  
Facultad de Ciencias  
Presente

Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:

### Fototaxis y selección a estímulos luminosos de *Drosophila melanogaster*

realizado por Tejeda Rodríguez Marco Tullio con número de cuenta 0-9933109-0 quien ha decidido titularse mediante la opción de tesis en la licenciatura en Biología. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario	Fis. Andrés Valentín Porta Contreras	
Propietario	M. en C. José Armando Muñoz Moya	
Propietario Tutor	Dra. Patricia Ramos Morales	
Suplente	M. en C. Alfonso José Vilchis Peluyera	
Suplente	Biól. Rita Virginia Arenas Rosas	

Atentamente,  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Ciudad Universitaria, D. F., a 21 de enero de 2009  
El COORDINADOR DEL COMITÉ ACADÉMICO DE LA LICENCIATURA EN BIOL.

DR. PEDRO GARCÍA BARBERA



Señor sinodal: antes de firmar este documento, solicite al estudiante que le muestre la versión digital de su trabajo y verifique que la misma incluya todas las observaciones y correcciones que usted hizo sobre el mismo.

# INDICE

## Página

<b>Resumen.....</b>	<b>3</b>
<b>I INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>4</b>
Sentidos.....	4
Visión en humanos .....	6
Visión en insectos.....	8
<i>Drosophila melanogaster</i> .....	9
Visión.....	9
Conductas.....	12
Fototaxis.....	12
Geotaxis.....	13
Genética de poblaciones.....	14
Genes pleiotrópicos.....	15
Genes pleiotrópicos en <i>Drosophila melanogaster</i> .....	16
Justificación.....	19
Objetivos.....	20
Objetivo general.....	20
Objetivos particulares... ..	20
<b>II MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>21</b>
Fototaxis de moscas mutantes y silvestres.....	21
Selección de moscas silvestres con fototaxis al color rojo.....	22
Cruzas de poblaciones seleccionadas .....	27
Metodología tubo negro .....	30

<b>III RESULTADOS.....</b>	<b>32</b>
Fototaxis cepas mutantes.....	32
Selección de moscas silvestres con fototaxis al color rojo.....	38
Cruzas de poblaciones seleccionadas.....	42
Metodología de tubo negro.....	46
<b>IV DISCUSIÓN.....</b>	<b>49</b>
Fototaxis.....	49
Metodología selección.....	55
Cruzas de poblaciones seleccionadas.....	56
Metodología de tubo negro.....	57
<b>V CONCLUSIONES.....</b>	<b>59</b>
Explorando futuros estudios.....	59
<b>VI BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>60</b>
<b>VII ANEXOS .....</b>	<b>71</b>

## **Resumen.**

Mediante los sentidos, los organismos reciben información del medio ambiente. A través de la evolución los organismos han desarrollado diferentes receptores, capaces de percibir y distinguir estímulos específicos. La visión, siendo uno de los sentidos más estudiados, está ampliamente distribuida en el reino animal; en insectos, se conocen varios tipos de fotorreceptores capaces de percibir diferentes longitudes de onda y estos organismos presentan conductas fototácticas características ante los estímulos luminosos. En el presente trabajo se estudió la respuesta fototáctica innata de la mosca del vinagre, *Drosophila melanogaster*, ante varios estímulos luminosos de colores del espectro de luz visible, se utilizaron cuatro métodos diferentes: (1) estudio de fototaxis a colores de cepas mutantes y silvestre, (2) selección a estímulo de luz roja en la cepa silvestre Canton-s, (3) cruces de poblaciones seleccionadas y (4) fototaxis de mutantes y cepas seleccionadas en tubo negro. Los resultados indican que la mosca presenta un comportamiento diferencial ante los colores utilizados, inclusive al rojo, aunque en estudios previos no se ha reportado un receptor específico para este color. La respuesta al color rojo de la mosca silvestre se modifica al aplicar selección artificial, por lo que esta conducta tiene una base genética. La fototaxis como conducta es afectada por la presencia de diferentes mutaciones en el organismo portador; inclusive en moscas mutantes en donde el marcador altera estructuras no relacionadas con la visión (alas y color del cuerpo), presentan una respuesta fototáctica diferente a la cepa testigo del tipo silvestre. Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren diversas líneas de investigación mediante las cuales se puedan aclarar los mecanismos genéticos, fisiológicos y conductuales que subyacen en el complejo fenómeno de la fototaxis en *D. melanogaster*.

# I. INTRODUCCIÓN

## Sentidos

Los seres vivos interactúan con el ambiente constantemente por medio de los sentidos, adaptándose a éste a través de un constante procesamiento de información que se detecta y analiza por los sistemas sensoriales en respuesta a cambios en el ambiente (Diaz et al., 1995). La información obtenida es valiosa para la alimentación, detección de peligro, búsqueda de pareja y en el intercambio de información con otros seres vivos (Brodal, 1992).

Según el punto de vista de donde se le analice, el número de sentidos que existen varía según la definición que se use. Para algunos un sentido es la facultad por la cual se percibe un estímulo externo”, la definición de la Real Academia de la Lengua Española (2001) sostiene a un sentido como “Proceso fisiológico de recepción y reconocimiento de sensaciones y estímulos que se produce a través de la vista, el oído, el olfato, el gusto o el tacto, o la situación de su propio cuerpo”. En un contexto fisiológico, un sentido se puede definir como un sistema que consiste en un grupo de tipos de células sensoriales que responden a fenómenos físicos específicos, y a su correspondencia con una región particular en el cerebro donde se reciben e interpretan las señales (Fact-archive, 2007).

Los órganos de los sentidos actúan como instrumentos, monitoreando la energía proveniente del ambiente. Debido a la gran variedad de estímulos que el medio ambiente ofrece, los organismos han desarrollado diferentes estrategias para percibirlos. Existen estímulos externos que los humanos no son capaces de detectar; sin embargo algunos organismos han desarrollado diversos sistemas sensoriales capaces de percibirlos. Ejemplos claros de estos sentidos son la electrorrecepción y la magnetorrecepción entre otros.

En el sentido de magnetorrecepción, el campo geomagnético terrestre puede relacionarse con la orientación y navegación de un gran número de organismos (Palmer, 1963; Motta y Lings, 1986; Phillips y Sayeed, 1993). Los estímulos que puede ofrecer el campo geomagnético terrestre están bien definidos y son del orden de 50  $\mu\text{T}$  (micro Teslas), variando desde 25  $\mu\text{T}$  en la anomalía del Atlántico Sur hasta los 60  $\mu\text{T}$  en los

polos, y la inclinación varía desde 80° en el polo magnético Norte hasta -80° en el polo magnético Sur con una inclinación 0° en el Ecuador (Motta y Lings, 1986; Ritz et al., 2002); los organismos con magnetorrecepción pueden percibir estos estímulos y utilizar la información de diferentes maneras (Frankel y Bazylinski, 2006). Existen básicamente dos teorías en cuanto a la percepción de los campos magnéticos por los organismos. En una, las moléculas fotosensibles, como la rodopsina, están sujetas a influencias magnéticas que pueden derivar en cambios y efectos químicos (Phillips et al., 2001). La segunda sostiene que una molécula fotorreceptora no es necesaria para la magnetorrecepción (Wiltschko y Wiltschko, 1995; Kirschvink et al., 2001). En organismos como abejas, tortugas y aves la percepción se asocia con un material magnético intracelular (Wiltschko y Wiltschko, 2005). Los receptores son partículas como la magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) presente en microorganismos como *Magnetospirillum gryphiswaldense* (Frankel y Bazylinski, 2006). Se tiene un amplio registro de animales que utilizan sistemas sensoriales altamente especializados en la percepción de estímulos magnéticos en donde se ha establecido una relación entre el estímulo y el receptor (Wiltschko, 1980; Kirschvink, 2000), esta relación es importante para definir un sentido ya que en la mayoría de los sentidos estímulos específicos son reconocidos únicamente por receptores especializados.

Cada órgano sensorial contiene células receptoras específicas y selectivas a una forma particular de energía; el tipo de energía a la que responde un órgano sensorial determina su modalidad sensorial, relacionada directamente con los tipos de receptores (Young, 1989; Diaz et al., 1995). Las células receptoras que se encuentran en los organismos cambian de forma, tamaño, elementos y constitución; esto tiene efecto sobre la capacidad con la que un receptor responde a un estímulo asociado, cambiando así la sensibilidad del receptor. Existen varios tipos de receptores: quimiorreceptores, mecanorreceptores y fotorreceptores, entre otros. Los quimiorreceptores son órganos sensoriales estimulados por iones o moléculas químicas con diferentes propiedades. Estos incluyen los sentidos del olfato y del gusto, además de receptores que monitorean concentraciones de oxígeno y dióxido de carbono (Hallem et al., 2006). Los mecanorreceptores, órganos sensoriales que son estimulados por formas de energía cinética, incluyen órganos que monitorean funciones internas como el tacto y la tensión muscular o el oído y el equilibrio (Hogervorst y Brand, 1998; Gillespie y Walter 2001; Barth, 2004). En el sentido de la vista, los fotorreceptores asociados a órganos como los

ojos, responden a energías electromagnéticas (Bowmaker, 1991; Diaz et al., 1995; Nathans, 1999; Kremers et al., 1999).

## Visión en humanos

El sentido de la vista se ha estudiado bien en el hombre (Litzinger y Tsonis, 2002; Gouras, 2007). Anatómicamente, el ojo humano presenta varias estructuras que en conjunto son capaces de percibir la luz del medio ambiente (Figura 1); además de los bastones asociados a la percepción de intensidades de luz, existen tres diferentes tipos de células receptoras al color conocidas como conos (S, M y L), cada uno cuenta con diferentes opsinas con un espectro de sensibilidad característico, con picos de sensibilidad a diferentes longitudes de onda. Al juntar los espectros estos se traslapan (Sharpe et al., 1999) y el conjunto de estos tres intervalos hacen el espectro de sensibilidad al color del humano que abarca longitudes de onda de 400nm a 750nm (espectro de luz visible) (Schnapf et al., 1987 citado en Schnapf y Schneeweis, 1999; Stockman y Sharpe, 1999) (Figura 2).

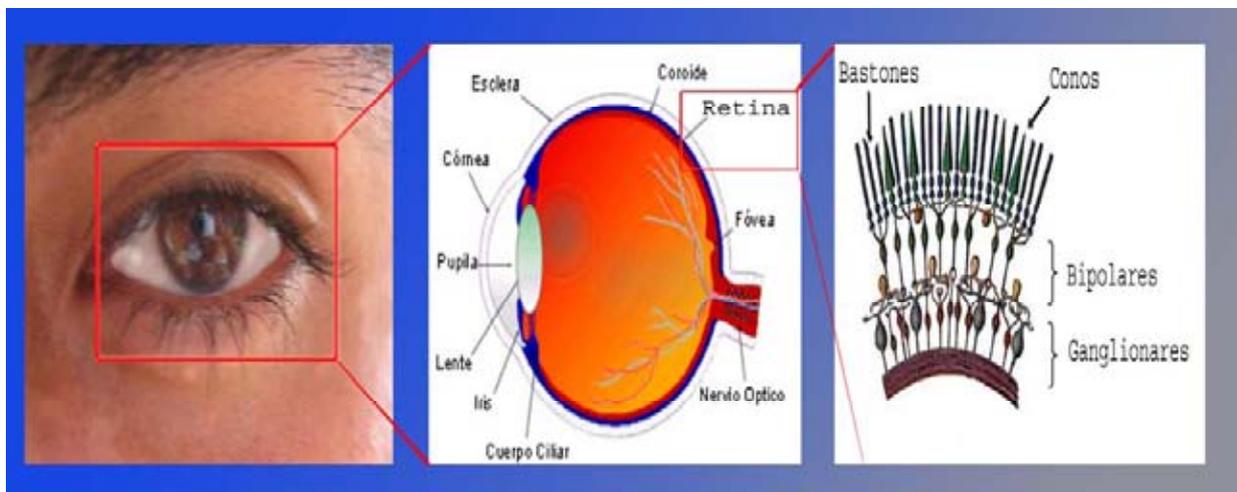


Figura 1. Anatomía general del ojo humano. En la retina se encuentran los fotorreceptores humanos de la vista: conos y bastones. Modificado de [http://science.nasa.gov/headlines/y2004/images/cataracts/anatomy\\_med.jpg](http://science.nasa.gov/headlines/y2004/images/cataracts/anatomy_med.jpg).

Una vez que se estimula la célula fotorreceptora, la transducción de la señales implica una cascada de reacciones que involucran básicamente tres proteínas: el fotopigmento rodopsina (molécula receptora), que es modificado a su forma activa metarodopsina por la absorción de fotones de luz, la metarodopsina hace contacto con la proteína G convirtiéndola en su forma activa G\*; dado que la metarodopsina permanece en su forma activa, la cascada de señales se amplifica rápidamente. La proteína G\* activa a la

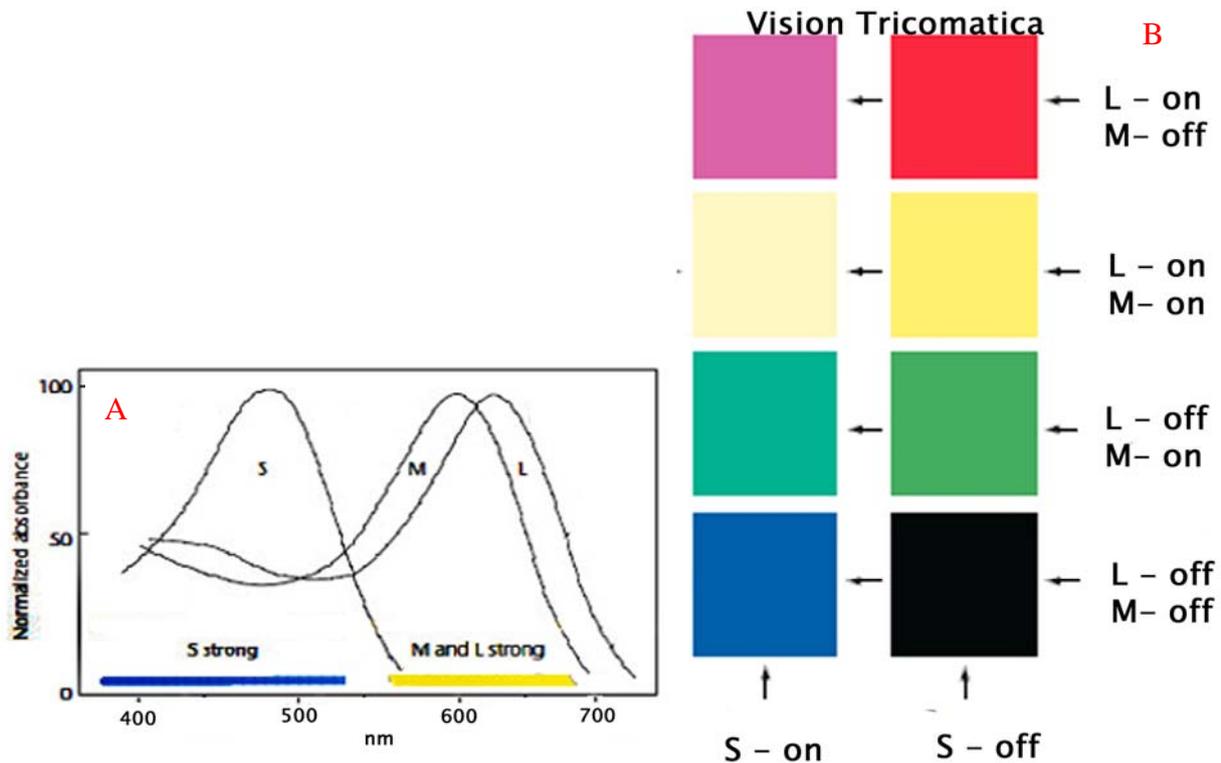


Figura 2. Espectros de sensibilidad de los conos. (A) Espectros de sensibilidad al color, 400 nm a 750 nm. (B) Conjunto de efectos de apagado y encendido de conos para formar la visión tricromática característica de los humanos. Modificado de Sharpe et al, 1999 y Gouras, 2007.

molécula efectora Fosfodiesterasa (PDE) al entrar en contacto con ella, transformándola en cGMP-fosfodiesterasa (PDE forma activa); esta molécula cierra los canales de iones celulares al hidrolizar cGMP, la obstrucción de la circulación eléctrica en la célula, conduce a una respuesta eléctrica a la luz (Lamb, 1999; Schnapf y Schneeweis, 1999).

Los bastones y los conos hacen sinapsis con las neuronas de las capas bipolar y ganglionar de la retina (Dacey y Lee, 1999; Lee, 1999). Las señales nerviosas abandonan la retina y salen del ojo por el nervio óptico, en la superficie posterior del globo ocular. Después de salir del ojo el nervio óptico entra en el encéfalo y llega hasta

la corteza visual (Lennie, 1999; Gouras, 2001). En esta zona la interpretación visual de los impulsos nerviosos generados por los estímulos luminosos se analiza y compara para producir la visión (Lennie, 1999; Shapley y Hawken, 1999).

Aunque el sentido de la vista se encuentra ampliamente distribuido en el reino animal, los componentes y mecanismos que la conforman cambian entre grupos. En los insectos existe una gran variabilidad de espectros de sensibilidad (Kremers et al., 1999; Briscoe y Chittka, 2001) y de sistemas con los que perciben estímulos luminosos.

## **Visión en insectos**

Para percibir información del mundo exterior, los ojos se han convertido en estructuras sensoriales altamente especializadas en diferentes especies animales, y aun siendo anatómicamente muy diversas, muestran características de organización y función comunes (Horridge 1977; Hummel y Klambt, 2006).

Los insectos tienen cuatro tipos de órganos sensitivos a la luz: ojos compuestos, ocelos, stemmata y el órgano de Hofbauer-Buchner (Helfrich et al., 2001; Nation, 2002). Los ojos compuestos permiten la detección del color y la formación de imágenes visuales, siendo detectores especializados de movimiento (Meyer-Rochow y Gál, 2004; Smith, 2007; Stavenga y Arikawa, 2006; Wernet et al., 2007). Los ocelos se encuentran tanto en formas inmaduras y adultas de los insectos, su función principal es detectar las intensidades y cualidades de la luz formando imágenes de baja resolución (Hu et al., 1978; Hu y Stark, 1980; Piatigorsky et al., 1989). Los stemmata son ojos que detectan dirección e intensidad de la luz en estadios larvarios de algunos insectos (Nation, 2002). El órgano Hofbauer-Buchner es un grupo de células fotosensibles de origen larvario que permanecen hasta el adulto, se encuentra por debajo del ojo compuesto y cerca de los cuerpos hongales; no forma imágenes y principalmente regula la entrada a ciclos circadianos (Wolf y Ready, 1993; Emery et al., 2000; Helfrich et al, 2001).

Los espectros de sensibilidad a la luz de los insectos son muy diversos incluso entre grupos evolutivamente cercanos como en mariposas (Lepidoptera) (Stavenga y Arikawa, 2006). Ecológicamente también existe una considerable variación entre especies que comparten las mismas condiciones de luz y opuestamente existen especies con condiciones y estilos de vida diferentes que comparten espectros de sensibilidad

muy parecidos como las hormigas del desierto y las abejas alpinas (Briscoe y Chittka, 2001).

Los insectos con dos alas (dípteros), forman uno de los grupos cosmopolitas de insectos, con alrededor de 125,000 especies que representan el 12 % del total de especies de insectos (Burnie, 2007); poseen grandes ojos compuestos, los cuales aunque no se mueven poseen un gran campo de visión periférica (Meyer-Rochow y Gál, 2004; Wolf y Ready, 1993). En este grupo podemos encontrar el género *Drosophila* en el que los espectros de sensibilidad y visión tricromática han sido caracterizados (Briscoe y Chittka, 2001). La mosca del vinagre *Drosophila melanogaster* estudiada desde hace más de un siglo y con cierta relación al hombre en diferentes aspectos (Greenspan y Dierick, 2004; Keller, 2006); ofrece un modelo ejemplar para la comprensión de la biología de la visión en insectos, ya que se conocen diferentes aspectos de su fisiología, desarrollo, transducción de señales y moléculas involucradas en visión; además, es un modelo de fácil mantenimiento, presenta un ciclo de vida corto, y se conocen gran cantidad de genes relacionados con la percepción a estímulos luminosos (Pak, 1996).

## ***Drosophila melanogaster***

### **Visión**

La mosca del vinagre *D. melanogaster* cuenta con dos ojos compuestos que ocupan gran parte de la cabeza de una mosca y tres ojos sencillos u ocelos, que son ojos localizados en el vértice de la cabeza, cada uno con alrededor de 90 células fotorreceptoras expresando una rodopsina RH2 con sensibilidad a ultravioleta (440 nm) (Hu et al., 1978; Feiler et al., 1992). Si bien se ha estudiado la función que tienen cada una de estas estructuras en la visión, aun existen controversias a partir de los resultados de varios experimentos: los ocelos por sí solos son insuficientes para variar la conducta visual dado que moscas con ojos compuestos obstruidos y ocelos expuestos se comportan como si estuvieran ciegas. Mientras estudios realizados con mutantes que carecen de ocelos y del nervio ocelar *ocelliless (oc)*, pero conservan ojos compuestos intactos muestran solamente una pequeña variación en la respuesta a la luz (Hu y Stark, 1980). Cada uno de los dos ojos compuestos es una matriz de alrededor de 750 subunidades con forma hexagonal llamadas omatidias, que se encuentran juntas (Wolf y Ready 1993; Moses, 2001). Cada omatidia cuenta con un total de 23 células no compartidas: 8 células R, 4 células cono (sin relación a los conos de vertebrados) que

secretan la lente de la omatidia, 5 células de cerdas y 6 diferentes células pigmentadas divididas en: 2 células pigmentadoras primarias (PPC), 3 células pigmentadoras secundarias (SPC), 1 célula pigmentadora terciaria (TPC) (Wolf y Ready, 1993) (Figura 3).

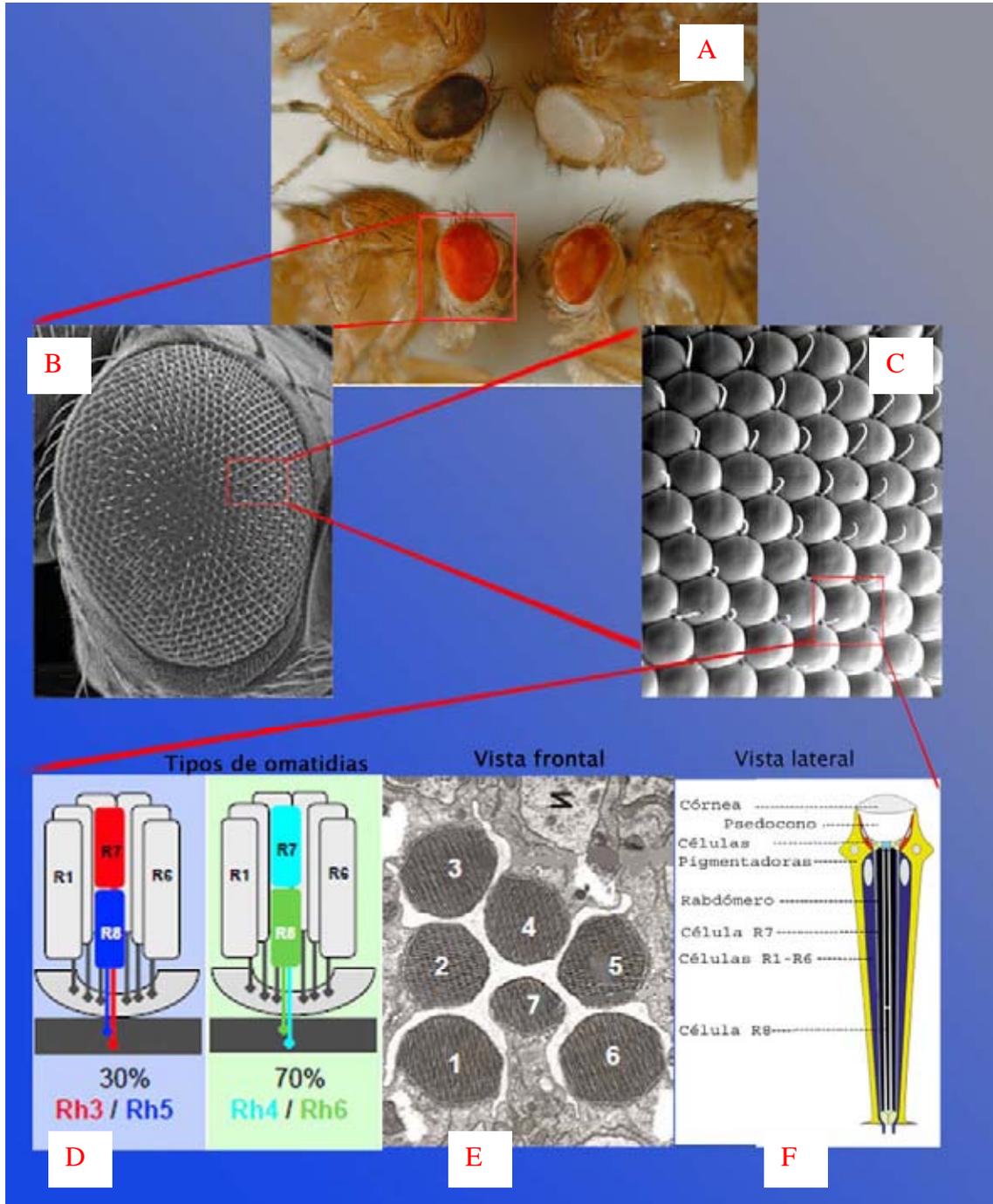


Figura 3. Ojo compuesto de *D. melanogaster*. (A) Diferentes mutantes para color de ojos. (B) Micrografía del ojo compuesto, (C) Ampliación de ojo compuesto en donde se observan omatidias, (D)Tipos de omatidias, dependiendo de la expresión de rodopsinas en las células R7 y R8 dan lugar a dos tipos de omatidias: "pale" en azul y "yellow" en verde. (E) Micrografía de una omatidia donde se muestran las células R1 a R7, la R8 se encuentra por debajo de la R7. (F) Anatomía general de una omatidia. Modificado de Desplan, 2001,

En las células pigmentadas se localizan los pigmentos que no forman parte de la retina y cuya función principal es cubrir a la omatidia lateralmente para que los rayos de luz no puedan entrar oblicuamente, también previenen de efectos borrosos al absorber fotones dispersos (Fingerman, 1952; Wolf y Ready, 1993). *D. melanogaster* contiene pigmentos de dos tipos: el pigmento rojo (pteridinas) y el pigmento café (ommocromos), cada uno presentando un espectro de absorción característico. Estos pigmentos definen el color de ojos de una mosca, conociéndose para *Drosophila* una gran cantidad de mutantes que difieren cuantitativamente en los pigmentos café o rojos, cambiando el color de ojos; en algunos casos hay una completa ausencia de uno o los dos pigmentos (Fingerman, 1952; Volpe et al., 1967; Lindsley y Zimm, 1992).

Cada omatidia tiene 8 fotorreceptores o células “R” (R1-R8) para un total de alrededor de 6,000 receptores individuales por ojo compuesto, estas células tienen un rabdómero o especialización de la membrana compuesto por microvellosidades en donde se encuentra la maquinaria implicada en la fototransducción; el rabdómero incrementa el área superficial de contacto con la luz y permite a las células fotorreceptoras empaquetar más de 100 millones de moléculas de rodopsina (Wolf y Ready, 1993; Zuker, 1996).

Las células receptoras R1-R6 están localizadas en la periferia del centro de la omatidia formando un trapecoide en vista frontal, estas células cuentan con un rabdómero largo, expresan la rodopsina Rh1 cuyo espectro de sensibilidad es característico al azul 486 nm y cuentan con alta sensibilidad debido a la elevada concentración de rodopsina (Zuker et al., 1987; Feiler et al., 1992; Wernet et al., 2006).

Por otro lado, las células R7 y R8 se encuentran sobrepuestas una de la otra presentando un rabdómero corto, la R7 o distal, ubicada arriba de R8 expresa uno de dos tipos de rodopsinas Rh3 (345 nm) o Rh4 (375 nm) sensibles ambas al ultravioleta (Feiler et al., 1992; Earl y Britt, 2006). La rodopsina que se encuentra en la célula R8 de una omatidia depende directamente de la rodopsina en R7, cuando la célula R7 tiene la rodopsina Rh3, la célula R8 expresa la rodopsina Rh5 con sensibilidad al azul (442nm); cuando R7 tienen Rh4, R8 expresa la rodopsina Rh6 con sensibilidad al verde (515nm) (Stark, 1977; Wolf y Ready, 1993; Stavenga y Arikawa, 2006; Wernet et al., 2007).

Los espectros de sensibilidad de las rodopsinas en los ojos compuestos de las moscas, perciben longitudes de ondas que van desde menos de 331nm a 515 nm, lo que implica una visión de ultravioleta a verde (Briscoe y Chittka, 2001). Las rodopsinas se expresan desde el tercer estadio larvario a bajas concentraciones, alcanzando un 70% de la

concentración total en el adulto alrededor del estadio pupal 12 (80 % del desarrollo pupal) (Earl y Britt, 2006).

Cada omatidia del ojo compuesto de la mosca posee las estructuras necesarias para la captación de luz por las células fotorreceptoras, una vez que las moléculas de rodopsinas se excitan en el rabadómero se transforman en su forma activa metarodopsinas y se llevan a cabo reacciones químicas mediadas por proteínas G y segundos mensajeros en donde la respuesta se amplifica rápidamente; culminando en la producción de una señal eléctrica que después se analiza para producir información (Montell, 1999; Heisenberg, 2001; Katsov y Clandinin, 2007; Neuser et al., 2008). En el Electroretinograma (ERG) se secuestra la señal eléctrica producida por una población de omatidias, la señal se amplifica y registra gráficamente para estudiar la forma, duración, intensidad, entre otras características (Hotta y Benzer, 1969; Stark, 1976; Hu et al., 1978; Zuker, 1996). La visión en *D. melanogaster* se ha estudiado por diferentes técnicas a distintos niveles de organización para conocer las características de las moléculas, la organización celular y la generación de señales eléctricas por poblaciones de células, pero además, para estudiar la respuesta del individuo a través de su conducta (Benzer, 1971 y 1991; Connolly, 1998; Sokolowski, 2001).

## **Conductas**

### **Fototaxis**

La fototaxis como conducta se ha estudiado en *Drosophila* desde 1905 (Carpenter, 1905 citado en Rockwell y Seiger, 1973), muchos aspectos de sus características, desde los mecanismos de respuesta a los efectos de la luz en las poblaciones, han sido considerados (Rockwell y Seiger, 1973). En general se ha utilizado la respuesta fototáctica innata de las moscas a diversos estímulos de luz. La fototaxis es una conducta compleja, la luz es absorbida por un pigmento en la célula receptora, produciendo excitación neuronal, transmisión en conexiones sinápticas, integración en el sistema nervioso central involucrando comparaciones con otros estímulos, y la generación de señales motoras apropiadas para que la mosca se mueva en una dirección particular (Benzer, 1967). Algunos de los parámetros que contribuyen a la conducta de la mosca son el estado de agitación, el aparato que se utilice, la selección de los

estímulos ofrecidos, el nivel general de intensidad de luz y el estado de adaptación del receptor, entre otros (Hu y Stark, 1980). Lejos de ser una respuesta uniforme, la fototaxis es un comportamiento que puede ser muy variable (Dobzhansky y Spassky, 1969).

Se han propuesto varios métodos utilizando la conducta de la mosca ante estímulos luminosos, cuyos diseños experimentales se pueden dividir en tres grupos (Rockwell y Seiger, 1973). El primero donde la medición de fototaxis es una función del movimiento hacia la fuente de luz, como la metodología de Benzer (1967), en donde las distribuciones de las moscas se analizan después de repetidos intervalos de estímulo en donde la mosca se mueve directamente hacia la luz. La segunda clase utiliza la distribución de moscas en un campo como función de fototaxis. En este ambiente experimental difieren gradualmente la cualidad y cantidad de la luz. En el tercer diseño la distribución de las moscas, tras haber elegido entre dos o más estímulos, se usa como medición de fototaxis. En estos experimentos generalmente se utilizan laberintos en forma de T donde la alternativa de luz es perpendicular al plano de movimiento, tras varias elecciones las moscas entran a tubos donde son contadas (Dobzhansky y Spassky, 1967 y 1969; Dobzhansky et al., 1974). Cabe destacar que estas metodologías permiten comprender de una manera global el resultado de una alteración visual en el individuo, nivel de organización que permite hacer un gran número de observaciones dado el pequeño tamaño de la mosca y su relativa facilidad de manejo en laboratorio (Markow, 1975); .

La utilización de mutantes conductuales, metabólicos o estructurales en estos métodos es amplia, analizando generalmente la variación en la respuesta fototáctica de mutantes en donde una estructura del ojo se encuentra ausente o modificada (Fingerman, 1952; Benzer, 1967; Volpe et al., 1967; Hu y Stark, 1980; Pak, 1996; Helfrich et al., 2001).

## **Geotaxis**

La geotaxis o gravitaxis es una conducta presente en muchos organismos, se define ampliamente como la orientación y movimiento de individuos con la gravedad o como un movimiento dirigido y mediado por la gravedad (Stewart, 2005). Carpenter (1905) fue el primero en divulgar que las moscas presentan una conducta geotáctica negativa. La geotaxis en *D. melanogaster* se ha definido como una orientación y movimiento de

individuos con respecto a gravedad, encontrada y clasificada operacionalmente como movimiento de los individuos hacia arriba y hacia abajo adentro de un laberinto múltiple de clasificación (Hirsch, 1959). Este laberinto de gravedad es una red de tubos orientados verticalmente con una entrada y muchas salidas en diversas alturas; a lo largo del laberinto se ofrecen consecutivamente dos alternativas: dirigirse hacia arriba o dirigirse hacia abajo (Hirsch y Tryon 1956; Sisodia y Singh, 2005) (Figura 4); aunque la respuesta de la orientación con respecto a gravedad, puede variar en relación al aparato utilizado para medir la respuesta.

La conducta geotáctica negativa de *D. melanogaster* se puede observar fácilmente en las moscas cuando al ser obligadas a ir hacia abajo de un frasco por un pequeño golpe, las moscas se orientan y dirigen hacia la parte superior del frasco, en contra de la fuerza de gravedad. Puesto que la conducta de un organismo está influenciada por muchos estímulos sensoriales, los efectos de la gravedad en una conducta compleja como ésta son difíciles de disectar (Armstrong et al., 2005).

Los primeros indicios y análisis de genes que afectaban las conductas de poblaciones se encontraron en la conducta geotáctica negativa de *D. melanogaster*, al cuantificar los efectos sobre la geotaxis de cada uno de los tres cromosomas principales (X, 2 y 3) Hirsch y Erlenmeyer-Kimling (1961 y 1962) reportaron que los tres cromosomas contribuyen de manera diferente al comportamiento, y que los tres habían respondido a la selección artificial a geotaxis. Esto los llevó a concluir que “hay genes distribuidos sobre la mayor parte del genoma que influyen en la respuesta a la gravedad” es decir que la conducta geotáctica negativa de la mosca tiene un origen poligenético. Como complemento a estas investigaciones, Ricker e Hirsch (1988) demostraron que la evolución de este sistema poligenético en las líneas seleccionadas con baja y alta geotaxis implicaba varios tipos de cambios en la población.

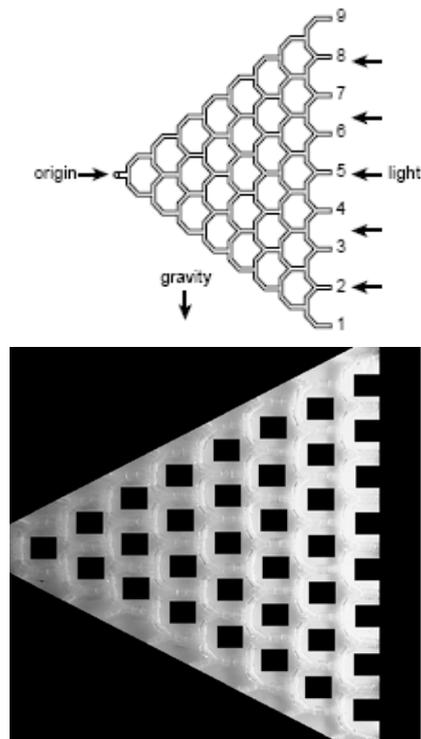


Figura 4. Laberinto múltiple de clasificación utilizado en geotaxis. Tomado de Stewart, 2005.

## **Genética de Poblaciones**

La utilización de *D. melanogaster* en genética data desde Morgan en 1902. El corto ciclo de vida y el tiempo generacional de estos organismos ha permitido a los investigadores comprobar de una manera fácil y en un tiempo relativamente corto diferentes hipótesis sobre selección, deriva génica y evolución entre otros (Pasteur, 1968; Markow, 1975; Brookfield, 1998). Algunos trabajos tratan de elucidar la arquitectura genética de comportamientos en poblaciones de *Drosophila* (Dobzhansky y Spassky, 1967 y 1969). La gran variación conductual de la respuesta a la luz de las moscas está relacionada con un origen poligenético, varios experimentos a nivel de poblaciones confirman que este comportamiento es mediado por una gran cantidad de genes, distribuidos en todos los cromosomas de las moscas (Pasteur, 1968; Markow, 1975; Ricker e Hirsch, 1988). Algunos se enfocan a estudiar la divergencia estructural de poblaciones seleccionadas para estímulos de luz, encontrando pequeñas variaciones en estructuras no relacionadas con la visión como las alas y las antenas. El seleccionar poblaciones con respecto a una conducta puede llevar a la selección directa o indirecta de variaciones morfológicas (Pasteur, 1968) que al parecer no tienen relación. Existen genes que tienen este comportamiento, modificando más de una estructura o funciones sin relación aparente, estos genes son conocidos como genes pleiotrópicos (Caspari, 1952).

### **Genes Pleiotrópicos**

El fenómeno de pleiotropía fue encontrado tempranamente en la historia de la genética, en donde la acción de un gen puede no estar restringida a un órgano o sistema; genes de este tipo que afectan más de una característica fueron llamados pleiotrópicos por Plate en 1913 (Caspari, 1952). Actualmente la pleiotropía es un atributo comúnmente observado en muchos organismos.

Las explicaciones de porqué un gen afecta varias características en un individuo pueden ser sencillas en algunos casos y complicadas si se observan otros genes. Por ejemplo, las personas afectadas por diversos genes de albinismo no producen las cantidades usuales del pigmento llamado melanina, causando esto los fenotipos típicos de personas con albinismo. Se sabe que estos genes afectan ojos, piel, cabello e inclusive tejido

nervioso en donde se tienen poco o nada de pigmento. Aquí los hechos pueden explicarse por la supresión de pigmento melanina en donde quiera que esto ocurra (Caspari, 1952; NOAA, 2002).

Sin embargo, las causas de los efectos pleiotrópicos de otros genes no son tan sencillas; el gen Frizzle encontrado en gallinas y algunas otras aves, tiene como efecto primario una queratinización anormal de las plumas en condiciones heterocigas y pérdida completa de las plumas en condiciones homocigas (Landauer y Dunn, 1930) (Figura 5). La alteración de esta característica por el gen lleva a una serie de efectos secundarios donde otras estructuras se afectan, estos cambios pueden explicarse como cambios secundarios compensatorios. Como ejemplo de esto, se sabe que las aves incrementan su metabolismo, posiblemente para compensar la pérdida de calor por la falta de plumas. Estas aves presentan también un corazón más grande, incremento del volumen sanguíneo, ritmo cardiaco acelerado, mayor volumen de órganos internos y diversas deficiencias en la tiroides (Caspari, 1952).



Figura 5. Ave portadora del gen Frizzle.

### **Genes Pleiotrópicos en *Drosophila melanogaster*.**

La conducta en la mosca del vinagre no escapa de los efectos pleiotrópicos de los genes; por ejemplo el gen *yellow* (*y*) es conocido por alterar el color del cuerpo de un mosca cambiándolo a un tono amarillo, controlando y regulando el proceso melanotónico de la cutícula de la mosca, además de alterar la conducta. Cuando Margaret Bastock trabajó con estas moscas en 1959, encontró que las moscas portadoras de este gen diferían a las moscas silvestres no sólo en el color del cuerpo, si no que también presentaban diferencias conductuales entre los cortejos de machos con color de cuerpo amarillo comparado con el silvestre. Concluyó que aparte de cambiar el color del cuerpo de la mosca, el gen tuvo otro efecto en estas moscas que había pasado desapercibido hasta entonces: el gen modificó la conducta de las moscas haciendo que presentaran un cortejo anormal. De hecho este gen se considera el primer gen reportado que altera la conducta; cincuenta años después de su descubrimiento, la relación exacta entre los

efectos de la mutación y el fenotipo conductual observado por Bastock permanece incierta (Bastock y Manning 1959; Lindsley y Zimm, 1992; Cobb, 2007).

Existen genes en donde la explicación de los efectos pleiotrópicos no son del todos claros aunque se conozca la molécula implicada, en la mosca del vinagre *D. melanogaster*, el gen *polymorph* (*pym*, *sinónimo: ade2*) se sabe que codifica la enzima *formilglicinamida ribotido aminotransferasa* usada en la ruta metabólica de síntesis de purinas. Los individuos con el gen mutante presentan varias alteraciones asociadas: ojos translúcidos color rubí, ocelos más pálidos que el silvestre, tibias de la pata delanteras dobladas, fémur deformado, halterio alargado, alas pequeñas con venaciones extra, pelos en diferentes arreglos y cantidades, completa esterilidad en ambos sexos, entre otras características. La relación entre la enzima y las características alteradas no están bien definidas dadas las complejas cascadas de reacciones además de los diversos tiempos en el desarrollo en donde ocurren (Neel, 1942; Linsley y Zimm, 1992).

Se ha observado que la interacción de varios genes puede generar efectos pleiotrópicos. Los organismos con dos genes mutantes de este tipo, presentan fenotipos y algunos caracteres biológicos que no se observan en ninguno de los individuos con un solo gen mutante. Tal es el caso del gen *garnet* en *D. melanogaster*, este gen forma parte de un grupo de genes llamados “mutantes granulados de color de ojos” que presentan colores de ojos característicos y que posiblemente tienen efectos pleiotrópicos en la biogénesis de lisosomas (Lloyd et. al., 1998). Combinaciones de *garnet* con otros genes de este grupo dan como resultado fenotipos y alteraciones que no se recuperan en individuos con un solo gen mutante, incluyendo esterilidad, baja viabilidad y letalidad. Combinaciones entre otros miembros del grupo como *carnation-light*, *deep orange-purploid* y *carnation - deep orange*, presentan interacciones semiletales o letales (fig 6) (Lucchesi, 1968; Nash, 1971).

Existen además diversos reportes de efectos pleiotrópicos en características biológicas reguladas por varios genes. Por ejemplo, en una selección artificial para obtener moscas con baja y alta senescencia, se encontraron varios efectos pleiotrópicos en las moscas que no estaban considerados, uno de los cuales fue el mayor tamaño de larvas en las moscas con alta senescencia, debido probablemente al alargamiento general de los periodos de crecimiento en esta cepa (Partridge y Fowler, 1992; Simon et al., 2006).

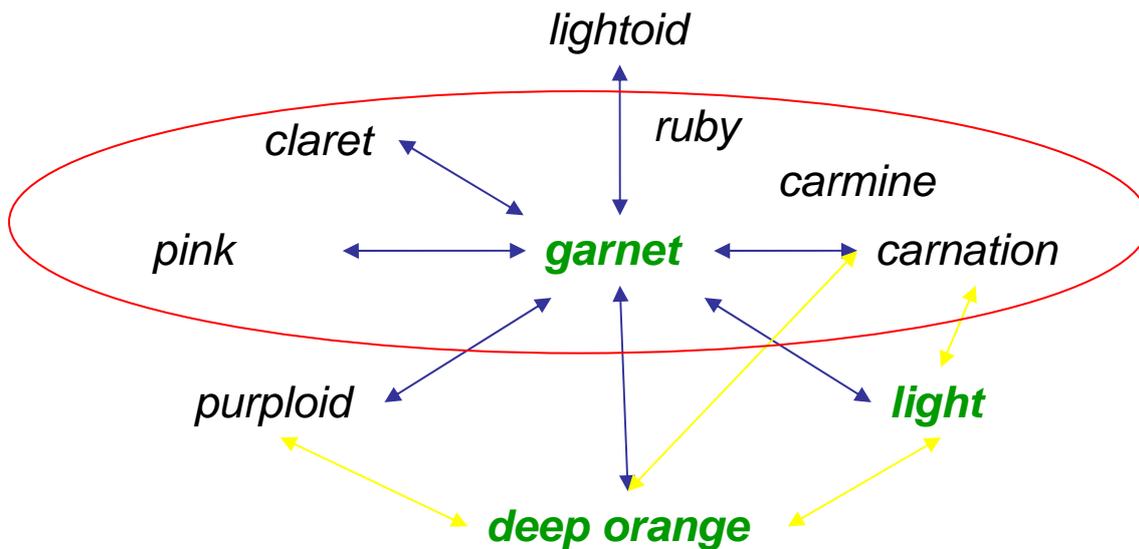


Figura 6. Interacciones entre genes del grupo granulado. Presentan interacciones letales (flechas amarillas), no rescatan vermillon en transplantes de disco imagal (óvalo rojo) y muestran una variedad de interacciones genéticas con garnet (flecha azul) (tomado de Lloyd et al. 1998).

Otro ejemplo de un gen que altera estructuras aparentemente no asociadas lo encontramos en el mutante *ebony* (*e*): este gen se conoce por cambiar el color del cuerpo de la mosca a un color más oscuro, como consecuencia de la falta de  $\beta$ -Alanina y Dopamina. Cuando Simour Benzer en 1967 trabajó con este mutante analizando la fototaxis, encontró que aunque la estructura del ojo parecía ser totalmente silvestre, el mutante presenta un comportamiento anormal a los estímulos de luz, presentándolo como un mutante no fototáctico. Dos años más tarde el mismo Benzer reportó que este mutante presenta un electroretinograma anormal ante estímulos luminosos, lo cual explica en parte los resultados anteriores; más tarde cuando se analiza la morfología del ojo compuesto del mutante se encuentra que posee una lamina diferente, la cual se encontraba reducida, razón por la cual se observaron los resultados anteriores (Benzer, 1967; Hotta y Benzer, 1969; Lindsley y Zimm, 1992)

Por ultimo se ha visto también este fenómeno en genes como *Notch* (*N*) y *miniature* (*m*) que además de regular el desarrollo de las alas, también están implicados en el desarrollo de los ojos (Wolf y Ready, 1993). En general se reporta que la variación es de organización y origen celular, sin un cambio morfológico en las pocas omatidias que son afectadas, aunque no se tiene un registro amplio de otro tipo de variación conductual o perceptiva.

## Justificación

En la mosca del vinagre *Drosophila melanogaster*, se han reportado diferentes moléculas fotorreceptoras en los ojos compuestos y ocelos capaces de percibir longitudes de onda que van del ultravioleta al verde (345 nm a 515 nm); sin embargo, en el trabajo cotidiano de docencia con estas moscas, se observó un comportamiento en donde las moscas presentaban un fototactismo positivo ante longitudes de onda correspondientes al color rojo (mayor a 580 nm), a pesar de no estar descrito un receptor para esta longitud de onda. Aunado a esto, trabajando con la conducta fototáctica innata de las moscas, se recurrió a cepas mutantes de fácil manejo ya que no vuelan; como el mutante p4 que carece de alas pero los ojos compuestos permanecen silvestres. Se observó que, la respuesta a muchos de los estímulos ofrecidos era menor comparada con la cepa silvestre. Las diferentes mutaciones que se conocen en *D. melanogaster* ofrecían un gran abanico de posibilidades para investigar las respuestas fototácticas; el Banco de Moscas de la Facultad de Ciencias de la UNAM cuenta con diversos mutantes que alteran diferentes estructuras en la mosca. Todos estos factores ofrecieron el ambiente propicio para investigar la respuesta fototáctica de la mosca *D. melanogaster* ante estímulos de colores del espectro electromagnético.

## **Objetivos**

### **General**

Analizar la respuesta a la luz de *Drosophila melanogaster*.

### **Particulares**

- A. Comparar la respuesta a la luz de diferente longitud de onda entre moscas silvestres y mutantes.
- B. Determinar si la respuesta fototáctica al rojo es sujeta a selección.
- C. Determinar si la respuesta fototáctica al rojo tiene una base heredable.
- D. Comparar la respuesta a la luz entre cepas seleccionadas y mutantes.

## II MATERIALES Y MÉTODOS

### **Fototaxis de moscas mutantes y silvestres.**

Se utilizaron moscas de tipo silvestre y mutantes para el color, forma y tamaño de los ojos, tamaño y forma de las alas y el color del cuerpo. Los mutantes se seleccionaron buscando establecer si la respuesta a la longitud de onda estaba relacionada con alguna estructura particular del cuerpo. En total se trabajó con 29 cepas de moscas cuyas características se muestran en el Apéndice 1.

Grupos de 10 moscas, 5 hembras y 5 machos (excepto para la mutación *zeste*, en la que se probaron los dos sexos por separado, dado que el color de los ojos entre sexos es diferente), se colocaron en tubos homeopáticos de vidrio con fondo plano y se cubrieron con un tapón de hule espuma. Los tubos con moscas se conservaron en un sitio oscuro antes de cada prueba. Para el estímulo luminoso se utilizó una lámpara Steren modelo Lam-100 con foco de Kriptón de alta luminosidad de 1,2 Volts, cuya pantalla se cubrió con papel celofán de color, a manera de filtro.

Al activar el interruptor se colocó de manera vertical un tubo con moscas encima de la superficie de la lámpara durante 10 segundos, al finalizar el tiempo se contó cuántas moscas se dirigieron al fondo del tubo; es decir, cuantas moscas acuden al estímulo de luz (tiempo óptimo para respuesta en la cepa silvestre). Se repitió el experimento con filtros de color rojo, verde, amarilla, azul y adicionalmente se utilizó un filtro transparente. Los espectros de emisión de la lámpara con los diferentes filtros se muestran en el Apéndice 2.

Para cada cepa se realizaron 3 repeticiones el mismo día, entre cada medición se dio un período de descanso a las moscas de 5 minutos aproximadamente en oscuridad (tiempo óptimo para la cepa silvestre), esto se repitió tres veces en diferente día con diferentes individuos (Figura 7).

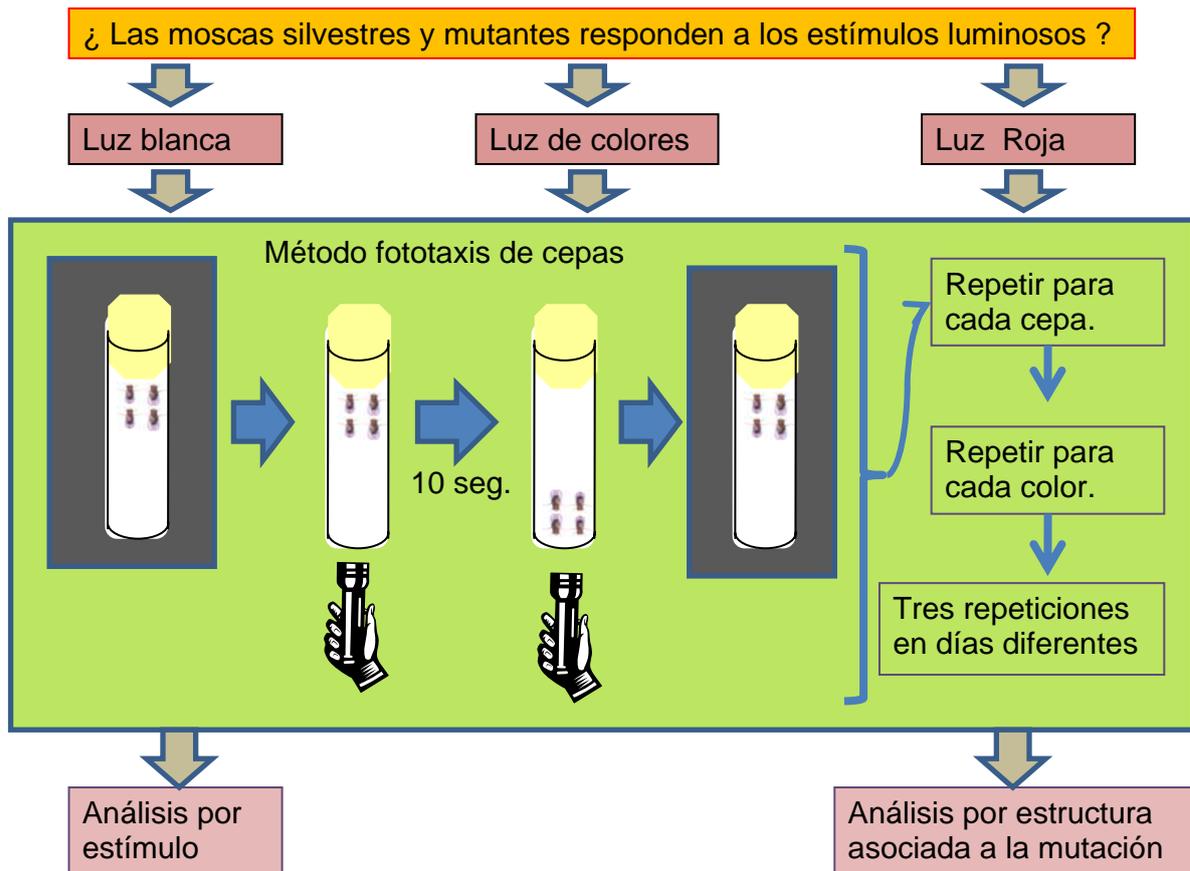


Fig 7. Esquema de metodología para Fototaxis de cepas de moscas mutantes y silvestres.

### Selección de moscas silvestres con fototaxis al color rojo.

A partir de un frasco con una población homogénea de moscas silvestres de la cepa *Canton-s* se tomaron muestras al azar para dividirla en tres subpoblaciones nombradas: Positiva (pos), Neutra o sin selección (neu) y Negativa (neg), cada una de éstas con cuatro frascos en donde se aplicó individualmente la selección sin juntar moscas de dos frascos diferentes, la selección se realizó durante diez generaciones nombradas como F1, F2, ... , F10 (Fig 8).



Figura 8. Esquema de la selección de moscas silvestres durante 10 generaciones. Círculo amarillo indica el extremo de la distribución del que se obtienen a los individuos para la siguiente generación.

La selección a las subpoblaciones se llevó acabo de la siguiente manera (Figura 9):

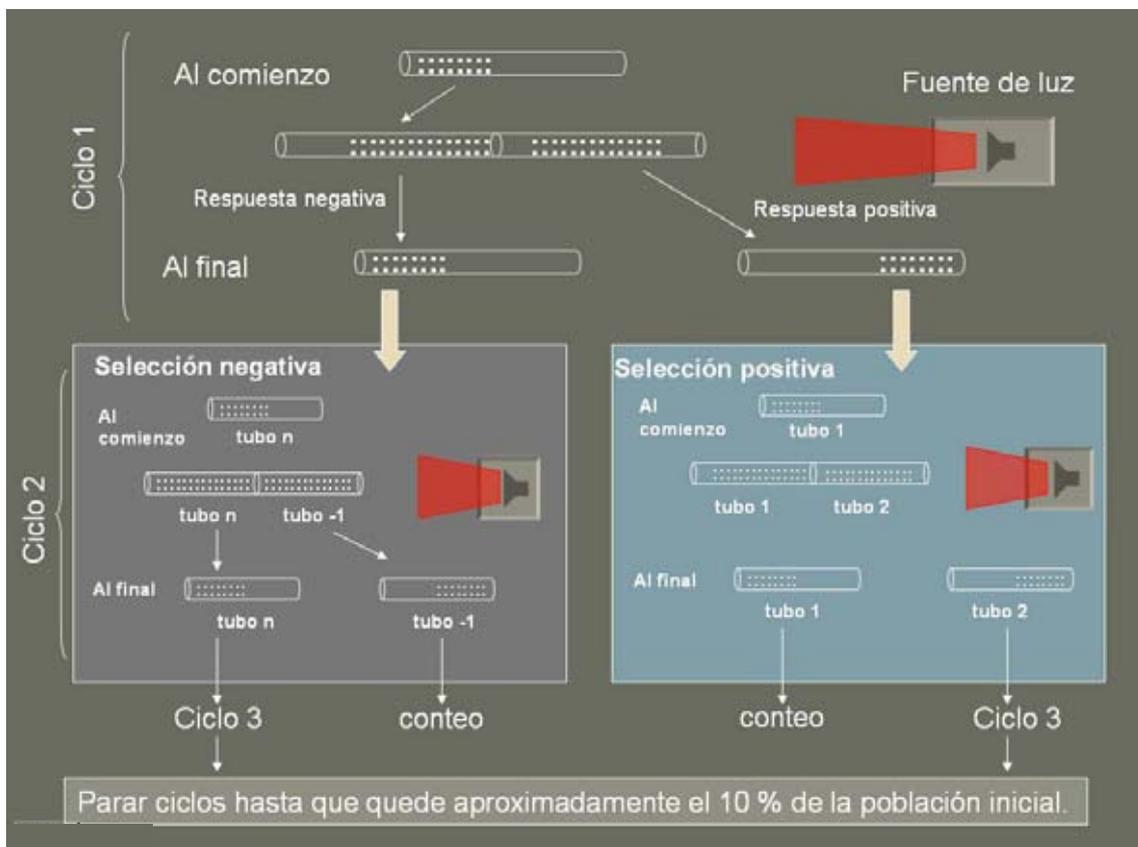


Figura 9. Esquema donde se muestra el avance de los ciclos que se usó para seleccionar a las poblaciones de moscas positivas y negativas.

- Población positiva

Una muestra al azar de la subpoblación se traspasó en un tubo homeopático de fondo plano, nombrado como tubo 0. Se mantuvo en obscuridad por un tiempo mínimo de 5 minutos antes de realizar la prueba.

Se prendió el estímulo (Lámpara steren con foco de Kriptón 1.2 V con pilas cargadas a 1.4 v) con el filtro de celofán rojo al inicio de la lámpara.

En el extremo abierto del tubo 0 se colocó un tubo de iguales dimensiones nombrado como tubo 1, formando una cámara en la que las moscas estarán expuestas al estímulo, localizado a treinta centímetros de la unión de ambos tubos y de manera horizontal se ubicó el estímulo de luz.

Ciclo 1 Se colocan las moscas en el extremo del tubo 0, se dejan transcurrir 20 segundos (determinados preliminarmente) de estímulo en los cuales las moscas podrán acudir a este, trasladándose hacia el tubo siguiente (tubo 1). Esto se registró como una **respuesta positiva**.

Transcurridos los 20 segundos se separan los tubos 0 y 1; las moscas en el tubo 1 pasan al siguiente ciclo mientras que las moscas del tubo 0 se guardaron para posterior conteo.

Ciclo 2 Se coloca un nuevo tubo, tubo 2 al extremo del tubo 1, se colocan las moscas en el extremo del tubo 1 y se dejan transcurrir 20 seg. Al terminar el tiempo se separan los tubos, las moscas del tubo 2 pasan al siguiente ciclo mientras que las moscas del tubo 1 se guardan para posterior conteo.

Los ciclos llegaron como máximo al ciclo 40, se detienen los ciclos cuando el número de moscas es aproximadamente el 10% de la población con la que se inicio. A partir de la F6 se procedió a contar el número de moscas en cada tubo (0, 1, 2 ,... n). Las moscas del último tubo (ciclo n) se traspasaron a un frasco nuevo donde tuvieron descendencia. Se repitió todo el proceso para los frascos 1, 2, 3 y 4 de la población positiva.

- Población negativa

Una muestra al azar de la subpoblación se traspasa en un tubo homeopático de fondo plano, nombrado como **tubo n**. Se mantiene en obscuridad por un tiempo mínimo de 5 minutos (determinados preliminarmente) antes de realizar la prueba, se prendió el estímulo con el filtro de celofán rojo al inicio de la lámpara.

En el extremo abierto del tubo n se colocó otro tubo de iguales dimensiones nombrado como tubo 0, a treinta centímetros de esta unión y de manera horizontal se ubicó el estímulo de luz .

Ciclo 1 Se colocaron las moscas en el extremo del **tubo n**, se dejan transcurrir 20 segundos de estímulo, en los cuales habrá moscas que **no acudan al estímulo**; es decir que permanezcan en el tubo inicial. Esto se registró como una respuesta negativa.

Transcurridos los 20 seg se separaron los dos tubos; de los cuales las moscas en el tubo inicial n (que no acudieron) pasan al siguiente ciclo mientras que las moscas del tubo 0 se guardan para posterior conteo

El tubo con moscas que acudió al estímulo se nombra como **tubo 0** y el de moscas que no acudió como **tubo n** el cual pasa al siguiente ciclo.

Ciclo 2 Se coloca el **tubo -1** al extremo del **tubo n**, se colocan las moscas en el extremo del **tubo n** y se dejan transcurrir 20 seg. Al terminar se separan los tubos, las moscas que no acudieron (**tubo n**) pasan al siguiente ciclo (ciclo 3 donde se añade el tubo -2), mientras que las moscas del **tubo -1** se guardaron para posterior conteo.

Los ciclos se detuvieron cuando el tubo n tuvo aproximadamente el 10 % de la población con la que se inició. A partir de la F6 se procedió a contar el número de moscas de cada tubo (0, -1, -2... - n). Las moscas del último tubo (ciclo n) se traspasaron a un frasco nuevo donde tuvieron descendencia. Se repitió todo el proceso para los frascos 1, 2, 3 y 4 de la población negativa.

- Población neutra o sin selección.

Dado que a este grupo no se le desea dar selección, solamente se tomó una muestra al azar de aproximadamente el 10 % de la población que se traspasa a un frasco nuevo donde puedan tener descendencia. Repitiendo todo el proceso para los frascos 1, 2, 3 y 4 de población neutra o sin selección.

Dado el método que se utiliza, el número de tubo indica el número de respuestas positivas o negativas que mostraron un grupo de moscas; por ejemplo el tubo 10 indica

que estas moscas respondieron diez veces positivamente, por el contrario un tubo  $-5$  indicaría que estas moscas respondieron negativamente cinco veces.

Se eligieron dos tipos de gráficas: en la primera se muestra la respuesta de fototaxis de una población en histogramas del número de respuestas vs la frecuencia de moscas, donde mientras más recorrida hacia respuestas positivas esté una población, mayor será su fototaxis al rojo. El otro tipo de gráfica que se escogió fue el de caja y bigotes mostrando el promedio de promedios de los cuatro frascos, por generación. La amplitud de la caja es el error estándar y la amplitud de los bigotes es la desviación estándar para la selección.

## Cruzas de poblaciones seleccionadas.

De los procedimientos anteriores se obtuvieron moscas Canton-s seleccionadas con respecto a su fototaxia al color rojo, esta selección se llevó a cabo durante diez generaciones, mostrando una respuesta positiva de las moscas hacia la luz roja en el caso de las moscas seleccionadas positivamente; por el contrario las moscas seleccionadas negativamente mostraron una menor fototaxia hacia la longitud de onda del rojo. En este experimento se pretende dilucidar si la selección tuvo un efecto transgeneracional sobre las moscas y si su descendencia mantiene estas características aún en un ambiente libre de selección. Otro de los puntos que se pudieron observar en la metodología de selección fue que al parecer existen diferencias en fototaxia dentro de los sexos, esto se observó en los últimos tubos de la selección en repetidas generaciones, recobrándose más individuos de un sexo en particular, por lo cual se diseñó una metodología que pudiera mostrar estas diferencias con mayor claridad.

### \* Homogenización de poblaciones

Los diferentes frascos de moscas de las selecciones positiva, negativa y neutra se dejaron sin selección durante tres generaciones, al final de la cuarta generación se tomaron al azar moscas de cada uno de los frascos para dividir en dos categorías: (A) Sin homogenizar a las poblaciones seleccionadas; es decir que las subpoblaciones no se juntan y (B) homogenizando a las poblaciones seleccionadas. Las poblaciones de positivas, negativas y neutras se homogenizaron de la siguiente manera (Figura 10):

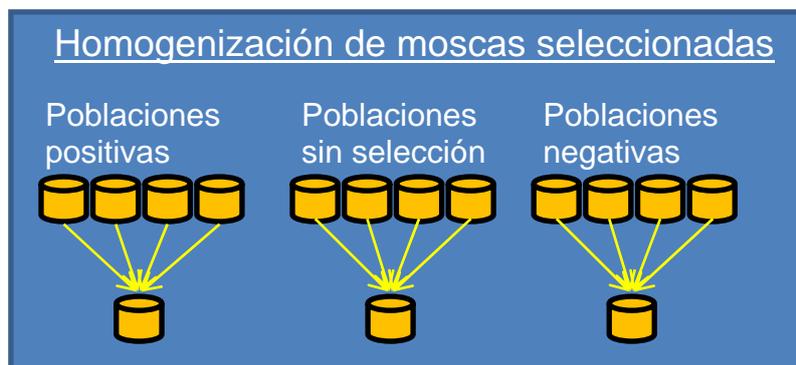


Figura 10. Esquema de homogenización de cepas seleccionadas

Se tomaron al azar tres ♀ vírgenes y tres ♂ recién emergidos, de cada uno de los frascos 1, 2, 3, y 4; dando un total de veinticuatro moscas, las cuales se siembran en un

frasco nuevo. Nótese que este frasco homogenizado por selección (pos ó neu ó neg), contiene moscas de todas las selecciones individuales.

Esto se llevó acabo por cuadruplicado para cada selección, al final se obtuvieron 4 frascos con poblaciones homogenizadas para cada una de las selecciones, estos frascos se nombraron de la siguiente manera: Pos h1, Pos h2, .... , Pos h4, Neu h1, ....Neu h4, Neg h1, ...., Neg h4.

*\* Preparación de las cruzas*

Se esperó la descendencia de las poblaciones homogenizadas y se tomaron al azar a los individuos que se utilizaron para las cruzas, en cada experimento se llevaron acabo nueve cruzas. Tres cruzas que actuaron como testigo Pos X Pos, Neg x Neg y Neu X Neu; tres cruzas experimentales Pos X Neu , Neg X Neu y Pos X Neg ; y tres cruzas recíprocas de estas últimas en donde se cambian progenitores hembras por macho y viceversa. Se decidió utilizar para cada una de las cruzas un total de 32 moscas, 16 provenientes de una selección y 16 provenientes de otra.

Tabla I. Las cruzas probadas, mostrando de donde provienen los individuos utilizados en cada cruz.

Cruza	Selección Positiva Frasco H				Sin Selección Frasco H				Selección Negativa Frasco H				Total moscas
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
♀ pos X ♂ pos	4 ♀y 4 ♂	4 ♀y 4 ♂	4 ♀y 4 ♂	4 ♀y 4 ♂									32
♀ pos X ♂ neu	4 ♀	4 ♀	4 ♀	4 ♀	4 ♂	4 ♂	4 ♂	4 ♂					32
♀ neu X ♂ pos	4 ♂	4 ♂	4 ♂	4 ♂	4 ♀	4 ♀	4 ♀	4 ♀					32
♀ pos X ♂ neg	4 ♀	4 ♀	4 ♀	4 ♀					4 ♂	4 ♂	4 ♂	4 ♂	32
♀ neg X ♂ pos	4 ♂	4 ♂	4 ♂	4 ♂					4 ♀	4 ♀	4 ♀	4 ♀	32
♀ neu X ♂ neu					4 ♀y 4 ♂	4 ♀y 4 ♂	4 ♀y 4 ♂	4 ♀y 4 ♂					32
♀ neg X ♂ neu					4 ♂	4 ♂	4 ♂	4 ♂	4 ♀	4 ♀	4 ♀	4 ♀	32
♀ neu X ♂ neg					4 ♀	4 ♀	4 ♀	4 ♀	4 ♂	4 ♂	4 ♂	4 ♂	32
♀ neg X ♂ neg									4 ♀y 4 ♂	4 ♀y 4 ♂	4 ♀y 4 ♂	4 ♀y 4 ♂	32
Total moscas	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	288

Por ejemplo la crucea ♀ **Pos X** ♂ **Neg** tiene 32 individuos, 16 hembras positivas 4 del Pos h1 , 4 del Pos h2, 4 de Pos h3 y 4 de Pos h4 ; y 16 machos negativos provenientes 4 del Neg h1, 4 del Neg h2, 4 de Neg h3 y 4 de Neg h4 (Tabla I y Figura 11).

Esta metodología se repitió al día siguiente para obtener nuevos individuos que fueron los utilizados en el experimento 2, para el experimento 3 se utilizaron moscas de la primera repetición.

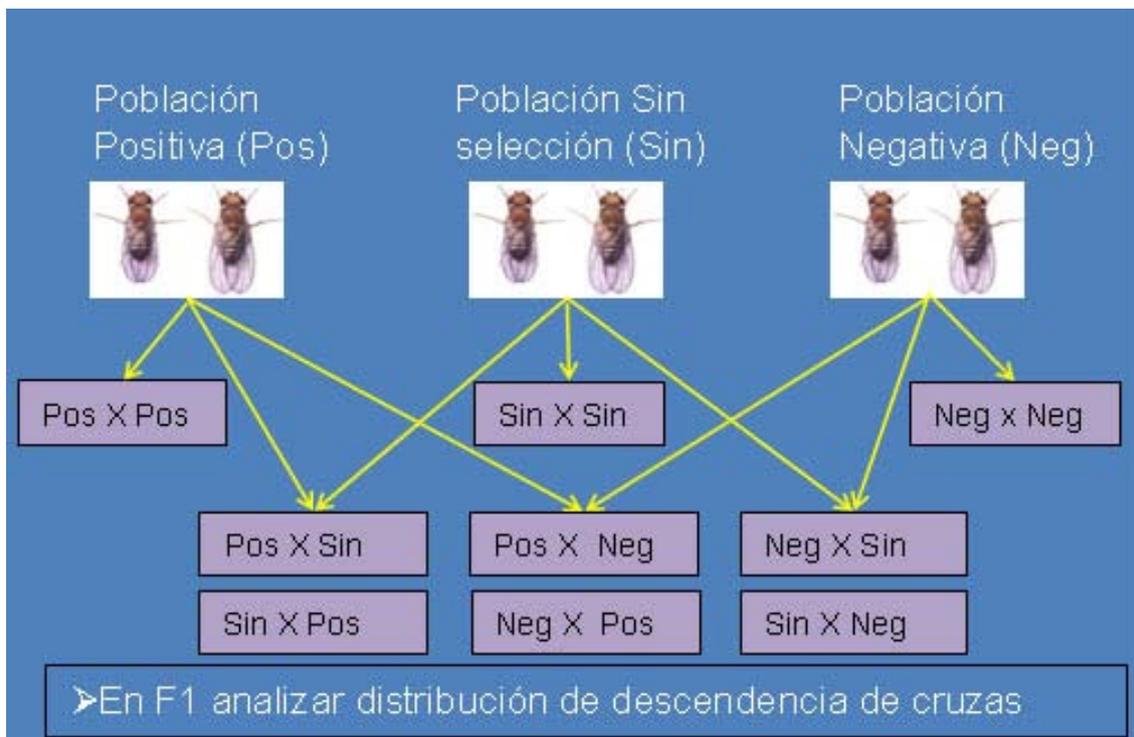


Figura 11. Esquema de las cruces de poblaciones seleccionadas.

\* *Obtención de fototaxia de la descendencia de cruces*

Se esperó la descendencia de las cruces y se aplicó la metodología de conteo recurrente utilizada en selección (ciclos), los resultados de la fototaxis de las cruces se recabaron mediante el conteo de moscas de cada tubo, obteniendo los datos correspondientes de cada cruce. Esto se repitió nuevamente en dos experimentos independientes.

## Metodología tubo negro

Para comparar la respuesta fototáctica de las cepas seleccionadas con los diferentes mutantes utilizados en la metodología de fototaxis, se propuso esta metodología por las siguientes razones: El tiempo en el que se observaba la respuesta fototáctica parecía ser un factor importante, observándose que los tiempos de respuesta de las cepas eran distintos y que la geotaxis negativa innata en las moscas parecía estar mermada en algunas de las cepas con baja fototaxis; se diseñó entonces esta metodología en donde el tiempo de estímulo es mayor y donde el experimento se realizó de manera horizontal para reducir el posible efecto de geotaxis en la respuesta a estímulos de luz roja.

Además de las tres cepas obtenidas de fototaxis positiva, sin selección y negativa; se ocuparon 9 cepas que se eligieron por dos características importantes: (1) la magnitud de la respuesta observada en fototaxis (se utilizaron cepas con alta, media y baja respuesta) y (2) la estructura alterada asociada al gen mutante, ocupándose cuatro diferentes tipos de cepas: (1) con alteración en el color del cuerpo, se ocupó la cepa con color de cuerpo color amarillo *yellow* (*y*) y el mutante *ebony* (*e*) donde el color del cuerpo es más oscuro que el silvestre, (2) cepas con alteración en ala, en donde ésta se encuentra reducida *nubbin* (*nub*) y *miniature* (*m*), (3) cepas con alteración en pigmento de los ojos, *brown* (*bw*) con color de ojos cafés, *cinnabar* (*cn*) con color de ojos rojo brillante y la intracción de éstos dos últimos *cinnabar-brown* (*cn,bw*) con ojos color blancos y (4) una cepa con un menor tamaño de ojos compuestos *Bar* (*B*); se utilizó como referencia a la cepa silvestre *Canton-S* (*CS*).

La cámara consiste en dos tubos homeopáticos de fondo plano unidos con un tapón de hule espuma con un abertura circular de 5mm en el centro, por donde las moscas pueden pasar libremente; uno de los tubos se encuentra cubierto con plástico negro para evitar entrada de luz lateral, así, uno de los tubos está iluminado y la única entrada de luz al tubo negro es por la abertura del tapón (Figura 12). A treinta centímetros de la unión de los tubos y de manera horizontal se ubicó el estímulo de luz roja.

En el tubo negro se colocan cinco hembras y cinco machos de la cepa a probar, durante 10 minutos (determinados preliminarmente, utilizando un tiempo máximo de respuesta) el estímulo de luz permanece encendido y en este tiempo las moscas que inicialmente se encuentran en el tubo negro podrán o no trasladarse al tubo iluminado, registrándose el traslado como una respuesta positiva. Se repitió este procedimiento tres veces dejando

descansar en oscuridad a las moscas 10 minutos entre cada prueba, se repite tres veces todo el procedimiento en días diferentes con moscas diferentes para cada cepa. La hipótesis utilizada fue que la respuesta fototáctica de las cepas utilizadas era igual. Se buscaron diferencias entre la respuesta de las diferentes cepas utilizadas.



Figura 12. Esquema de la metodología del tubo negro, al final se registra el número de moscas que se encuentran en el tubo iluminado.

## III RESULTADOS

### Fototaxis cepas mutantes

Para determinar la respuesta fototáctica de los organismos se registró la proporción de moscas que acudían al estímulo en cada observación (0 = ninguna mosca, 1 = todas las moscas), se obtuvieron los promedios totales de respuesta a cada color para cada una de las cepas, éstas se muestran ordenadas de menor a mayor con base en la respuesta total (promedio general del promedio diario de respuesta a estímulos) en la Tabla II.

La respuesta promedio se analizó por medio de un Análisis de Varianza (ANOVA) de dos vías utilizando como factores los colores y las cepas; se encontró que los dos factores producen diferencias significativas en la respuesta ( $p < 0.001$ ), indicando que ambos factores modifican la respuesta fototáctica de las moscas, es decir que las cepas responden diferente y de manera diferencial ante los diversos estímulos luminosos.

Al comparar la respuesta de cada cepa mutante a cada color con la respuesta obtenida para la cepa silvestre se obtuvieron diferencias significativas (ANOVA-Bonferroni), estos resultados se indican con diferente color dependiendo del nivel de significancia en la tabla II.

La cepa silvestre *Canton-s* se ubicó en el extremo alto de respuesta a estímulos luminosos. Su respuesta a los diferentes estímulos luminosos varió de 0.70 a 0.81 con una respuesta promedio total de 0.76. El estímulo en donde se obtuvo la mayor respuesta fue el blanco con 0.81 seguido de los colores verde y rojo con 0.78, el color amarillo con 0.76 y para el color azul 0.70, en donde se observó la menor respuesta.

Comparadas con la cepa silvestre, los mutantes obtuvieron una menor y mayor magnitud de respuesta a estímulos luminosos de colores, ésta varía, como en la cepa silvestre en un intervalo cerrado, dado que no se encontraron diferencias significativas (ANOVA, Tukey  $P < 0.05$ ) en la respuesta a los diferentes colores evaluados dentro de cada cepa.

En general, la menor respuesta a los estímulos luminosos se obtuvo para los mutantes *yellow* (*y*) que afecta el color del cuerpo de la mosca, *nubbin* (*nub*) y *p4* que afectan el ala de la mosca y *Lobe* (*L*) que afecta la forma del ojo sin modificar el tamaño, encontrándose estos mutantes con los valores más bajos de respuesta fototáctica para los estímulos probados.

En cinco cepas mutantes, la respuesta promedio fue mayor a la de la cepa silvestre:

$w^{apricot}$  ( $w-a$ ),  $w^{coffee}$  ( $w-cf$ ), *brown* ( $bw$ ), *Machos Zeste* ( $Z-M$ ) y *Hembras Zeste* ( $Z-H$ ), todos ellos mutantes que modifican la pigmentación de los ojos.

Se obtuvieron diferencias significativas en la respuesta total a estímulos luminosos (ANOVA – Bonferroni;  $p < 0.05$ ) para 9 cepas diferentes con respecto a la silvestre, desglosadas en: mutantes de ojo que afectan el tamaño y forma del ojo *Lobe* ( $L$ ), *eyeless* ( $ey$ ), *Bar* ( $B$ ) (Figura 13); mutantes de ala en donde se encuentran alas reducidas o ausentes *nubbin* ( $nub$ ), *p4* ( $p4$ ), *aptera* ( $ap$ ) (Figura 14), mutantes para color de cuerpo *ebony* ( $e$ ), *yellow* ( $y$ ), *multiple wings hair,ebony* ( $mwh,e$ ) (Figura 15) y mutantes de tricomas *multiple wings hair, ebony* ( $mwh,e$ ) y *yellow* ( $y$ ) (Figura 16). Aunque se encontró variación en la respuesta de las cepas mutantes con alteración en color de ojo, ninguna presentó diferencias significativas en el promedio total con respecto a la cepa silvestre. Mostrando que la respuesta a los estímulos no se modifica significativamente por genes que afectan la coloración de los ojos.

En las cepas doble o triple mutante se encontraron diferentes resultados en la ubicación de la respuesta, respecto a los mutantes simples. Para la interacción  $mwh-e$  una relación de  $mwh,e < e < mwh$ ; en la interacción  $cn-bw$  de  $cn bw < cn < br$ , para  $y-w-B$  una relación de  $y < B < yBw < w$  y para la  $f-se-e$  de  $e < se < f se e$ .

No se encontraron diferencias significativas (ANOVA- Tukey  $p > 0.05$ ) en la respuesta de las cepas a la luz roja comparada con la respuesta registrada a otros estímulos, indicando que las moscas presentan un mecanismo de respuesta similar a estos estímulos luminosos, inclusive al rojo, aunque no se encuentren reportados receptores específicos para este intervalo de longitud de onda.

Se encontraron diferencias significativas (ANOVA-Bonferroni  $p < 0.05$ ) en la respuesta a la luz roja de 7 cepas mutantes *yellow* ( $y$ ), *nubbin* ( $nub$ ), *p4* ( $p4$ ), *Lobe* ( $L$ ), *eyeless* ( $ey$ ), *aptera* ( $ap$ ) y *ebony* ( $e$ ) comparada con la respuesta al rojo de la cepa testigo *Canton-s* ( $CS$ ) (Figura 17).

Tabla II. Promedios totales  $\pm$  error estándar de la respuesta de moscas mutantes y silvestres a diferentes estímulos luminosos.

Lineas	N	Rojo	Amarillo	Verde	Azul	Blanco	Total
Y	2	0.40 $\pm$ 0.03	0.37 $\pm$ 0.08	0.27 $\pm$ 0.03	0.37 $\pm$ 0.08	0.33 $\pm$ 0.03	0.35 $\pm$ 0.05
nub	3	0.34 $\pm$ 0.12	0.37 $\pm$ 0.08	0.23 $\pm$ 0.08	0.39 $\pm$ 0.08	0.41 $\pm$ 0.13	0.35 $\pm$ 0.08
p4	3	0.34 $\pm$ 0.11	0.36 $\pm$ 0.12	0.41 $\pm$ 0.14	0.38 $\pm$ 0.18	0.43 $\pm$ 0.09	0.38 $\pm$ 0.13
L	2	0.53 $\pm$ 0.03	0.45 $\pm$ 0.08	0.37 $\pm$ 0.10	0.48 $\pm$ 0.05	0.55 $\pm$ 0.02	0.48 $\pm$ 0.02
ey	3	0.49 $\pm$ 0.07	0.52 $\pm$ 0.09	0.48 $\pm$ 0.03	0.46 $\pm$ 0.06	0.51 $\pm$ 0.12	0.49 $\pm$ 0.06
B	3	0.62 $\pm$ 0.03	0.45 $\pm$ 0.08	0.53 $\pm$ 0.08	0.54 $\pm$ 0.10	0.59 $\pm$ 0.06	0.55 $\pm$ 0.06
ap	2	0.52 $\pm$ 0.08	0.57 $\pm$ 0.07	0.458 $\pm$ 0.06	0.48 $\pm$ 0.12	0.73 $\pm$ 0.03	0.55 $\pm$ 0.05
mwh e	2	0.63 $\pm$ 0.10	0.58 $\pm$ 0.08	0.53 $\pm$ 0.10	0.48 $\pm$ 0.05	0.53 $\pm$ 0.10	0.55 $\pm$ 0.05
e	2	0.57 $\pm$ 0.10	0.45 $\pm$ 0.08	0.55 $\pm$ 0.08	0.60 $\pm$ 0.00	0.65 $\pm$ 0.02	0.56 $\pm$ 0.05
pr	3	0.60 $\pm$ 0.03	0.57 $\pm$ 0.00	0.47 $\pm$ 0.03	0.58 $\pm$ 0.05	0.72 $\pm$ 0.02	0.59 $\pm$ 0.03
Mo	2	0.65 $\pm$ 0.02	0.63 $\pm$ 0.03	0.53 $\pm$ 0.07	0.55 $\pm$ 0.02	0.58 $\pm$ 0.02	0.59 $\pm$ 0.02
mwh	2	0.60 $\pm$ 0.03	0.58 $\pm$ 0.08	0.55 $\pm$ 0.08	0.60 $\pm$ 0.00	0.67 $\pm$ 0.07	0.60 $\pm$ 0.02
ywB	2	0.75 $\pm$ 0.05	0.57 $\pm$ 0.07	0.52 $\pm$ 0.02	0.60 $\pm$ 0.03	0.65 $\pm$ 0.02	0.62 $\pm$ 0.00
w	2	0.68 $\pm$ 0.02	0.73 $\pm$ 0.06	0.63 $\pm$ 0.10	0.71 $\pm$ 0.08	0.70 $\pm$ 0.10	0.69 $\pm$ 0.03
f1r3	3	0.77 $\pm$ 0.10	0.68 $\pm$ 0.02	0.58 $\pm$ 0.12	0.58 $\pm$ 0.05	0.87 $\pm$ 0.03	0.70 $\pm$ 0.06
m	2	0.70 $\pm$ 0.03	0.65 $\pm$ 0.02	0.70 $\pm$ 0.03	0.68 $\pm$ 0.08	0.77 $\pm$ 0.07	0.70 $\pm$ 0.03
cnbw	3	0.71 $\pm$ 0.08	0.71 $\pm$ 0.04	0.62 $\pm$ 0.12	0.66 $\pm$ 0.09	0.81 $\pm$ 0.06	0.70 $\pm$ 0.07
v	3	0.70 $\pm$ 0.09	0.75 $\pm$ 0.11	0.60 $\pm$ 0.09	0.65 $\pm$ 0.09	0.84 $\pm$ 0.04	0.71 $\pm$ 0.08
cn	2	0.77 $\pm$ 0.03	0.70 $\pm$ 0.03	0.63 $\pm$ 0.03	0.65 $\pm$ 0.02	0.80 $\pm$ 0.03	0.71 $\pm$ 0.00
se	2	0.75 $\pm$ 0.02	0.75 $\pm$ 0.05	0.65 $\pm$ 0.08	0.65 $\pm$ 0.05	0.87 $\pm$ 0.03	0.73 $\pm$ 0.03
y2wa	3	0.73 $\pm$ 0.07	0.76 $\pm$ 0.01	0.60 $\pm$ 0.22	0.79 $\pm$ 0.04	0.81 $\pm$ 0.04	0.74 $\pm$ 0.05
w-e	3	0.70 $\pm$ 0.17	0.73 $\pm$ 0.13	0.71 $\pm$ 0.08	0.77 $\pm$ 0.13	0.79 $\pm$ 0.11	0.74 $\pm$ 0.12
f se e	3	0.80 $\pm$ 0.04	0.67 $\pm$ 0.03	0.78 $\pm$ 0.08	0.61 $\pm$ 0.11	0.84 $\pm$ 0.02	0.74 $\pm$ 0.01
CS	3	0.78 $\pm$ 0.05	0.76 $\pm$ 0.03	0.78 $\pm$ 0.05	0.70 $\pm$ 0.05	0.81 $\pm$ 0.04	0.76 $\pm$ 0.02
w-a	3	0.84 $\pm$ 0.08	0.72 $\pm$ 0.15	0.76 $\pm$ 0.13	0.78 $\pm$ 0.08	0.81 $\pm$ 0.04	0.78 $\pm$ 0.09
w-cf	3	0.82 $\pm$ 0.08	0.78 $\pm$ 0.02	0.78 $\pm$ 0.05	0.78 $\pm$ 0.12	0.78 $\pm$ 0.02	0.79 $\pm$ 0.00
bw	2	0.95 $\pm$ 0.02	0.85 $\pm$ 0.05	0.68 $\pm$ 0.15	0.68 $\pm$ 0.12	0.93 $\pm$ 0.07	0.82 $\pm$ 0.03
z-M	2	0.82 $\pm$ 0.05	0.83 $\pm$ 0.00	0.83 $\pm$ 0.07	0.78 $\pm$ 0.05	0.90 $\pm$ 0.03	0.83 $\pm$ 0.04
z-H	2	0.92 $\pm$ 0.02	0.87 $\pm$ 0.03	0.82 $\pm$ 0.08	0.92 $\pm$ 0.05	0.98 $\pm$ 0.02	0.90 $\pm$ 0.02
Promedios		0.67 $\pm$ 0.029	0.63 $\pm$ 0.027	0.59 $\pm$ 0.029	0.62 $\pm$ 0.025	0.71 $\pm$ 0.031	0.64 $\pm$ 0.027
Total individuos = 712			ANOVA, Bonferroni.		P < 0.05	P < 0.01	P < 0.001
N = Número de tubos utilizados para cada cepa, cada tubo con 10 moscas, evaluados por triplicado para cada color. En gris obscuro se señala la respuesta de la cepa silvestre Canton-s.							

Promedio total de moscas con alteraciones en ojo que acuden a estímulos luminosos

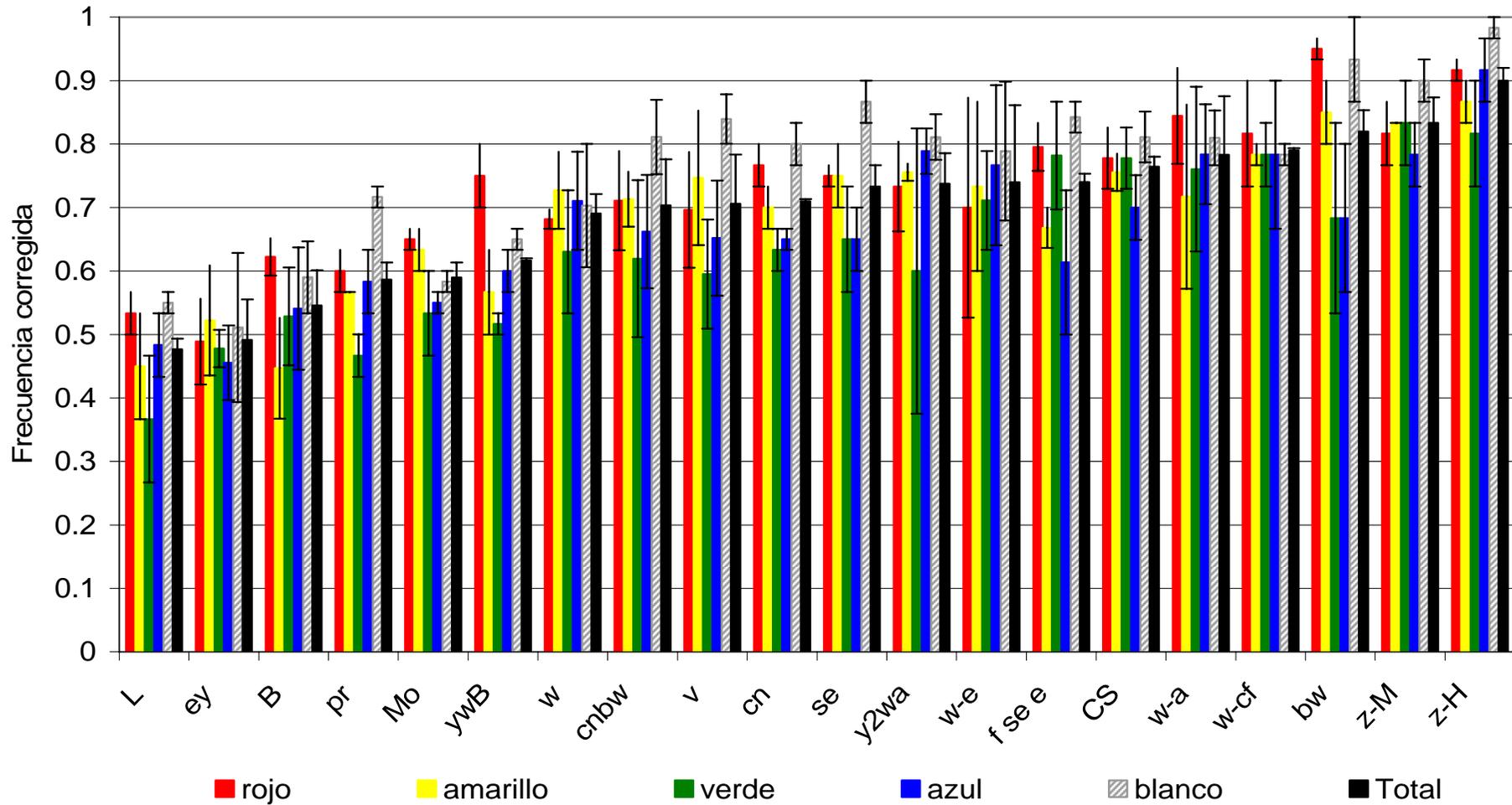


Figura 13. Respuesta de cepas con mutaciones en forma y tamaño de ojo ante diversos estímulos luminosos. Cepas significativamente distintas en su respuesta (ANOVA-Bonferroni  $p < 0.05$ ): Lobe (L), eyeless (ey), Bar (B).

Promedio total de moscas con alteracion en ala que acuden a estímulos luminosos

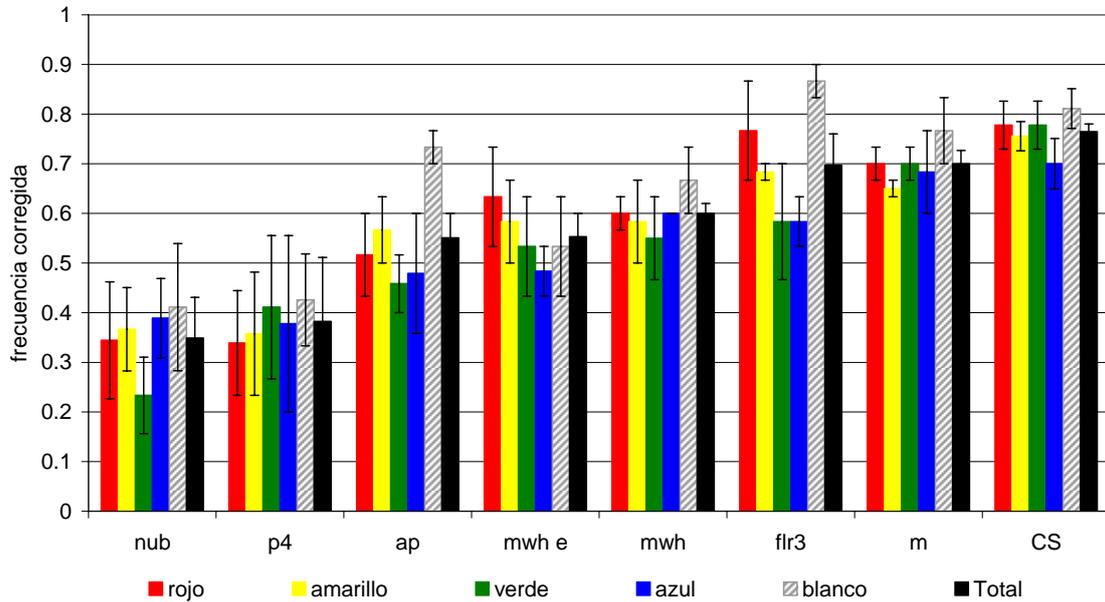


Figura 14. Respuesta de cepas con mutaciones en ala ante estímulos luminosos. Cepas significativamente distintas en su respuesta (ANOVA-Bonferroni  $p < 0.05$ ): nubbin (*nub*), *p4* (*p4*), *aptera* (*ap*).

Promedio total de moscas con alteraciones en cuerpo que acuden a estímulos luminosos.

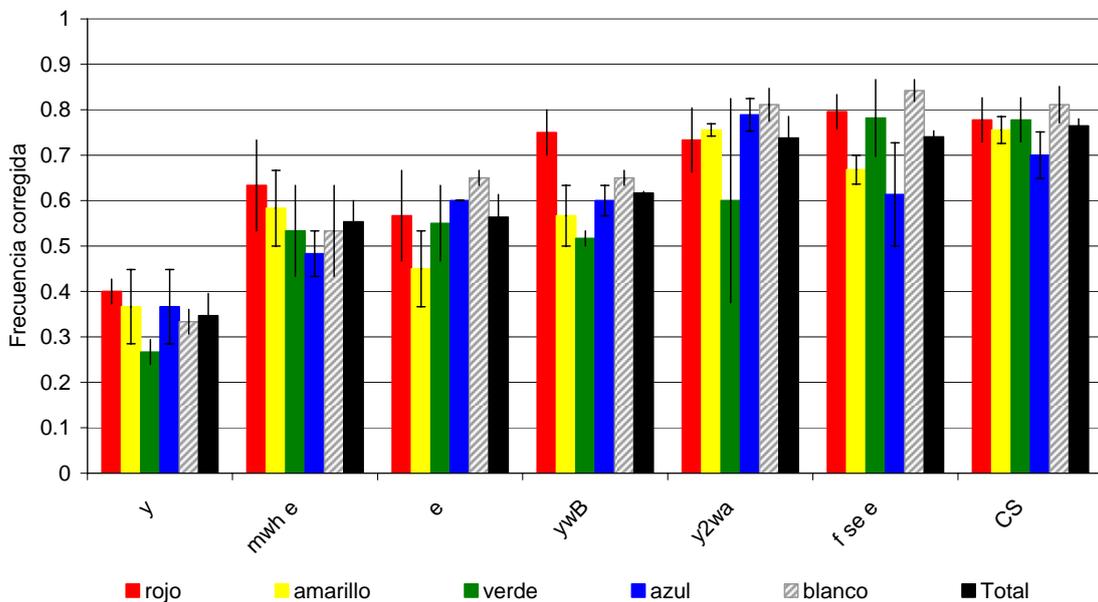


Figura 15. Respuesta de cepas con mutaciones en cuerpo ante estímulos luminosos. Cepas significativamente distintas en su respuesta (ANOVA-Bonferroni  $p < 0.05$ ): yellow (*y*), *ebony* (*e*), *multiple wing hairs-ebony* (*mwh,e*).

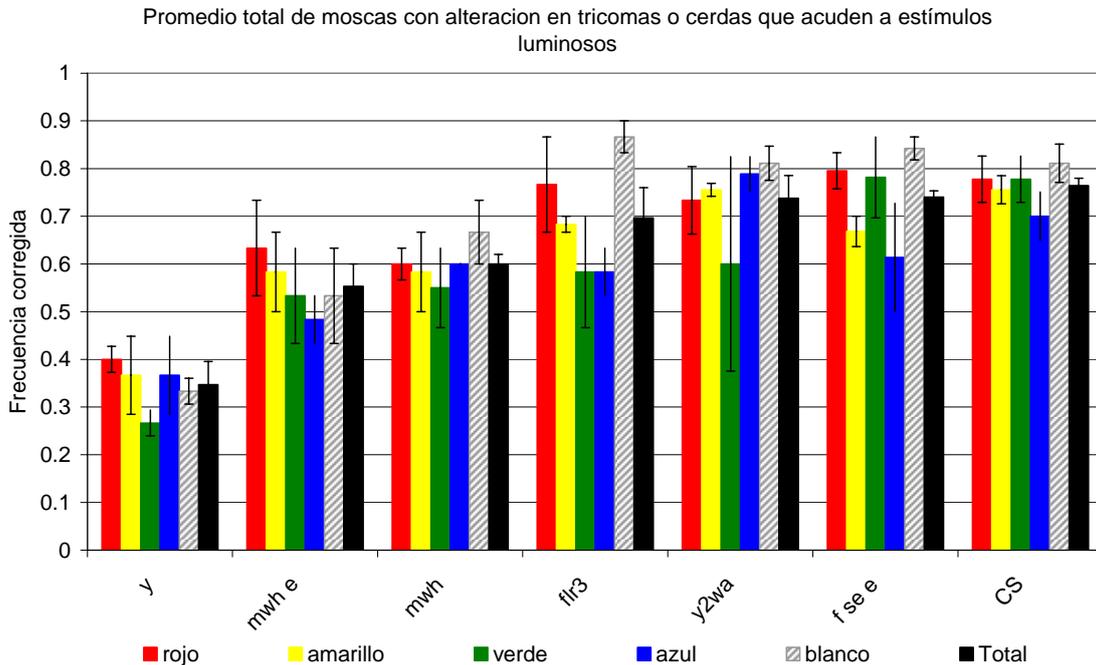


Figura 16. Respuesta de cepas con mutaciones en tricomas ante estímulos luminosos. Cepas significativamente distintas en su respuesta (ANOVA-Bonferroni  $p < 0.05$ ): multiple wing hairs-ebony (*mwh,e*), yellow (*y*).

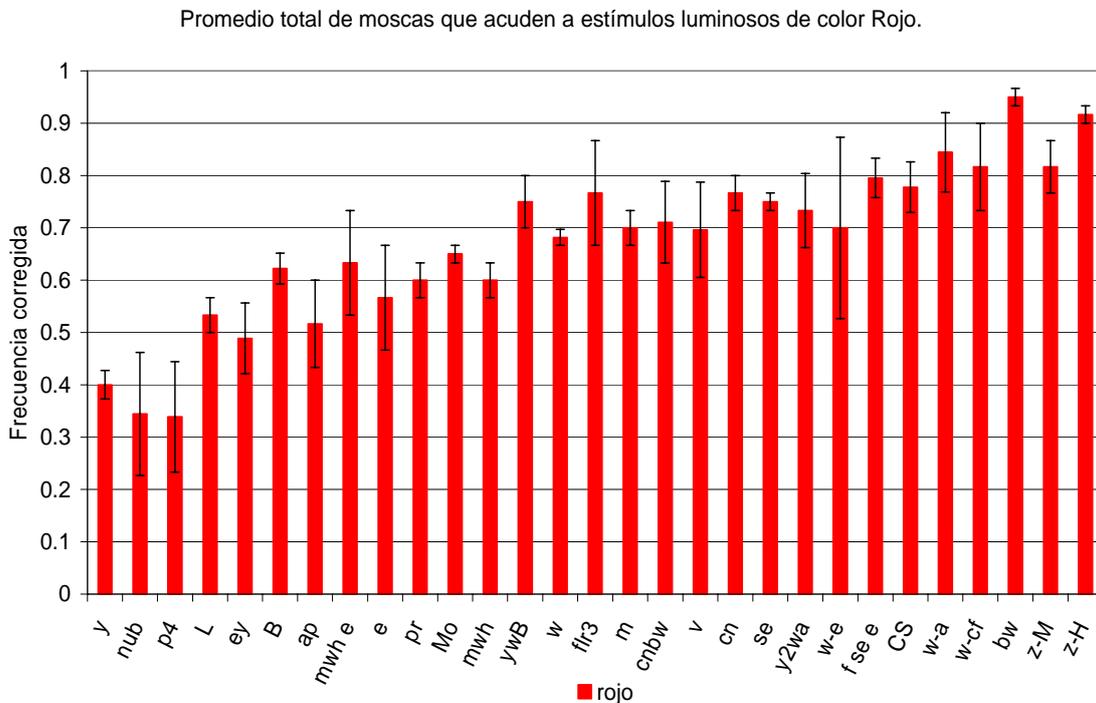


Figura 17. Gráfica mostrando el promedio  $\pm$  error estándar de moscas que acuden al estímulo rojo, todas las cepas. Diferencias significativas en cepas yellow (*y*), nubbin (*nub*), *p4* (*p4*), Lobe (*L*), eyeless (*ey*), aptera (*ap*) y ebony (*e*) con respecto a la cepa Canton-s.

## Selección de moscas silvestres con fototaxis al color rojo.

Para la cepa silvestre *Canton-s* al aplicar selección, se obtuvieron las distribuciones del número de respuestas fototácticas de cada población a lo largo de las generaciones, la representación gráfica en cada generación se presenta en forma de histograma a partir de la generación  $F_6$  (Figura 20). De los datos poblacionales registrados se obtuvo el promedio de respuesta para cada población en cada generación, los cuales se muestran en la Tabla III. Para analizar la respuesta a la selección, se obtuvieron promedios generales de respuesta en cada generación; uno para las poblaciones negativas, uno para las poblaciones neutras o sin selección y un último para las poblaciones positivas, estos datos se obtuvieron al promediar la respuesta promedio de poblaciones en una generación (Tabla IV y Figura 19).

En la generación  $F_{10}$  se encontraron diferencias significativas (ANOVA-Kruskal Wallis  $p < 0.01$ ) en el promedio total de la respuesta fototáctica para las poblaciones negativas y positivas con respecto al testigo población neutra o sin selección (Figura 18).

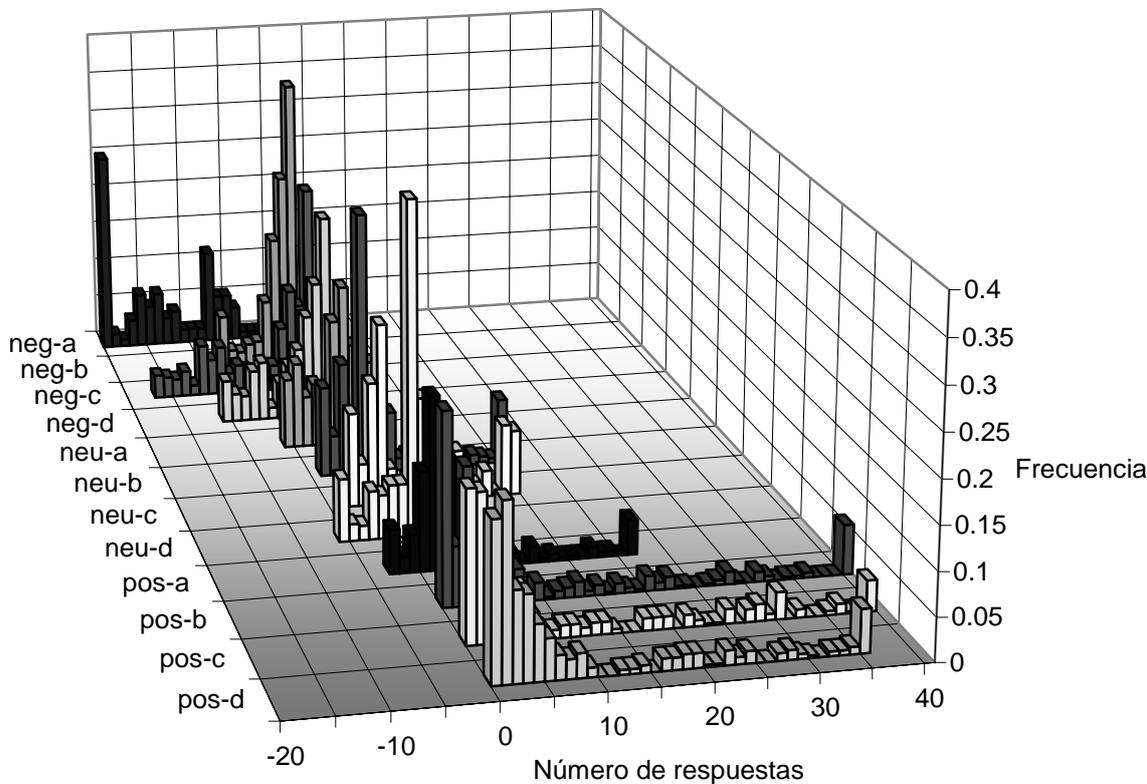


Figura 18. Histograma de respuesta fototáctica de poblaciones en la generación  $F_{10}$ . Diferencias significativas (Kruskal Wallis  $p < 0.01$ ) en poblaciones positivas y negativas con respecto al testigo poblaciones neutras o sin selección.

Se encontraron diferencias significativas (ANOVA-Kruskal Wallis  $p < 0.001$ ) en la respuesta promedio total de las poblaciones negativas comparada con la respuesta promedio de las poblaciones positivas en las generaciones F<sub>6</sub> a F<sub>10</sub> (Tabla IV y Figura 7).

Tabla III. Promedios de la respuesta a la luz roja de cada población en cada generación. Desglosadas por replica.

	neg-a	neg-b	neg-c	neg-d	neu-a	Neu-b	neu-c	neu-d	pos-a	pos-b	pos-c	Pos-d
F <sub>6</sub>	-5.92	-1.63	0.67	-6.61	7.34	---	7.07	5.01	6.09	3.05	11.99	11.87
F <sub>7</sub>	-4.74	-1.47	-2.05	-2.37	4.25	5.12	5.75	---	14.07	15.10	15.27	15.35
F <sub>8</sub>	-5.24	0.61	-2.67	-0.35	---	---	---	---	7.82	5.71	7.78	14.00
F <sub>9</sub>	-3.17	-1.25	-2.99	-2.66	9.26	---	4.15	5.01	4.75	12.25	11.65	4.22
F <sub>10</sub>	-12.33	-1.80	-5.23	-3.41	-1.12	1.64	3.55	0.13	3.48	7.90	8.59	7.32
---												no determinado

Se encontraron diferencias significativas (ANOVA- Kruskal Wallis  $p < 0.05$ ) en las poblaciones negativas comparadas con la población neutra o sin selección en las generaciones F<sub>6</sub>, F<sub>7</sub>, F<sub>9</sub> y F<sub>10</sub> (Tabla IV); también se encontraron diferencias significativas (ANOVA- Kruskal Wallis  $p < 0.05$ ) en las poblaciones positivas comparadas con la población neutra o sin selección en las generaciones F<sub>7</sub> y F<sub>10</sub> (Tabla IV).

Tabla IV. Promedios totales de la respuesta a la luz roja de las poblaciones en varias generaciones.

	N	Promedio total			Desviación estándar			Error estándar			
		Negativo	Neutro	Positivo	Negativo	Neutro	Positivo	Negativo	Neutro	Positivo	
F <sub>6</sub>	2151	-3.38	6.47	8.25	3.4808	1.2694	4.4254	1.7404	0.7329	2.2127	
F <sub>7</sub>	2544	-2.65	5.04	14.95	1.4392	0.7514	0.5958	0.7196	0.4338	0.2979	
F <sub>8</sub>	2506	-1.91	----	8.83	2.6099	----	3.5854	1.3049	----	1.7927	
F <sub>9</sub>	3425	-2.52	6.14	8.22	0.8702	2.7371	4.3217	0.4351	1.5803	2.1608	
F <sub>10</sub>	3864	-5.69	1.05	6.82	4.6399	2.0114	2.2874	2.3199	1.0057	1.1437	
Total de individuos utilizados 14,490								----			no determinado

*Promedios de promedios de las poblaciones seleccionadas a través de varias generaciones. Diferencias significativas (ANOVA-Kruskal Wallis  $p < 0.001$ ) en negativo vs positivo en todas las generaciones. Números en rojo muestran diferencias significativas (ANOVA-Kruskal Wallis  $p < 0.05$ ) en poblaciones comparadas con población neutra.*

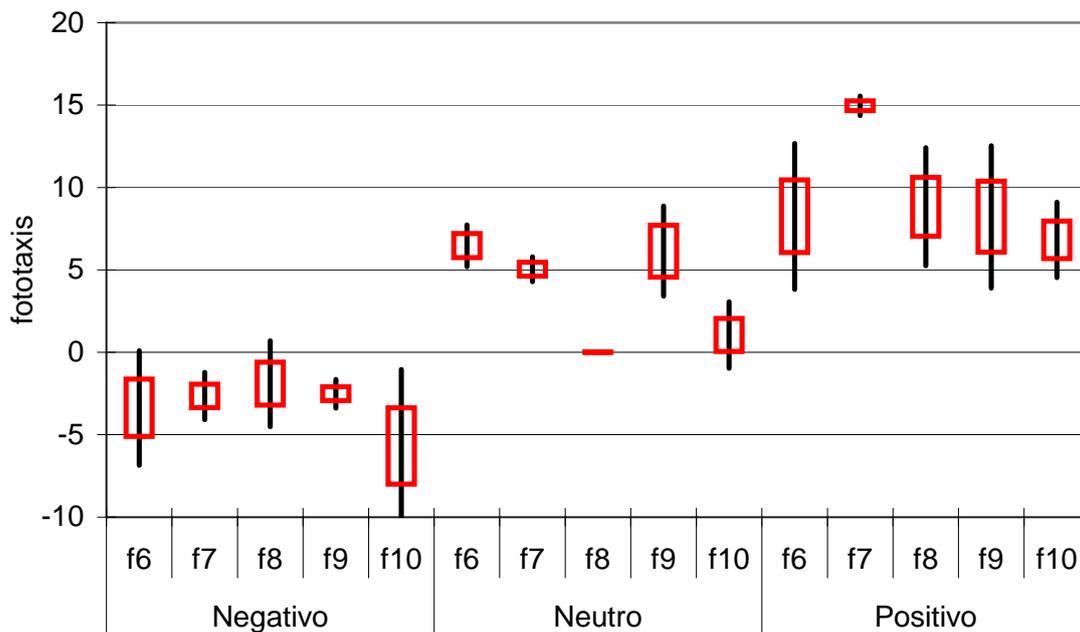


Figura 19. Diagrama de caja y bigote mostrando la respuesta de las poblaciones seleccionadas (caja 1 error estándar, bigotes 1 desviación estándar). Diferencias significativas (Kruskal Wallis  $p < 0.05$ ) entre poblaciones positivas y negativas en todas las generaciones.

La respuesta de las poblaciones negativas siempre fué menor que las poblaciones no seleccionadas o neutras, mientras que la respuesta de las poblaciones positivas en todas las generaciones fue ligeramente superior a las poblaciones neutras, excepto en las generaciones  $F_7$  y  $F_{10}$  en donde sí existen diferencias significativas. Se observó también que la respuesta fototáctica de las poblaciones en cada generación se hizo más evidente en los extremos de las poblaciones, en cada generación se obtuvieron categorías en los histogramas que no se recuperaban en el testigo, teniendo respuestas cada vez más extremas tanto para las poblaciones positivas como para las negativas; sin embargo en todas las poblaciones hubo una tendencia general de un gran número de moscas a responder pocas veces al estímulo luminoso, esto se puede observar en los histogramas de las poblaciones a través del tiempo (Figura 20).

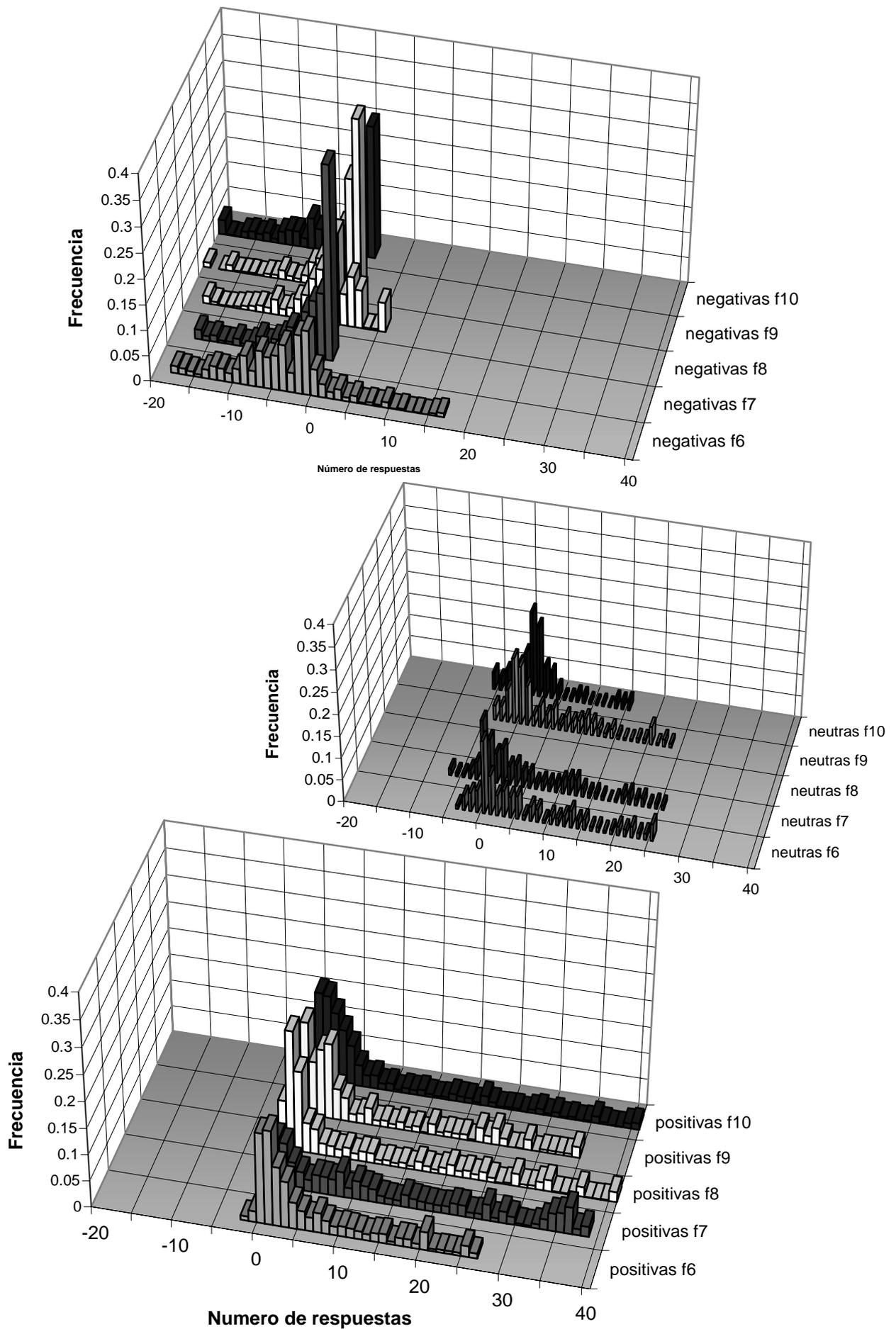


Figura 20. Histogramas de la respuesta fototáctica al rojo de las poblaciones por réplica a través de las generaciones F6 a F10 para cada selección.

## Cruzas de poblaciones seleccionadas

Después de tres generaciones en donde no se aplicó selección, se realizaron por triplicado diferentes cruzas con moscas provenientes de la selección pos, neu y neg), se obtuvieron los histogramas de respuesta poblacional y los datos poblacionales con el mismo método utilizado en selección (Tabla V, Figura 21 y Figura 22).

Tabla V. Datos poblacionales de las cruzas de moscas seleccionadas, desglosadas por experimento.

			Experimento 1		Experimento 2		Experimento 3		Promedio de experimentos		
	N	total individuos	Promedio	Desviación Estándar	Promedio	Desviación Estándar	Promedio	Desviación Estándar	Promedio	Desviación Estándar	Error Estándar
pos x pos	3	679	8.39	30.64	4.65	21.42	5.63	27.41	6.22	1.94	1.12
pos x neu	3	767	1.01	14.63	2.81	16.32	4.60	22.70	2.81	1.80	1.04
pos x neg	3	736	-0.08	17.20	4.33	20.56	3.05	18.19	2.43	2.27	1.31
neu x pos	3	892	6.55	23.31	4.90	22.68	2.51	17.28	4.65	2.04	1.18
neu x neu	3	835	2.16	16.40	4.18	20.44	6.69	26.48	4.35	2.27	1.31
neu x neg	2	516			5.14	25.94	-0.46	15.60	2.34	3.96	2.29
neg x pos	3	837	1.27	13.52	3.84	21.74	-1.23	21.26	1.29	2.54	1.46
neg x neu	3	837	0.31	10.52	1.27	14.62	-1.74	16.77	-0.05	1.54	0.89
neg x neg	3	889	0.47	14.08	0.45	17.32	1.37	17.46	0.76	0.52	0.30
total de individuos		6988									

Al comparar los promedios de las cruzas por medio de varios ANOVA de una vía se encontró que el factor Cruza modifica la respuesta obtenida, más no así para el factor Experimento, por lo que existe una relación entre la respuesta de la progenie y el tipo de cepa seleccionada del progenitor.

No se encontraron diferencias significativas (ANOVA- Tukey  $p > 0.05$ ) en el promedio total de las poblaciones, comparadas entre sí.

Diagrama Caja y Bigote para Cruzas de poblaciones

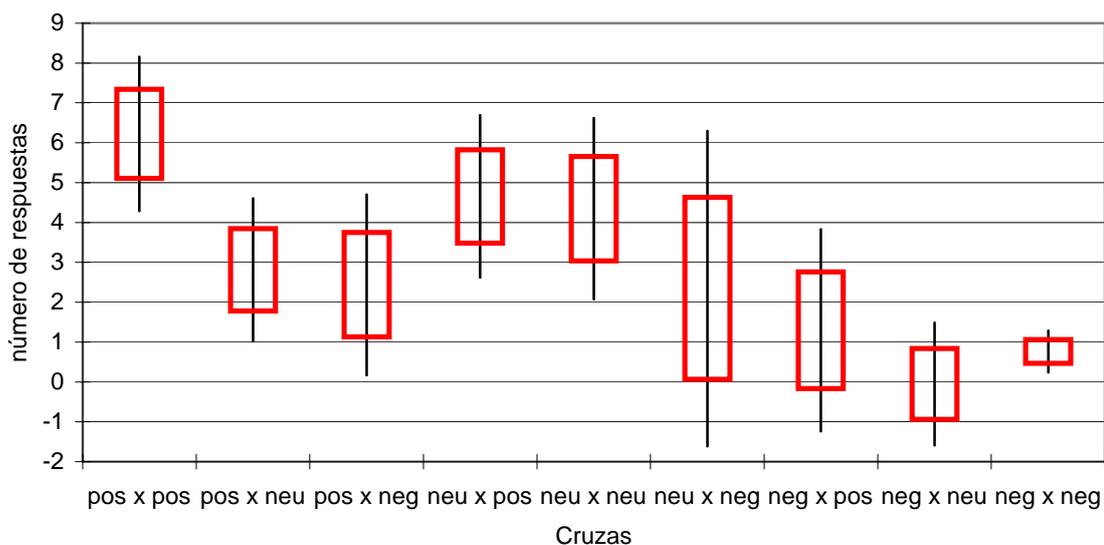


Figura 21.- Gráfica de caja y bigote para cruzas de los experimentos 1,2 y 3 (promedio de promedios). Se pueden observar diferencias entre los promedios de cada una de las cruzas, diferencias entre las cruzas recíprocas y menor respuesta de las cruzas donde se utilizaron hembras negativas (últimas tres cruzas).

Histograma de fototaxia de cruzas . Suma de experimentos 1 , 2 y 3

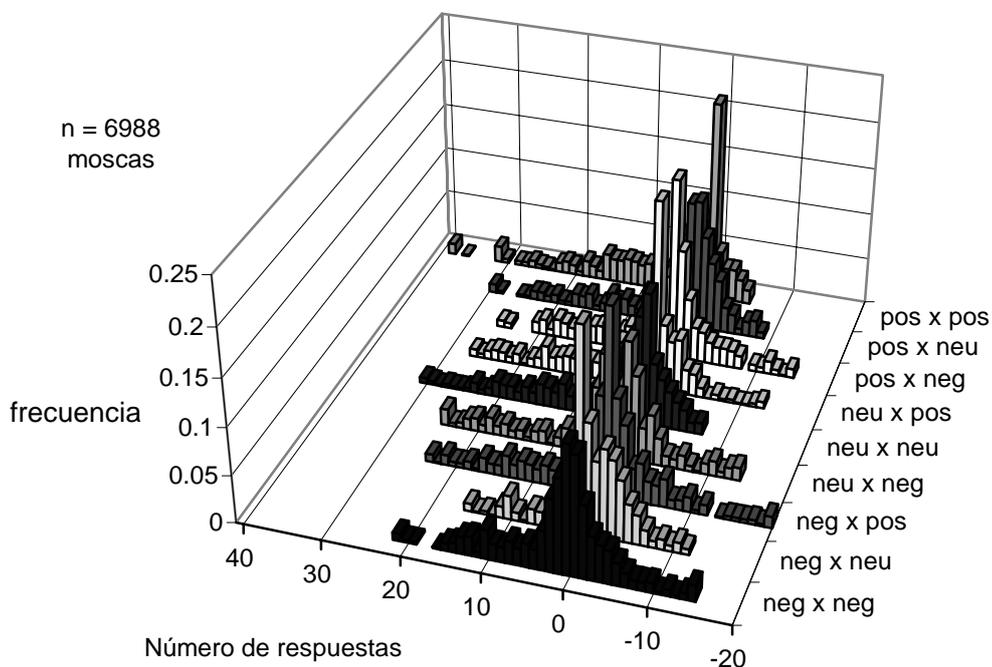


Figura 22. Histogramas de fototaxia de cruzas sumando las frecuencias de cada uno de los experimentos. Cualitativamente se puede apreciar que la respuesta a la luz de la descendencia de cada cruz tuvo una diferente distribución.

Adicionalmente, al sumar las frecuencias de los tres experimentos se obtuvieron las medianas de cada cruce y una mediana general, las cuales se utilizaron para analizar los datos obtenidos a través de varios análisis de medianas por medio de tablas de contingencia, estos datos se muestran en la Tabla VI.

Tabla VI. Datos de medianas de poblaciones provenientes de cruces. Suma de poblaciones.

	pos x pos 1	pos x neu 2	pos x neg 3	neu x pos 4	neu x neu 5	neu x neg 6	neg x pos 7	neg x neu 8	neg x neg 9	Suma general
mediana	2	1	1	2	2	1	0	0	0	1
Valores sobre mediana general	257	358	286	240	312	226	514	474	496	3163
Igual a mediana	59	105	142	180	96	39	88	178	88	975
Valores debajo a mediana general	363	304	308	472	427	251	235	185	305	2850
total individuos	679	767	736	892	835	516	837	837	889	6988

Suponiendo que las características seleccionadas no sean heredables, las poblacionales de las cruces tenderían a ser iguales; por medio de una prueba de mediana aplicada los datos de todas las cruces de los tres experimentos, se encontró que existen diferencias significativas ( $p < 0.005$ ) entre las poblaciones.

Se encontraron diferencias significativas (Análisis de medianas y tablas de contingencia  $p < 0.05$ ) entre los datos sumados de los histogramas de fototaxia para las cruces recíprocas de todas las cruces experimentales, por lo que existe suficiente evidencia para suponer que las medianas poblacionales de las cruces recíprocas son diferentes, posiblemente por un efecto de sexo del progenitor.

Se encontraron diferencias significativas (análisis de mediana  $p < 0.05$  y tablas contingencia  $2 \times 2$ ) en las medianas de las distribuciones de las moscas hembra y la mediana de los machos provenientes de una misma cruce. Estas diferencias en las medianas poblacionales de los sexos se encontraron para todas las cruces experimentales, excepto la cruce de moscas sin selección (figura 23).

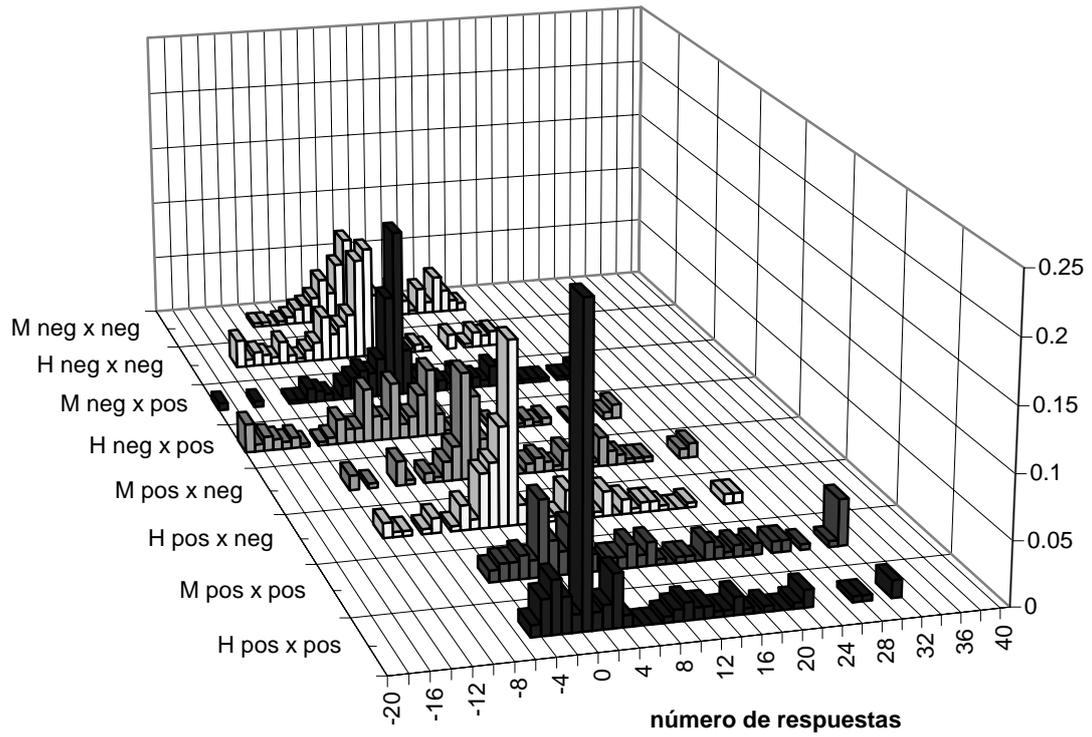


Figura 23. Gráfica donde se muestra los histogramas de algunas de las cruza del experimento 3, desglosado por sexos. Cualitativamente se pueden observar diferencias entre la respuesta de los machos y la respuesta de las hembras de una misma cruz, también se observan diferencias entre el mismo sexo comparado con su cruza reciproca.

## Metodología de Tubo Negro

Para analizar la respuesta fototáctica de las cepas seleccionadas con respecto a las cepas mutantes, se obtuvieron los datos de la proporción (0 = ninguna mosca, 1 = todas las moscas) de moscas que pasaban al tubo iluminado en cada repetición. Se promediaron los resultados obtenidos en las tres repeticiones del mismo día y después se obtuvo un promedio total de respuesta al promediar los promedios de los tres días (Tabla VII).

Tabla VII. Respuestas promedio de cepas seleccionadas y mutantes que pasan al tubo iluminado.

Cepa	N	Número de Individuos	Promedio de día			Total		
			1	2	3	Promedio total	Desviación estándar	Error estándar
nub	9	57	0.02	0.02	0.06	0.03	0.024	0.014
CS neg	9	60	0.08	0.03	0.05	0.06	0.025	0.015
M	9	49	0.11	0.09	0.30	0.17	0.120	0.069
Y	9	58	0.35	0.53	0.03	0.30	0.250	0.144
Bw	9	60	0.33	0.43	0.27	0.34	0.084	0.048
B	9	58	0.39	0.72	0.03	0.38	0.343	0.198
Cn	9	60	0.62	0.33	0.50	0.48	0.142	0.082
E	9	56	0.83	0.38	0.25	0.49	0.306	0.176
Cnbw	9	59	0.53	0.58	0.46	0.52	0.064	0.037
CS neu	9	54	0.72	0.65	0.43	0.60	0.154	0.089
CS pos	9	61	0.85	0.85	0.86	0.85	0.004	0.002
total de individuos analizados			632					

La cepa silvestre sin selección (*Canton-S* neutra) presentó una respuesta promedio total de 0.60 mostrando un intervalo cerrado de variación en la respuesta.

Se encontraron diferencias significativas (ANOVA,  $p < 0.05$ ) en la respuesta promedio de las cepas ante el estímulo de luz roja.

Existen diferencias significativas (ANOVA –Tukey  $p < 0.05$ ) en el promedio de respuestas para las cepas mutantes *nubbin* (*nub*), *y* (*yellow*) y *m* (*miniature*) y para la cepa seleccionada negativa comparadas con la cepa testigo.

La menor respuesta en la metodología se obtuvo para la cepa mutante *nubbin* (*nub*) lo cual es consistente con la respuesta obtenida en la metodología de fototaxis, por otro lado la cepa seleccionada positiva mostró la mayor respuesta dentro de la metodología (Figura 24).

En general la respuesta de las cepas mutantes al estímulo mantuvo las características que se observaron en la metodología de fototaxis, ya que se pudo ver una relación de la estructura alterada con la respuesta observada:

alteración en ala < alteración cuerpo < alteración en ojo.

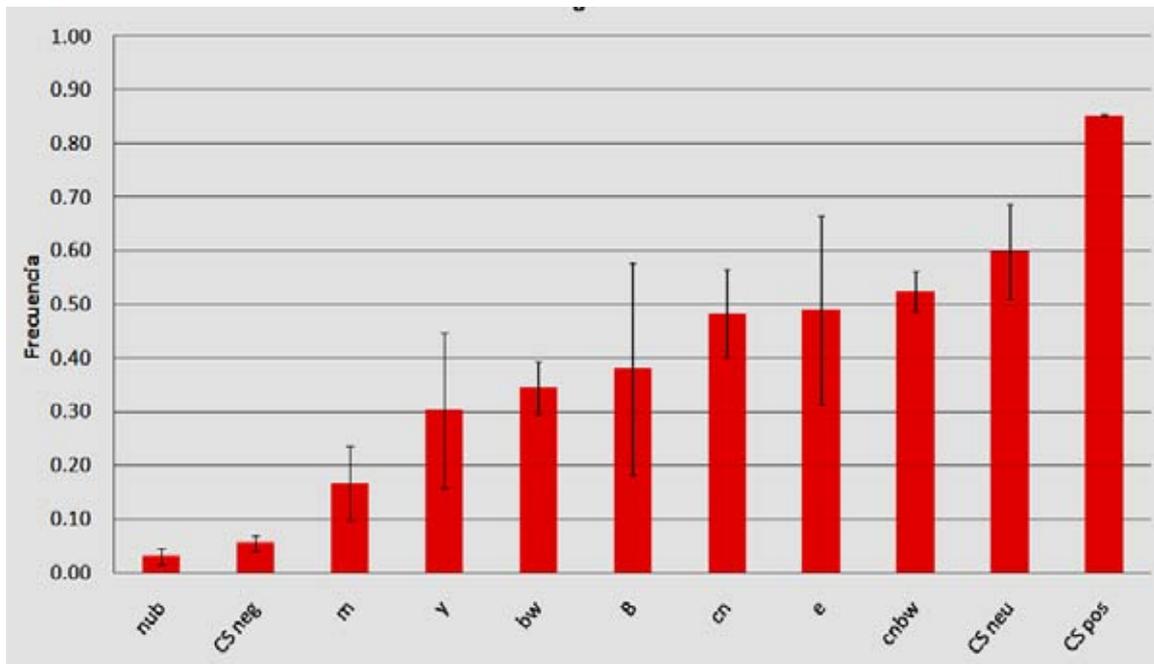


Figura 24. Gráfica de promedio total de respuesta al rojo de las cepas mutantes y seleccionadas para la metodología tubo negro

La respuesta promedio de las poblaciones seleccionadas mostraron diferencias significativas entre sí (Tabla VIII), por lo que hay suficiente evidencia de que la respuesta promedio de las poblaciones seleccionadas es diferente ante el estímulo luminoso rojo. Para las cepas seleccionadas se obtuvo una relación en la respuesta neg < neu < pos, recuperada experimentalmente, resultado congruente también con la metodología de selección y de cruza.

Tabla VIII. Diferencias significativas de la respuesta de cepas mutantes y seleccionadas.

	nub	Y	e	M	B	cn	bw	cnbw	CS pos	CS neu	CS neg
nub			3		2	3	1	3	3	3	
y									3	1	
e									2		3
m						1		2	3	3	
B									3		1
cn									2		3
bw									3		1
cnbw									2		3
CS pos											3
CS neu											3
CS neg											

Diferencias significativas (ANOVA-Tukey) en la respuesta hacia el estímulo de las cepas utilizadas. (1)  $p < 0.05$ , (2)  $p < 0.01$ , (3)  $p < 0.001$ .

## IV DISCUSIÓN

### Fototaxis

Los organismos interactúan con el ambiente por medio de los sentidos, por medio de la vista los organismos obtienen información de su ambiente, la respuesta a estímulos luminosos en los organismos está fuertemente ligada a la capacidad de sus fotorreceptores a excitarse ante la luz. En los ojos compuestos de *D. melanogaster* se han reportado varios fotorreceptores que responden a diversos estímulos luminosos (Bishop, 1974; Stark et. al., 1976; Stark, 1977). Dadas las características de los fotorreceptores, es de esperar que las moscas no se comporten igual ante diferentes estímulos de luz. En experimentos en los que se han alterado de manera selectiva a los fotorreceptores, la respuesta fototáctica y el electroretinograma (ERG) de las moscas resulta modificado (Pak et. al., 1969; Stark, 1977; Hu y Stark, 1978 y 1980; Zuker, 1996). También se ha mostrado que las moscas y muchos otros insectos pueden con su visión, distinguir colores (Stark et. al., 1976; Stark, 1977; Briscoe y Chittka, 2001; Desplan, 2001; Hummel y Klambt, 2006; Earl y Britt, 2006); los resultados observados son consistentes con estos reportes ya que las moscas respondieron de manera diferencial ante los estímulos de colores.

Como todas las mutaciones, los genes utilizados en el estudio han sido descritos con base en la función alterada, sin embargo, para muchas de ellas, sus efectos en aspectos como la conducta, bioquímica y procesamiento de la información en el organismo portador no se conocen o han sido poco estudiados. Los resultados indican que la respuesta fototáctica de algunas cepas mutantes es diferente a la respuesta de la cepa testigo, en mutantes que presentan cuerpo amarillo *yellow* (*y*), ausencia de alas *aptera* (*ap*) y *p4* (*p4*), alas reducidas *nubbin* (*nub*) y moscas donde se reduce el tamaño del ojo *Lobe* (*L*) la respuesta fototáctica registrada es diferente a la de la cepa silvestre. Cabe suponer que un gen puede afectar de varias maneras la respuesta fototáctica; al alterar estructuras, mecanismos de percepción y respuesta, en uno o varios puntos desde que la luz es recibida hasta que se genera un movimiento orientado, por lo que los genes pueden modificar esta conducta en varias escalas. Hu y Stark (1978) reportaron diferencias en ERGs en cuanto a la percepción de luz de moscas mutantes donde se alteran diferentes estructuras del ojo como *w*, *sev*, *rdgB*, *oc*, comparada con la respuesta de la mosca silvestre. Benzer (1967) encontró diferencias en la respuesta conductal de

diferentes cepas mutantes (*e*, *sineocullis*, *tan*, entre otras) en donde la respuesta conductual es diferente a la de las moscas silvestres; analizándolos con una metodología similar a la empleada, en donde se cuenta cuantas veces acuden las moscas al estímulo de luz.

Una de las aproximaciones para revelar un sistema complejo involucrado en conducta es el alterar uno por uno los elementos que lo componen. En los insectos, el ojo compuesto es uno de los órganos relacionados con la visión, de manera que, al ser modificado ultraestructuralmente con la ayuda de mutantes que alteran el tamaño y forma del ojo (*Bar*, *Lobe* y *eyeless*), es posible que este cambio reduzca e incluso desaparezca la capacidad del ojo para captar la luz, generar señales correctas de excitación, entre otras alteraciones (Heisenberg, 1971; Chen y Stark, 1992; Wolf y Ready, 1993). En el presente trabajo se observó que genes que alteran tamaño y forma del ojo modifican negativamente la conducta fototáctica, sin embargo, cuando la alteración por mutación afectó los pigmentos que dan coloración al ojo, el promedio total no mostró diferencias significativas para las diversas cepas mutantes utilizadas aunque sí se observó variación en la respuesta.

Existen diversos reportes en donde los resultados son muy similares a los obtenidos, Benzer (1967) reportó como mutante no fototáctico a *sine oculis* en donde los ojos se encuentran totalmente ausentes, Pak et. al. (1969) no encontraron respuesta eléctrica en el ERG de la cepa mutante *glass (gl)* en donde los ojos están reducidos y tienen las facetas fusionadas y Helfrich-Föföforster et al. (2001) encontraron que, después de la eliminación por pasos de todos los fotorreceptores, la conducta ante la luz se modifica, hasta que la mosca no puede regular la entrada a ciclos circadianos de luz y oscuridad. En estudios en donde se utilizan moscas con alteración en los pigmentos de los ojos (ommocromos y pteridinas), la tendencia general es a que la respuesta se modifique en intensidad y percepción, por ejemplo en mutantes sin pigmentos como *white*, así como en la interacción *cnbw*, el ERG obtenido es similar en forma al de la mosca silvestre, pero presenta un umbral de respuesta menor y un mayor tiempo de acostumbamiento a la luz (Hadorn y Mitchel, 1951; Fingerman 1952; Hengstenberg y Götz 1967 citado en Pak et. al., 1969; Pak et. al., 1969; Heisenberg, 1971; Stark y Wasserman 1974; Stark et.al, 1976).

Dentro de los resultados obtenidos se observó que algunos de los mutantes que afectan la conducta fototáctica no precisamente se relacionan con una alteración directa en lo que podríamos llamar el sistema visual, estos mutantes son: *e* y *y* que modifican el color del cuerpo y *nub*, *p4* y *ap* que afectan el tamaño del ala.

Estos resultados sugieren un posible efecto pleiomórfico de estos genes, afectando la respuesta fototáctica por mecanismos aún desconocidos. Los resultados obtenidos para el mutante con color de cuerpo oscuro *ebony* (*e*) son consistentes con reportes anteriores, en donde se le caracterizó como mutante no fototáctico sin razón aparente (Benzer 1967); más adelante al revisar la anatomía del aparente ojo silvestre se encontró que existe una anomalía morfológica en la lamina del ojo compuesto que modifica la generación y transmisión de señales eléctricas (efecto pleiomórfico), posible razón por la cual su ERG y fototaxia son anormales (Hotta y Benzer, 1969). No todas las anomalías en mutantes de color de cuerpo están asociadas con defectos en ERG, para los mutantes *black*, *blond*, *silver* con color de cuerpo oscuro e incluso para *yellow* y *yellow*<sup>2</sup> con alteraciones de color de cuerpo opuestas a *ebony* se conoce que tienen un ERG normal (Hotta y Benzer, 1969), no obstante se han observado que existen cambios conductuales para el mutante *yellow* en relación a su aleteo y conducta sexual (Bastock y Manning, 1959; Cobb, 2007) y diferencias metabólicas (Wittkopp et. al., 2002), es probable que la respuesta fototáctica claramente menor de esta cepa mutante se encuentre ligada a una alteración en el sistema motor ya que presentó poca actividad durante el estudio. Cabe destacar que aún en el presente se siguen estudiando y descubriendo diferentes alteraciones y efectos que tiene el primer mutante conductual reportado *yellow* en la mosca.

Las alas y las ventajas adaptativas que ellas proveen han permitido a los insectos convertirse en uno de los grupos más exitosos en la tierra, la diversidad de patrones de formas, tamaños y colores es un reflejo directo del importante papel que las alas han tenido en la radiación de los insectos (Roff 1986; Gillespie y Walter, 2001; Parchem et al., 2007). Además de ser la base para el vuelo, las alas están relacionadas con otras conductas en los insectos, como en el cortejo de *D. melanogaster* (Bastock, 1959) en donde el aleteo es muy importante para la elección de pareja.

La fototaxia es profundamente afectada por la condición de las alas de las moscas, aunque la respuesta, en un tubo cerrado, involucre más el caminar que el volar (Benzer, 1967). Para las cepas con alteraciones en ala se observó que la reducción en el tamaño

del ala modificó negativamente la respuesta, mutantes en donde la mayor parte del ala es afectada mostraron poca fototaxis y en *miniature* donde la superficie del ala es reducida en menor medida se modificó la respuesta aunque no alcanzó el nivel de significancia. Además, en moscas silvestres *Canton-s*, donde las alas fueron removidas quirúrgicamente, se observó muy poca fototaxis (datos no mostrados). Benzer (1967) reportó que la eliminación del ala por cirugía o por mutación reduce en gran medida la fototaxis, lo cual es consistente con los resultados obtenidos. Aunque no se ha establecido una explicación satisfactoria de cómo el ala está relacionada con la fototaxis, no se encontraron otros registros en donde se estudie directamente este fenómeno.

Algunas de las posibles explicaciones del fenómeno son:

- (1) Posibles efectos pleiotrópicos de los genes que afectan el ala. Se sabe que genes como *miniature* y *Notch* afectan el desarrollo del ojo en cierta medida (Wolf y Ready, 1993; Baena- Lopez et al., 2005); sin embargo, los ERG permanecen sin cambio y esto no explicaría el hecho que las moscas sin alteración genética y alas afectadas presentan baja fototaxis.
- (2) Que las alas jueguen un papel importante para el sistema motor. Esto implicaría que las alas controlaran o regularan de alguna manera el movimiento de las patas de las moscas, ya que el movimiento fototáctico observado implica más el caminar que el volar.
- (3) Que probablemente las alas tengan un papel en la cascada de respuesta fototáctica. Es decir, que sin regular directamente el movimiento de las patas, la señal de respuesta fototáctica esté mediada de alguna manera por el ala, al faltar este paso se modificaría la respuesta fototáctica (Figura 25). Newby et al. (1991) reportan anomalías en la entrada y regulación de ciclos circadianos de luz y oscuridad en moscas portadoras de diversos alelos del gen *dy* (*dusky*) que afecta a las alas.

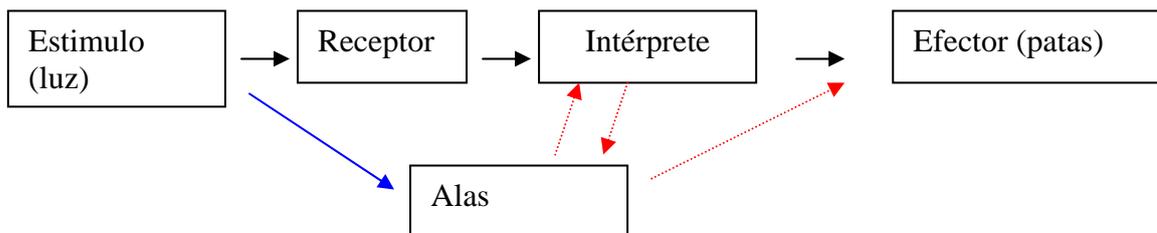


Figura 25. Posibles relaciones del ala con la respuesta fototáctica observada.

Respecto a las cepas doble o triple mutante, se encontró que las interacciones de los genes pueden modificar la respuesta fototáctica de diferente manera. Básicamente, la modificación se puede dar de tres formas, una en la que la respuesta de la cepa doble mutante es menor a los mutantes sencillos y otra en donde la respuesta de la mosca doble o triple mutante se puede encontrar intermedia comparada con los mutantes simples y una última en donde la interacción tiene mayor respuesta. En general se esperaba que las interacciones ayudaran a esclarecer la respuesta fototáctica de cepas con y sin alteraciones en el ojo, sin embargo las infinitas posibilidades en las que se pueden combinar mutaciones en la mosca de la fruta, la falta de datos de fototaxia de algunas cepas como *yellow*<sup>2</sup> y *forket* y el poco conocimiento de cómo los genes interactúan, no permitieron establecer una respuesta clara con los resultados obtenidos. No obstante, al parecer en las interacciones *mwh,e* y *cnbw* la respuesta obtenida fue menor que en los mutantes simples, donde cada gen aparenta tener un efecto negativo aditivo, los genes que afectan pigmentos de los ojos como *w*, *se* y *w<sup>e</sup>* al parecer pueden modificar positivamente la respuesta de cepas con baja fototaxis posiblemente alterando los umbrales de respuesta en el ojo (Fingerman, 1952; Heisenberg, 1971; Zuker, 1996). Existen varios reportes donde se observan interacciones de genes que afectan tanto positiva como negativamente a la mosca, al modificar diferentes elementos relacionados con la percepción y respuesta a estímulos luminosos (Stark et al., 1976; Hu et al., 1978; Hu y Stark, 1980; Helfrich-Föforster et. al., 2001).

Los insectos poseen diferentes espectros de sensibilidad a la luz, siendo éstos diferentes entre orden, clase, familia y especie. Inclusive se conoce que hay variación entre la percepción dentro de los sexos, en algunos insectos como mariposas se ha caracterizado la percepción por fotorreceptores al color rojo (Briscoe y Chittka, 2001; Stavenga y Arikawa, 2006). En el presente trabajo se encontró que las moscas presentan una respuesta fototáctica al color rojo, además se encontró que esta respuesta no es significativamente diferente a la respuesta a otros estímulos luminosos, lo que indicaría que presentan un mecanismo de respuesta similar para este color. Los resultados obtenidos difieren con diversas investigaciones que se han realizado para determinar los espectros de sensibilidad a ondas electromagnéticas en *D. melanogaster* (Stark, 1977; Bernard y Stavenga, 1979; Briscoe y Chittka, 2001) en los que no se reportaron

receptores específicos para esta longitud de onda, sin embargo, es importante destacar que estas determinaciones están basadas en resultados de técnicas no conductuales como espectrofotometría y electroretinogramas, en donde se analizan sustancias y grupos de células del ojo respectivamente; mientras que al analizar la fototaxis se tiene un registro de respuesta de todo el organismo. No existen reportes en donde se analice la respuesta conductual de la mosca a longitudes mayores de 500nm.

Estos resultados aparentemente contrapuestos podrían reconciliarse con la idea de que la percepción a los estímulos de luz (incluido el rojo) podría no encontrarse únicamente en el ojo compuesto. En *D. melanogaster* se conocen, aparte del ojo compuesto, otras estructuras involucradas en la percepción de ondas electromagnéticas (Emery et. al., 2000; Helfrich-Föforster et. al., 2001).

En ocelos se conoce que el fotorreceptor Rh2 (con un pico de sensibilidad alrededor de 440nm) puede responder aunque levemente a longitudes cercanas a 510nm, aunque existen indicios de otro tipo de respuesta, ya que Hu et al. (1978) reportaron que al colocar un electrodo en la región ocelar en moscas sin ocelos, *ocelliless (oc)*, existe una pequeña respuesta eléctrica a estímulos luminosos.

En la mosca, como en otros animales, existen indicios de una posible percepción de la luz por estructuras y moléculas extra-oculares. Hofbauer et. al. (1989) encontraron una estructura con fotorrepción extra-ocular detrás del ojo de la mosca y cerca de los cuerpos hongales, Helfrich y colaboradores (2001) reportan que está involucrada en la regulación y entrada a ciclos circadianos de luz y oscuridad; y que posiblemente tenga algunas otras funciones desconocidas ya que ha sido poco estudiada su relación con estímulos visuales.

En coleópteros, la especie *Melanophila acuminata* posee un mecanismo de percepción extraocular para infrarrojo, encontrándose que existen estructuras en el ala de este escarabajo que funcionan como un mecanorreceptor (más que como fotorreceptor) capaz de responder a longitudes de onda infrarrojas (Vondran et. al., 1995 y Evans, 1966 citados en Nation, 2002). Como ya se discutió anteriormente, es posible que el ala esté involucrada en la percepción de estímulos luminosos, en el caso del escarabajo se puede observar un buen ejemplo de cómo podría funcionar este tipo de percepción.

Existe evidencia de que además de las rodopsinas otras moléculas pueden estar involucradas en la respuesta a estímulos luminosos (Goldsmith, 1965; Kirschfeld et. al., 1977; Phillips y Sayeed, 1993; Emery et. al., 2000; Helfrich-Föforster et. al., 2001). Por ejemplo, se conocen sistemas de percepción extraoculares basados en moléculas

pigmentadoras como la melanopsina (Van Gelder, 2003 y 2007). En ratones, cuando los fotorreceptores (conos y bastones) de los ojos son eliminados ya sea por cirugía o por disección genética, pero mantienen melanopsina en el organismo, se presentan diversas respuestas a luz, mas no así en ratones con ambos sistemas alterados. Se sabe que la presencia de melanopsina está involucrada en esta respuesta, aunque se desconocen las cascadas de señalización y percepción involucradas (Provencio et. al., 1998; Panda et. al., 2003; Hattar et.al., 2003; Van Gelder, 2003 y 2007).

La utilización de diferentes estímulos luminosos en la metodología ayudó a establecer la respuesta de diversas cepas mutantes, en algunas de las cuales no se tenían registros anteriores de fototaxis; en general se esperaba una respuesta diferencial a colores, la cual se recuperó experimentalmente.

En general se esperaba que al utilizar diferentes cepas mutantes se pudiera asociar la respuesta a la luz roja con alguna estructura en particular, sin embargo los resultados obtenidos no presentan alguna respuesta clara y concluyente para este fenómeno por lo que se decidió trabajar en las metodologías siguientes sólo con la respuesta al color rojo de la mosca silvestre *Canton-s*.

## **Metodología de Selección**

Durante la metodología de selección se trabajó en concentrar la respuesta de la cepa silvestre ante el color rojo, básicamente el objetivo fue el poder de obtener cepas con alta y baja fototaxia ante este estímulo, analizándolas por un cambio en el promedio de la población a través del tiempo. Dado que a la fecha no existen reportes de fototaxis de moscas al rojo, no se contaba con una metodología especial para analizar el fenómeno directamente, por lo que se trató de establecer una metodología adecuada para el estudio. Se conjuntaron y modificaron dos metodologías ya establecidas, la primera de Benzer (1967) de Conteo Recurrente basada esencialmente en la capacidad de desglosar la respuesta fototáctica de una población, al contar el número de respuestas fototácticas de las moscas y además, se utilizó el modelo de selección de cepas hacia respuestas extremas opuestas, probado ampliamente en geotaxis por Hirsch & Erlenmeyer-Kimling (1961 y 1962) y Dobzhansky & Spassky (1967 y 1969), entre otros.

Una de las primeras modificaciones que sufre una población al ocupar un nuevo nicho es un cambio en la conducta, este cambio en la conducta del organismo puede estar asociado a la acción de varios genes distribuidos a lo largo del genoma de la mosca,

como se ha visto en la conducta de geotaxis (Hirsh y Erlenmeyer-Kimling, 1961 y 1962; Ricker e Hirsh, 1988; Toma et al., 2002). Existe también evidencia de que la fototaxis como conducta tiene una regulación poligenética: Markow (1975) reportó que al aplicar selección artificial a moscas portadoras de diferentes cromosomas que no recombinan, la fototaxis de la mosca es modificada por genes ubicados en diferentes cromosomas. Dado esto, es posible que la fototaxis al rojo observada en la mosca, tenga una herencia poligenética, la cual puede ser observada indirectamente al someter a las poblaciones a selección.

Durante la metodología de selección se observó que las cepas respondieron a la selección aplicada, los promedios de respuesta de las cepas seleccionadas fueron modificados por selección a través de las generaciones tanto positiva como negativamente. Existe entonces en la población, material genético involucrado en la respuesta fotáctica al estímulo rojo, del cual hasta la fecha no se tenía registro, sin embargo con la metodología utilizada es difícil establecer cuantos genes están involucrados y la ubicación en el genoma de estos.

### **Cruzas de poblaciones seleccionadas**

Se ha observado que en modelos de evolución en donde alguna característica está modificada por varios genes, en general se entiende que los genes aunque puedan ofrecer alguna ventaja al analizar cierto aspecto, también pueden tener un efecto pleiotrópico adverso en otras características aunque no estén relacionadas. Bajo este escenario, una característica que ofrezca un aparente beneficio puede no ser seleccionada e inclusive la selección natural puede actuar en contra de ella; así una característica fijada por selección artificial, puede ser modificada por selección natural (Dudley, 1977; Tanaka, 1998; Otto, 2004). En conductas complejas como la fototaxis al parecer puede existir un efecto de este tipo ya que se observó que después de aplicada la selección a la  $F_{10}$  y tras tres generaciones donde no se aplicó selección, las cepas mostraron una disminución tanto positiva como negativa en el promedio de respuesta. Existen reportes en donde se puede ver este fenómeno al trabajar con conductas complejas como geotaxis y fototaxis en moscas (Pasteur, 1969; Markow, 1975; Ricker e Hirsh, 1988; Anholt, 2004), por lo que los resultados obtenidos concuerdan con los anteriores. Además, la respuesta de las poblaciones positivas se mantuvo por encima de las poblaciones neutras y las poblaciones negativas por debajo; sin embargo, la

selección tuvo un mayor efecto sobre las poblaciones negativas en donde el promedio fue modificado en mayor magnitud comparado con las poblaciones positivas y se observó una tendencia general de las cepas positivas a conservar la respuesta en los primeros tubos de registro.

Después de la selección aplicada se procedió a preparar a las cepas (como se muestra en los métodos) para realizar la metodología de cruzas de poblaciones; mediante éstas cruzas se confirmó que las poblaciones seleccionadas presentan material genético heredable que fué seleccionado, dado que existe una relación entre la respuesta de la progenie con las cruzas de poblaciones seleccionadas.

Adicionalmente se encontró que las cruzas recíprocas mostraban diferencias entre sí, indicando que la respuesta también se modifica por los sexos de los progenitores, en donde alguno de los sexos tiene más peso sobre la respuesta de su progenie, por ejemplo se observó que cuando se cruza hembras negativas la respuesta es superior a la respuesta de las cruzas de machos negativos. Inclusive, al separar la respuesta de la cruce neg x neg, la respuesta de las hembras es más negativa que la de los machos. En varios otros insectos, los receptores de color no se encuentran uniformemente distribuidos, en lepidópteros se ha visto que existen diferencias en percepción de los dos sexos, es decir que entre sexos los espectros de sensibilidad a ondas electromagnéticas son diferentes. Por ejemplo, en las mariposas *Lycaena heteronea* y *Lycaena rubis* se ha observado que hay una diferente distribución, por sexos, de los receptores al color en los ojos; mientras los machos de las dos especies tienen una visión dicromática UV –Azul, las hembras adicionalmente poseen receptores a rojo (Briscoe y Chittka, 2001; Stavenga y Arikawa, 2006). Posiblemente estas diferencias estén asociadas a adaptaciones de los sexos a realizar tareas específicas, como la ovoposición.

## **Metodología de Tubo Negro**

Durante los experimentos se observó que la metodología de conteo recurrente modificada de Benzer (1967), propuesta para seleccionar y analizar la respuesta poblacional de las cepas resultó adecuada, ya que permitió cuantificar la respuesta fototáctica en los diversos experimentos, trabajando con un considerable número de individuos por repetición y separándolos efectivamente por su respuesta al rojo, lo que permitió la selección efectuada, ocupando pocos materiales de fácil acceso y

manutención. Además, en la metodología de cruza se pudo cuantificar por separado la respuesta por sexos sin necesidad de anestesiar previamente a los individuos. A lo largo de la investigación se observó que el tiempo de exposición y respuesta a los estímulos luminosos es crucial para poder cuantificar efectivamente la respuesta de las cepas, ocupándose en fototaxis un tiempo de 10 segundos y en la metodología de conteo recurrente se estableció un tiempo de 20 segundos de estímulos, ambos tiempos se eligieron con base en la respuesta de la cepa silvestre. Sin embargo, también se observó que la respuesta de moscas con color de cuerpo amarillo *yellow* (*y*), o moscas con menor tamaño de alas *miniature* (*m*) y *nubbin* (*nub*) al parecer era mas lenta por lo que se decidió diseñar una última prueba para estos mutantes, con un tiempo mayor (10 minutos) que les permitiera responder adecuadamente; adicionalmente se incluyeron también a las cepas seleccionadas para tener un registro de su respuesta comparada con la de otros mutantes.

Durante la metodología de tubo negro se encontró que en general, la respuesta de las cepas mutantes mantuvo una relación con la respuesta obtenida en la metodología de fototaxis, los mutantes *yellow*, *miniature* y *nubbin* mostraron una respuesta inferior a la cepa silvestre y las cepas seleccionadas una relación de  $neg < neu < pos$ , como en las metodologías anteriores; además la respuesta cepa *neg* se encontró entre la respuesta de *nubbin* y *miniature* con una baja fototaxis como se esperaba. La cepa positiva mostró la mayor de las respuestas en el estudio. Estos resultados indicarían que, aunque posiblemente exista un efecto adverso en la capacidad motora de algunas cepas, existe una menor respuesta a estímulos luminosos en las cepas mutantes. Burnet et al., (1988) analizó la capacidad motora de mutantes y cepas silvestre de moscas, encontrando que la capacidad motora puede ser modificada por varios genes y afectar de manera diferente a cada sexo, por lo que los resultados obtenidos concuerdan con los anteriores. La fototaxia de las cepas es consistente aún variando la metodología y el tiempo de exposición, por otro lado las cepas seleccionadas al compararse con otros mutantes mostraron que la respuesta sí puede ser modificada por selección artificial.

## V CONCLUSIONES

- La mosca del vinagre *Drosophila melanogaster* presenta una visión a colores.
- Las moscas responden de manera diferencial ante los estímulos de luces de colores utilizados.
- Diversos genes que modifican ojo, ala y color del cuerpo tienen un efecto en la respuesta fototáctica de la mosca del vinagre.
- Algunas cepas de moscas presentan una respuesta fototáctica a la luz de color rojo.
- La respuesta fototáctica al color rojo es seleccionable y presenta una base genética heredable.
- Las metodologías utilizadas fueron adecuadas para el estudio de la conducta fototáctica.

### Explorando futuros estudios

- Electroretinogramas de moscas seleccionadas.
- Estudiar los mecanismos de genes pleiotrópicos que afectan la conducta fototáctica de las moscas (*yellow*, *mwh,e*, *aptera*, *nubbin*, entre otros).
- Explorar la relación del ala con la fototaxis y la percepción en moscas.
- Investigar la posible percepción extraocular de ondas electromagnéticas en la mosca, empezando con estructuras como ala ó en relación a moléculas pigmentadas como melanopsinas.
- Continuar la selección a estímulo rojo, además de recorrer el estímulo a longitudes de onda mayores, así como la obtención de cepas puras.
- Investigar los cambios en las frecuencias alélicas de cepas seleccionadas, comparando las cepas positivas y negativas.
- Búsqueda de los genes que están involucrados en la respuesta fototáctica a la luz roja, utilizando técnicas como Micro-arreglos.

## VI BIBLIOGRAFÍA

- Anholt RR y Mackay TF. (2004). Quantitative genetic analyses of complex behaviours in *Drosophila*. *Nature Review Genetics*, 5 (11): 838-849.
- Armstrong JD, Texada MJ, Munjaal R, Baker DA, Beckingham KM. (2006). Gravitaxis in *Drosophila melanogaster*: a forward genetic screen. *Genes, Brain and Behavior*, 5: 222–239.
- Baena-Lopez LA, Boanza A, Garcia-Bellido A. (2005). The Orientation of Cell Divisions Determines the Shape of *Drosophila* Organs. *Current Biology*, 15 (18): 1640-1644.
- Barth F. (2004). Spider mechanoreceptors. *Current Opinion in Neurobiology*, 14: 415-422.
- Bastock M, Manning A. (1959). The courtship of *Drosophila melanogaster*. *Behaviour* 8: 85-111.
- Benzer S. (1967). Behavioral mutants of *Drosophila* isolated by countercurrent distribution. *Proceedings of the National Academy of Science U.S.A.* 58: 1112-1119.
- Benzer S. (1971). From Gene to behavior. *Journal of the American Medical Association*. 218 (7): 1015-1022.
- Benzer S. (1991). The 1990 Helmerich lecture The fly and the eye. Helmerich Award from the Retina Research Foundation.
- Bishop LG. (1974). An ultraviolet photoreceptor in a dipteran compound eye. *Journal of comparative Physiology*. 91: 267-275.
- Bowmaker JK. (1991). The evolution of vertebrate visual pigments and photoreceptors. In: **Evolution of the Eye and Visual System** (eds. Cronly-Dillon, J. y Gregory, R.L.), The Macmillan Press Houndsmills, Basingstoke, Hampshire, UK. pp. 63-81.
- Briscoe A y Chittka L. (2001). The evolution of color vision in insects. *Annual Review of Entomology*, 46: 471-510.
- Brodal P. (1992). **The central nervous system, structure and function**. Oxford University Press, New York. pp 113-154.

- Brookfield JFY. (1998). Population and ecological genetics. In: Roberts DB, ***Drosophila, A practical approach***. second edition, Oxford University Press. United Kingdom. 241-264 pp.
- Burnet B, Burnet L, Connolly K, Williamson N. (1988). A genetic analysis of locomotor activity in *Drosophila melanogaster*. *Heredity*, 61: 111-119.
- Burnie D. **e.explora insectos**. Editorial Cordillera. London, 2007.
- Carpenter FW. (1905). The reactions of the pomace fly (*Drosophila ampelophila* Loew) to light, gravity and mechanical stimulation. *American Naturalist*. 39: 157–171.
- Caspari E. (1952). Pleotropic gene action. *Evolution*, 6: 1-18.
- Chen DM y Stark W. 1992. Effects on visual receptors in temperature-sensitive paralytic *shibire* (*shi<sup>ts</sup>*) mutants. *Journal of Insect Physiology*. 39 (5): 385-382.
- Cobb M. (2007). A gene mutation which changed animal behavior: Margaret Bastock and the yellow fly. *Animal Behavior*. 74: 163-169.
- Connolly JB y Tully T. (1998). Behavior, Learning and memory. In: Roberts DB, ***Drosophila: A practical approach***. second edition, Oxford University Press. United Kingdom. 265-317.
- Dacey DM y Lee BB. (1999). *Functional architecture of cone signal pathways in the primate retina*. In: Gegenfurtner KR, Sharpe L. (Eds.), **Color vision**. Cambridge University Press. United Kingdom. (1999). pp. 181-202.
- Desplan C. (2001). Color and polarized light vision: The *Drosophila* retinal mosaic. New York University Press. Web: [http://silverdialogues.fas.nyu.edu/docs/CP/296/Desplan\\_Silver\\_Essay.pdf](http://silverdialogues.fas.nyu.edu/docs/CP/296/Desplan_Silver_Essay.pdf)
- Díaz S, Aguilar A, Cintra L. (1995). Los receptores sensoriales. En: Meza G. (Edt): **Neurobiología de los sistemas sensoriales**. Editorial UNAM, México. pp 3-24.
- Dobzhansky T y Sparsky B. (1967). Effects of Selection and Migration on Geotactic and Phototactic Behaviour of *Drosophila*.I. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B*, 168 (7): 27-47.
- Dobzhansky T y Sparsky B. (1969). Artificial and natural selection for two behavioral traits in *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*, 62: 75-80.
- Dobzhansky T, Judson C, Pavlovsky O. (1974). Behavior in different environments of populations of *Drosophila pseudoobscura* selected for phototaxis and geotaxis. *Proceedings of the National Academy of Science U.S.A.* 71 (5): 1974-1976.

- Dudley JW. (1977). 76 generations of selection for oil and protein percentage in maize. pp. 459-473. In: Proceedings of International Conference of Quantitative Genetics, edited by E. Pollak, O. Kempthorne, and T.B. Bailey, Iowa State University, Ames, Iowa, USA. Citado en: Tanaka Y. 1988. A pleiotropic model of phenotypic evolution. *Genetica*, 102/103: 535-543.
- Earl J y Britt S. (2006). Expression of *Drosophila* rhodopsins during photoreceptor cell differentiation: Insights into R7 and R8 cell subtype commitment. *Gene Expression Patterns*, 6: 687-694.
- Emery P, Stanewsky R, Hall J, Rosbash M. (2000). *Drosophila* cryptochromes: A unique circadian rhythm photoreceptor. *Nature*, 404: 456-457.
- Evans WG. (1966). Perception of infrared radiation from forest fires by *Melanophila acuminata* De geer (Buprestidae, Coleoptera). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 59: 873-877 Citado en : Nation J. (2002). **Insect physiology and biochemistry**. CRC Press, Florida, USA, 2002. pp 267-300.
- Fact-Archive. Encyclopedia of Fact-Archive. 2007. Consultado en : <http://www.fact-archive.com/>
- Feiler R, Bjornson R, Krischfeld K, Mismar D, Rubin G, Smith D, Socolich M, Zuker C. (1992). Ectopic expression of Ultraviolet-Rhodopsin in the blue photoreceptor cells of *Drosophila*: Visual physiology and photochemistry of transgenic animals. *Journal of Neuroscience*, 12 (10): 3862-3868.
- Fingerman, M. (1952). The role of eye pigment of *D. melanogaster* in photic orientation. *Journal of Experimental Zoology*. 120: 131-164.
- Frankel R y Bazylinsky A. (2006). How magnetotactic bacteria make magnetosomes queue up. *Trends in Microbiology*, 14: 329-331.
- Gillespie PG, Walker RG. (2001). Molecular basis of mechanosensory. *Nature*, 413: 194-202.
- Goldsmith TH. (1965). Do flies have a red receptor?. *The journal of General Physiology*. 49: 265-287.
- Gouras P. (2007). Colour vision. In *Encyclopedia of Life Sciences* 2007.
- Greenspan RJ y Dierick HA. (2004). 'Am not I a fly like thee?' From genes in fruit flies to behavior in humans. *Human Molecular Genetics*, 13: 267-273

- Hadorn E y Mitchell HK. (1951). Properties of mutants of *Drosophila melanogaster* and changes during development as revealed paper chromatography. Proceedings of the National Academy of Science, 37: 650-664.
- Hallem EA, Dahanukar A, Carlson JR. (2006). Insect odor and taste receptors. Annual Review in Entomology. 51: 113-135.
- Hattar S, Lucas RJ, Mrosovsky N, Thompson S, Douglas RH, Hankins MW, Lem J, Biel M, Hofmann F, Foster RG, Yau KW. (2003). Melanopsin and rod-cone photoreceptive systems account for all major accessory visual functions in mice. Nature. 424 :76-81.
- Heisenberg M. (1971). Separation of receptor and lamina potentials in the electroretinogram of normal and mutant *Drosophila*. Journal of Experimental Biology. 55: 85-100.
- Heisenberg M. (2001). Fly Brains. In: Encyclopedia of Life Sciences, 2001.
- Hengstenberg R y Götz KG. (1967). Kybernetik, 3, 276. Citado en : Pak WL, Grossfield J, White NV. (1969). Nonphototactic mutants in a study of vision of *Drosophila*. Nature. 222, 351: 351- 354.
- Helfrich- Föföforster C, Winter C, Hofbauer A, Hall J, Stanewsky R. (2001). The circadian clock of fruit flies is blind after elimination of all known photoreceptor. Neuron, 20: 249-261.
- Hirsch J y Tryon RC. (1956). Mass screening and reliable measurement in the experimental behaviour genetics of lower organisms. Psy. Bull. 53: 402–410.
- Hirsch J. (1959). Studies in experimental behavior genetics II. Individual differences in geotaxis as a function of chromosome variation in synthesized *Drosophila* populations. Journal of Comparative Physiology, 53: 304–308.
- Hirsch J y Erlenmeyer-Kimling, L. (1961). Sign of taxis as a property of the genotype. Science 134: 835–836.
- Hirsch J y Erlenmeyer-Kimling, L. (1962). Studies in experimental behavior genetics. IV. Chromosome analyses for geotaxis. Journal of Comparative Physiological Psychology. 55: 732–739.
- Hofbauer A y Buchner E. (1989). Does *Drosophila* have seven eyes? Naturwissenschaften 76:335–336.
- Hogervorst T y Brand R. (1998). Current concepts review. Mechanoreceptors in joint function. The Journal of Bone and Joint Surgery, 80-A: 1365-1378.

- Horridge G. (1977). The compound eyes of insects. *Scientific American*, 237 (1): 108-120.
- Hotta Y y Benzer S. (1969). Abnormal electroretinograms in visual mutants of *Drosophila*. *Nature*, 222: 354-356.
- [http://science.nasa.gov/headlines/y2004/images/cataracts/anatomy\\_med.jpg](http://science.nasa.gov/headlines/y2004/images/cataracts/anatomy_med.jpg).
- Hu K, Reichert H, Stark W. (1978). Electrophysiological Characterization of *Drosophila* Ocelli. *Journal of Comparative Physiology*, 126: 15-25.
- Hu K y Stark W. (1980). The roles of *Drosophila* ocelli and compound eyes in phototaxis. *Journal of Comparative Physiology*, 135: 85-95.
- Hummel T y Klämbt C. (2006). Eye development: Random precision in color vision. *Current Biology*, 16 (10): R361-R363.
- Katsov A y Clandinin TR. (2006). Insect Vision: Remembering the shape of things. *Current Biology*, 16 (10): R369- R371.
- Keller A. (2006). *Drosophila melanogaster's* history as a human commensal. *Current Biology*, 17 (3): R77 - R81.
- Kirschfeld K, Franceschini N, Minke B. (1977). Evidence for a sensitising pigment in fly photoreceptors. *Nature*, 269: 386-390.
- Kirschvink J. (2000). Earthquake prediction by Animals: evolution and sensory perception. *Bulletin of the Seismological Society of America*, 90: 312-323.
- Kirschvink J, Walker M, Diebel C. (2001). Magnetite-based magnetoreception. *Current Opinion in Neurobiology*, 11: 462-467.
- Kremers J, Silveira LC, Yamada ES, Lee BB. (1999). The ecology and evolution of primate color vision. In: Gegenfurtner KR, Sharpe L. (Eds.), **Color vision**. Cambridge University Press. United Kingdom. pp. 123-142.
- Lamb T. (1999). Photopigments and the biophysics of transduction in cone photoreceptors. In: Gegenfurtner KR, Sharpe L. (Eds.), **Color vision**. Cambridge University Press. United Kingdom.. pp. 89-102.
- Landauer W y Dunn S. (1930). The "Frizzle" character of fowls. *Journal of Heredity*, 21: 290-305.
- Lee BB. (1999). Receptor inputs to primate ganglion cells. In: Gegenfurtner KR, Sharpe L. (Eds.), **Color vision**. Cambridge University Press. United Kingdom. pp 203-217.

- Leenie P. (1999). Color coding in the cortex. In: Gegenfurtner KR, Sharpe L. (Eds.), **Color vision**. Cambridge University Press. United Kingdom. (1999). pp.235-248.
- Lindsley DL y Zimm GG. (1992). The genome of *Drosophila melanogaster*. Academic Press, Inc. San Diego, California.
- Litzinger TC y Tsonis K. (2002). Eye Anatomy. In: Encyclopedia of Life Sciences 2002.
- Lloyd V, Ramaswami M, Krämer H. (1998). Not just pretty eyes: *Drosophila* eye-colour mutations and lysosomal delivery. *Trends in Cell Biology*, 8: 257-259.
- Lucchesi, JC. (1968). Synthetic lethality and semi-lethality among functionally related mutants of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 59: 37-44.
- Markow TA. (1975). A genetic analysis of phototactic behavior in *Drosophila melanogaster* I selection in the presence of inversions. *Genetics*, 79: 527-534.
- Meyer-Rochow VB y Gál J. (2004). Dimensional limits for arthropod eyes with superposition optics. *Vision Research*, 44: 2213-2223.
- Montell C. (1999). Visual Transduction in *Drosophila*. *Annual Review in Cell Development Biology*, 15: 231-268.
- Motta D y Lings H. (1986). Motion of magnetotactic microorganisms. *Journal of Experimental Biology*, 121: 153-163.
- Moses K. (2001). *Drosophila* eye: progressive neural development. In *Encyclopedia of Life Sciences 2001*.
- Nash HA, Scott RL, Lear BC, Allada R. (2002). An unusual cation channel mediates photic control of locomotion in *Drosophila*. *Current Biology*, 12: 2152-2158.
- Nash WG. (1971). *Deep orange* and *carnation*: another lethal gene combination in *Drosophila melanogaster*. *Drosophila Information Service*, 47: 73.
- Nathans J. (1999). The evolution and physiology of human color vision: Insights from molecular genetic studies of visual pigments. *Neuron*, 24: 299-312.
- Nation J. (2002). **Insect physiology and biochemistry**. CRC Press, Florida, USA, 2002. pp 267-300.
- Neel JV. (1942). The polymorph mutant of *Drosophila melanogaster*. *American Naturalist*, 76: 630-634.
- Neuser K, Triphan T, Mronz M, Poeck B, Strauss R (2008). Analysis of a spatial orientation memory in *Drosophila*. *Nature*, 453: 1244-1247.

- Newby LM, White L, DiBartolomeis SM, Walker BJ, Dowse HB, Ringo JM, Khuda N, Jackson R. (1991). Mutational analysis of the *Drosophila miniature-dusky (m-dy)* locus: Effects on cell size and circadian rhythms. *Genetics*, 128: 571-582.
- NOAH. (2002). What is albinism?. Bulletin of The National Organization for Albinism and Hypopigmentation.
- Otto SP. (2004). Two steps forward, one step back: the pleiotropic effects of favoured alleles. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 271: 705-714.
- Pak WL, Grossfield J, White NV. (1969). Nonphototactic mutants in a study of vision of *Drosophila*. *Nature*. 222, 351: 351- 354.
- Pak WL. (1996). Use of *Drosophila* mutants in vision research. *Molecules and Cells*, 6 (2): 117-124.
- Palmer JD. (1963). Organismic spatial orientation in very weak magnetic field. *Nature*, 198: 1061-1062.
- Panda S, Provencio I, Tu DC, Pires SS, Rollag MD, Castruchi AM, Pletcher MT, Sato TK, Wiltshire T, Andahazy M, Kay SA, Van Glender RN, Hegenesch JB. (2003). Melanopsin is required for non-image-forming photic responses in blind mice. *Science*, 301: 525–27.
- Parchem RJ, Perry MW, Patel NH. (2007). Patterns in insect wing. *Current Opinion in Genetics & Development*, 17: 300-308.
- Partridge L y Fowler K. (1992). Direct and correlated responses to selection on age at reproduction in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 46: 76-91.
- Pasteur G. (1969). Morphological differences between *Drosophila pseudoobscura* populations selected for opposite geotaxes and phototaxes. *Genetics*. 62: 837-847.
- Phillips JB y Sayeed O. (1993). Wavelength-dependent effects of light on magnetic compass orientation in *Drosophila melanogaster*. *Journal of comparative physiology*. 172 (3): 303-308.
- Phillips JB, Deutschlander M, Freake M, Borland S. (2001). The role of extraocular photoreceptor in newt magnetic compass orientation: parallels between light-dependent magnetoreception and polarized light detection in vertebrates. *Journal of Experimental Biology*, 204: 2543-2552.

- Piatigorsky J, Horwitz J, Kuwabara T, Cutres CE. (1989). The cellular eye lens and crystallins of cubomedusan jellyfish. *Journal of Comparative Physiology*, 164: 577-587.
- Plate C. (1913). *Vererbungslehre*. Leipzig, Engelmann. Citado en Caspari E. (1952). Pleotropic gene action. *Evolution*, 6: 1-18.
- Provencio I, Jiang G, De Grip WJ, Hayes WP, Rollag MD. (1998). Melanopsin: An opsin in melanophores, brain, and eye. *Proceedings of the National Academy of Science U.S. A.* 95: 340–345.
- Real Academia de la Lengua Española. (2001). Consultado en: <http://www.rae.es/rae.html>. Diccionario de la Real Academia de la Lengua Española. 22<sup>ava</sup> edición.
- Ricker JP y Hirsch J. (1988). Genetic changes occurring over 500 generations in lines of *Drosophila melanogaster* selected divergently for geotaxis. *Behavior Genetics*, 18: 13–25.
- Ritz T, Dommer D, Phillips B. (2002). Shedding light on vertebrate magnetoreception. *Neuron*, 34: 503-506.
- Rockwell Rf y Seiger M. (1973). Phototaxis in *Drosophila*: A critical evaluation. *American Scientist*, 61 (3): 339-345.
- Roff DA. (1986). The Evolution of Wing Dimorphism in Insects. *Evolution*, 40 (5): 1009-1020.
- Schnapf JL. (1987). Human transduction in the eye. Citado en Schnapf JL, Schneeweis DM (1999). Electrophysiology of cone photoreceptors in the primate retina. In: Gegenfurtner KR, Sharpe L. (Eds.), **Color vision**. Cambridge University Press. United Kingdom. pp. 103-112.
- Schnapf JL, Schneeweis DM (1999). Electrophysiology of cone photoreceptors in the primate retina. In: Gegenfurtner KR, Sharpe L. (Eds.), **Color vision**. Cambridge University Press. United Kingdom. pp. 103-112.
- Shapely RM, Hawken MJ: *Parallel retino-cortical channels and luminance*. In: Gegenfurtner KR, Sharpe L. (Eds.), **Color vision**. Cambridge University Press. United Kingdom. (1999). pp.221-234.
- Sharpe LT, Stockman A, Jägle H, Nathans J. (1999). Opsin genes, cone photopigments, color vision, and color blindness. In: Gegenfurtner KR, Sharpe L. (Eds.), **Color vision**. Cambridge University Press. United Kingdom. pp. 3-52.

- Simon AF, Liang DT, Krantz DE. (2006). Differential decline in behavioral performance of *Drosophila melanogaster* with age. *Mechanisms of ageing and development*, 127 (7): 647-651.
- Sisodia S, Singh BN. (2005). Behaviour genetics of *Drosophila*: Non-sexual behaviour . *Journal of Genetics*, 84 (2): 195–216.
- Smith GS. (2007). The polarization of skylight: An example from nature. *American Journal of Physics*, 75: 26-35.
- Sokolowski MB. (2001). *Drosophila*: genetics meets behaviour. *Nature Reviews Genetics*, 2: 879-893.
- Stark WS y Wasserman GS. (1974). Wavelength-specific ERG characteristics of pigmented- and white-eyed strains of *Drosophila*. *Journal of Comparative Physiology*. 91 (4): 427-441.
- Stark WS, Ivanyshyn AM, Hu, KG. (1976). Spectral sensitivities and photopigments in adaptation of fly visual receptors. *Naturwissenschaften*, 63: 513–518.
- Stark WS. (1977). Sensitivity and adaptation in R7, an ultraviolet photoreceptor, in the *Drosophila* retina. *Journal of Comparative Physiology*, 115: 47-59.
- Stavenga D y Arikawa K. (2006). Evolution of color vision of butterflies. *Arthropod Structure and Development*, 35: 307-318.
- Stewart FJ. (2005). Video Tracking of *Drosophila gravitaxis*. *Nueroinformatics MSc*. University of Edinburg.
- Stockman A, Sharpe LT. (1999). Cone spectral sensitivities and color vision. In: Gegenfurtner KR, Sharpe L. (Eds.), **Color vision**. Cambridge University Press. United Kingdom. pp 53-88.
- Tanaka Y. (1998). A pleiotropic model of phenotypic evolution. *Genetica* 102/103: 535-543.
- Toma DP, White KP, Hirsch J, Greenspan RJ. (2002). Identification of genes involved in *Drosophila melanogaster* geotaxis, a complex behavioral trait. *Nature Genetics*, 31 (4): 349-353.
- Van Gelder RN. (2003). Making (a) sense of non-visual ocular photoreception. *Trends in Neurosciences*, 26 (9): 458-461.
- Van Gelder RN. (2008). Non-Visual Photoreception: Sensing Light without Sight. *Current Biology*, 18 (1): R38-R39.

- Volpe P, Carfagna M, Di Lorenzo M. (1967). Extraretinal pigmentation and colour discrimination I. Choice of color of substrate during oviposition in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Experimental Biology*, 47: 297-305.
- Vondran T, Apel KH, Schmitz H. (1995). The infrared receptor of *Melanophila acuminata* De Geer (Coleoptera : Bupresidae): Ultrastructural study of a unique insect thermoreceptor and its possible descent from hair mechanoreceptor. *Tissue cell*, 27: 645-658. citado en : Nation J. (2002). **Insect physiology and biochemistry**. CRC Press, Florida, USA, 2002. pp 267-300.
- Wernet MF, Mazzoni E, CeliK A, Duncan D, Duncan I, Desplan C. (2006). Stochastic spineless expression creates the retinal mosaic for colour vision. *Nature*, 440: 174-180.
- Wernet MF, Celik A, Mikeladze-Dvali T, Desplan C. (2007). Generation of uniform fly retinas. *Current Biology*, 17 (23): R1002-R1003.
- Wiltschko R, Wiltschko W. (1995). **Magnetic Orientation In Animals**, vol 33. Berlin: edit Springer.
- Wiltschko W. (1980). The earth's magnetic field and Bird orientation. *Trends in Neurosciences*, 3: 140-144.
- Wiltschko W y Wiltschko R. (2005). Magnetic orientation and magnetoreception in birds and other animals. *Journal of Comparative Physiology A*, 191: 675-693.
- Wittkopp PJ, Trae JR, Carroll SB. (2002). Reciprocal functions of the *Drosophila* Yellow and Ebony proteins in the development and evolution of pigment patterns. *Development* 129: 1849-1858
- Wolff T, Ready DF. (1993). Pattern formation in *Drosophila* retina In: Bate. M., Arias. A.M. (Eds.), **The development of *Drosophila melanogaster***. Vol 2. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Plainview. New York. pp. 1277-1325.
- Young D. (1989) **Nerve cells and animal behaviour**. Cambridge University Press. Great Britain. pp. 33-64.
- Zuker CS, Montell C, Jones K, Laverty T, Rubin GM. (1987). A rhodopsin gene expressed in photoreceptor cell R7 of the *Drosophila* eye: homologies with other signal-transducing molecules. *Journal of Neuroscience*, 7: 1550-1557.
- Zuker CS. (1996). The biology of vision in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Science U.S.A.* 93: 571-576.

## VII ANEXOS

### ANEXO 1 CARACTERÍSTICAS DE CEPAS MUTANTES Y FIGURAS.

Anexo 1. Cepas de moscas con diversos genes utilizados en el estudio.							
Gen	Cepas	Nombre	Posición	Lugar afectado	Características	Observaciones	Referencia
ap	ap	aptera	2- 55,2	ala	Alas y alterios reducidos a trazas, cedas alrededor de la base del ala a veces ausentes.	Menor tiempo de vida del adulto.	2 Pág. 42-44
B	B , y w B	Bar	1- 57,0	tamaño de ojo	Ojo reducido a barra vertical de unas 90 facetas en machos y 70 facetas en hembras	Expresión por dosis. Tamaño del disco reducido.	2 Pág. 64-65
bw	bw , cnbw	brown	2- 104,5	pigmento de ojo	Color de ojo café. Carencia de pigmentos rojos, Xanthommatina reemplazada por dihidroxantomatina. Pigmentos granulados presentes pero mas pequeños que en silvestre.	Produce ojos blancos en combinación con v, cn, st.	2 Pág. 88
cn	cn , cnbw	cinnabar	2-57,5	pigmento de ojo	Color de ojo rojo brillante, como v o st. Menos color en ocelli. Obscurecimiento con edad, pero ocelo permanece con menos color	Actividad enzimática por dosis.	1 Pág. 54
	CS (silvestre)	Canton-s		sin efectos			
e	e , f se e , mwh e	ebony	3- 70,7	color de cuerpo	Color del cuerpo más oscuro que silvestre.	Falta de B-alanina y dopamina.lamina potencialmente reducida o ausente. Diferencias en cortejo.	2 Pág. 180
ey	ey	eyeless	4- 2,0	tamaño de ojo	Tamaño de ojo reducido a ausente, tamaño y forma de la reducción dependiente del alelo, expresión variable. Disco óptico reducido.	Algunas ey muestran duplicación de antenas completas o segmentos con o sin duplicación de arista, estructuras maxilares extra también observadas.	2 Pág. 207
f	f se e	forket	1- 56,7	tricomas	Cerdas bifurcadas.	Algunos alelos suprimidos por su	2 Pág. 211
flr3	flr3	flare 3	3- 38,8	tricomas	Quetas y Tricomas en tórax y abdomen con forma anormal. Parecida a una quemada.	Letal en homocigosis	2 Pág. 218

L	L	Lobe	2- 72,0	forma del ojo	Reducción variable de tamaño de ojo.	Por dosis reducción y viabilidad dependiendo del alelo. Reducción de células que dan origen al ojo.	2 Pág. 303
m	m	miniature	1- 36,1	ala	Tamaño de ala reducido, apenas mas largas que el abdomen con proporciones normales.	Alas gris oscuras y menos transparentes de lo normal.	2 Pág. 432
Mo	Mo	Moirè	3-19.2	forma del ojo	Ojo en forma de ondas de sedas, luz trémula, patrón iridiscente debido a un anillo de seis manchas	cambia forma del ojo sin alterar número de omatidias	1 Pág. 163
mwh	mwh , mwh e	multiple wing hairs	3- 0,3	tricomas	Afecta los tricomas en general del cuerpo, teniendo múltiples "cabellos" en comparación con la silvestre		2 Pág. 483
nub	nub	nubbin	2- 47,0	ala	Alas muy pequeñas. Opacas, curvadas hacia arriba o abajo, infladas a eclosión.	Solo una vena , alterios a veces reducidos	2 Pág. 516
P4	p4	p 4		ala	Alas reducidas a trazas.	Cepa obtenida en el banco de moscas.	
pr	pr	purple	2-54,5	pigmento de ojo	Ojo color rubí, se oscurece con edad.	Ojo naranja en combinación con st y café rojizo en combinación con bw, interacción letal con ey.	1 Pág. 191
se	se , f se e	sepia	3- 26,0	pigmento de ojo	Ojos color café a la eclosión, oscurecidos a sepia y negros con la edad. No tiene pigmentos rojos y presenta acumulación de pigmentos cafés	Gen estructural de enzima PDA sintetasa, que es importante en ruta de pigmentos rojos.	2 Pág. 626
v	v	vermillion	1- 33,0	pigmento de ojo	Ojos color escarlata brillante debido a la ausencia de homocromos café. Ocelos menos coloreados.	Codifica Enzima triptofano oxidasa	2 Pág. 744
w	w	white	1- 1,5	pigmento de ojo	Color de ojo blanco.	Envuelve la producción y distribución de pigmentos de homocromo (café) y pteridina (rojo) , ausencia de pigmentos. Interacción con zeste	2 Pág. 759-766
w-a	w-a , y2 wa	white apricot	1- 1,5	pigmento de ojo	Alelo de w , ojos de macho amarillos-naranja, hembra mas claros, mas amarillos.	Compensación de dosis, wa/Y machos tienen el mismo color de ojos que wa/wa y no suprimen (pero interactúan) con zeste	2 Pág. 759-766
w-cf	w-cf	white coffee	1- 1,5	pigmento de ojo	Alelo de w , ojos rubí profundo.		2 Pág. 759-766
w-e	w-e	white eosina	1- 1,5	pigmento de ojo	Alelo de w, ojos de hembras rosas amarillentos, en machos mas claros.		2 Pág. 759-766

y	y , y w B	yellow	1- 0,0	color de cuerpo	Cuerpo del adulto amarillo, cabellos y cedas cafés con puntos amarillos, venas de ala y cabellos amarillos.	Controla el pigmento melatotónico de la cutícula de la mosca. Exhiben un nivel reducido de locomoción y cortejo anormal.	2 Pág. 785-790
Y2	y2wa	yellow 2		color de cuerpo	Cuerpo del adulto amarillo, cabellos y cedas negras, venas del ala color gris.		2 Pág. 785-790
z	z-H , z-M	zeste	1-1,0	pigmento de ojo	Color de ojo silvestre en machos, amarillo limón a 25 <sup>0</sup> , moteado amarrillo y rojo cafoso a 19 <sup>0</sup> en hembras homozigas	Gen regulatorio que interactúa con el locus white y con bithorax, cambiando la expresión fenotípica de este loci.	2 Pág. 794

## Referencias

1. Lindsley DL, Grell EH: Genetic variations of *Drosophila melanogaster*. Carnegie Institution of Washington Publication. No. 627, Library of Congress Catalog Card Number 68-15915. Second Printing (1972) .
2. Lindsley DL, Zimm GG. The genome of *Drosophila melanogaster* . Academic Press, Inc .. San Diego, California (1992).

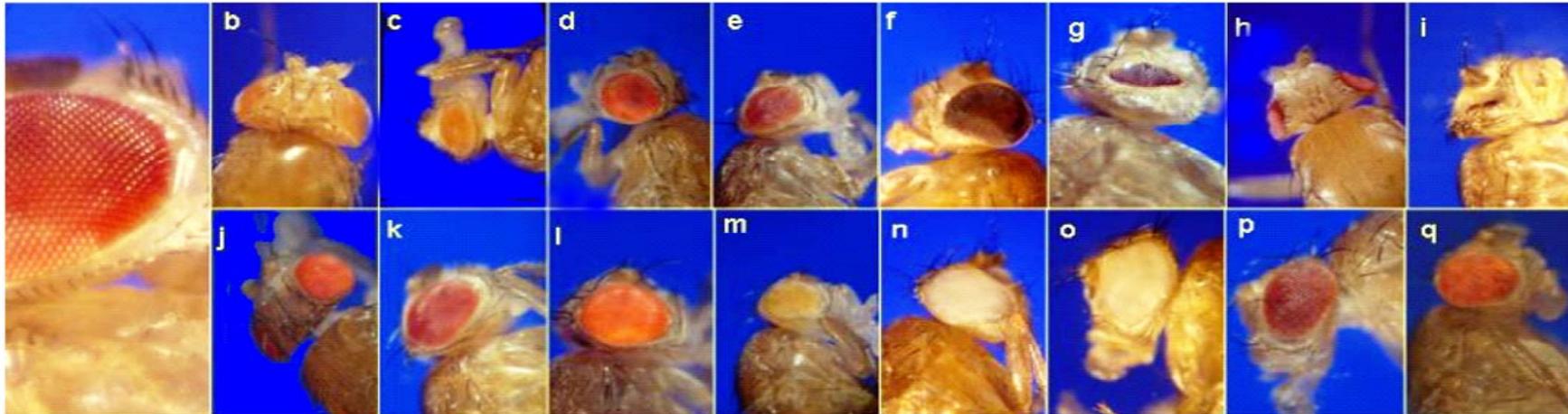


Figura 1. Moscas a) silvestres, y mutantes de los ojos b) *w-a*, c) *w-e*, d) machos *z*, e) *bw*, f) *se*, g) *B*, h) *L*, i) *ey*, j) *v*, k) *pr*, l) *cn*, m) hembras *z*, n) *w*, o) *cn bw*, p) *w-cf*, q) *Mo*

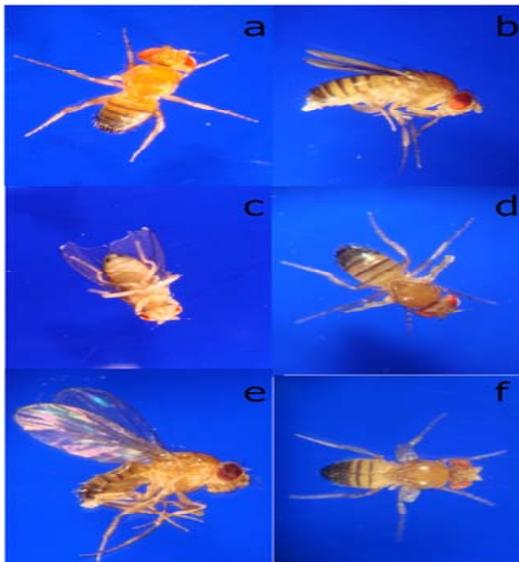


Figura 2. Moscas con alteracion en ala:  
a) *ap*, b) *m*, c) *flr3*, d) *p4*, e) *mwh*, f) *nub*.



Figura 3. Diferentes cepas mutantes para color de cuerpo:  
a) *f se e*; b) *y w B*, c) *e*, d) *y<sup>2</sup> w<sup>a</sup>*, e) *mwh e*, f) *y*.

ANEXO 2 ESPECTROS DE EMISIÓN DE LA LÁMPARA CON Y SIN FILTROS DE COLORES.

