



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

Evaluación del desempeño reproductivo de *Drosophila melanogaster* en relación con el daño genético.

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BIÓL. YANELI TRUJILLO VARELA

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. PATRICIA RAMOS MORALES
FACULTAD DE CIENCIAS

COMITÉ TUTOR: Dra. MARICELA VILLAGRÁN SANTACRUZ
FACULTAD DE CIENCIAS

Dr. JESÚS JAVIER ESPINOSA AGUIRRE
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS

Dr. CONSTATINO MACIAS GARCÍA
INSTITUTO DE ECOLOGÍA

MÉXICO, D.F. FEBRERO, 2015



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

Evaluación del desempeño reproductivo de *Drosophila melanogaster* en relación con el daño genético.

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BIÓL. YANELI TRUJILLO VARELA

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. PATRICIA RAMOS MORALES
FACULTAD DE CIENCIAS

COMITÉ TUTOR: Dra. MARICELA VILLAGRÁN SANTACRUZ
FACULTAD DE CIENCIAS

Dr. JESÚS JAVIER ESPINOSA AGUIRRE
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS

Dr. CONSTANTINO MACIAS GARCÍA
INSTITUTO DE ECOLOGÍA

MÉXICO, D.F. FEBRERO, 2015



POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO FCIE/DEP/042/15

ASUNTO: Oficio de Jurado

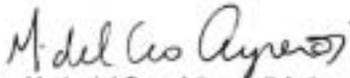
Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **6 de octubre de 2014** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Biología Experimental** del (la) alumno (a) **TRUJILLO VARELA YANELI** con número de cuenta **300272709** con la tesis titulada **"Evaluación del desempeño reproductivo de *Drosophila melanogaster* en relación con el daño genético"**, realizada bajo la dirección del (la) **DRA. PATRICIA RAMOS MORALES**:

Presidente: DRA. IRMA AURORA ROSAS PÉREZ
Vocal: DR. EMILIO ROJAS DEL CASTILLO
Secretario: DRA. MARICELA VILLAGRÁN SANTA CRUZ
Suplente: DRA. AMERICA NITXIN CASTAÑEDA SORTIBRAN
Suplente: DR. JESÚS JAVIER ESPINOSA AGUIRRE

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 21 de enero de 2015


Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga
Coordinadora del Programa

MCAA/MJFM/ASR/grf*

AGRADECIMIENTOS

Al **Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM**, por las facilidades proporcionadas, por la educación brindada que me permitió mi formación, ahora como Maestra en Ciencias Biológicas.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por el apoyo económico que me brindó durante el programa de Maestría. Registro de Becario 262619.

Al Comité Tutorial, **Dra. Maricela Villagrán Santacruz, Dr. Jesús Javier Espinosa Aguirre y Dr. Constantino Macías García**, por sus comentarios hacia el trabajo, jugaron un papel importante en el desarrollo de esta investigación.

A la **Dra. Patricia Ramos Morales**, por hacer posible esta investigación, la cual también es su investigación, por ser ejemplo de lucha y entrega constante, gracias por creer y confiar nuevamente en mí y no haber dejado que me rindiera fácilmente.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

A la vida que me demuestra día con día que existen diferentes matices, los cuales me hacen ser la persona que soy.

A mi increíble familia, ejemplo de lucha y unión, gracias por creer siempre en mi, estar apoyándome y echándome porras.

A la Biól. Ariadna Berenice Morales Jiménez, por apoyarme incondicionalmente, por todos los momentos que compartimos tanto profesionalmente como personalmente, eres una excelente amiga.

Al Biól Hugo Rivas Martínez por estar siempre ahí, por el apoyo, la confianza, por aguantar mis quejas y por todos esos aventones (cerca de mi casa).

A la Biól Blanca Rosa Hernández por el apoyo y las extensas conversaciones que hacen los días más amenos

A la Dra. Adriana Muñoz Hernández por compartirme su conocimiento, experiencia y por todo el apoyo.

A la Biól Estefanía Arroyo Jilote por todas esas discusiones biologuescas, por todas las preguntas y debates interminables y por los momentos divertidos y estresantes que pasamos, ahora sigues tú.

A Karla Isabel Martínez Ledezma gracias por todos los momentos divertidos, tristes, estresantes, alegres y de incertidumbre que compartimos, gracias por permitirme primero conocerte como alumna y después como persona.

A Mayra Manuela Castillo Manzanilla por estar siempre al pendiente y por permitirme conocer una persona tan entregada como tú.

A los miembros del Laboratorio de Genética y Toxicología Ambiental, por todos esos momentos de relajación, de trabajo, por el estrés que compartimos y por todos los festejos (y los que faltan), por hacer amena y divertida la estancia en el lab. Gracias Ángeles, Maricruz, Fernanda, Juan, Gabriel y Magnolia. A Gaby gracias por enseñarme otra cultura, otro estilo de música y por todas esas conversaciones interminables. Gracias también a los que ya no forman parte del laboratorio pero que compartimos momentos divertidos, Aida, Abril, Estefanía Olga y Minerva.

A mis compañeros de esta travesía, por compartir momentos estresantes durante exámenes, discusiones de artículos, exposiciones y por todos esos debates.

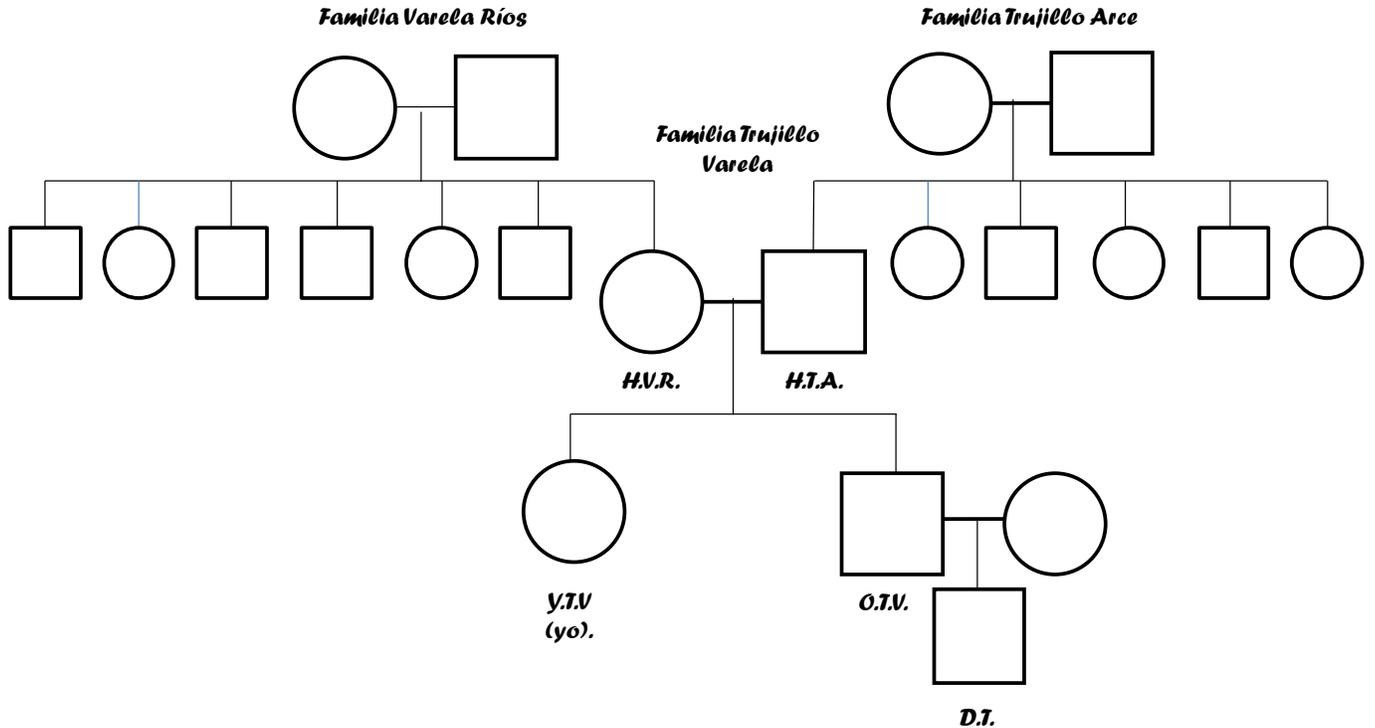
A todos mis alumnos que día con día hacen que trate de superarme y conocer más y más de este mundo maravilloso de la genética y de la biología.

A la UNAM que me abrió nuevamente sus puertas para dar otro pasito más en este mundo del conocimiento.

A todos los que me faltaron y que colaboraron con su granito de arena para que yo llegara a cumplir esta meta.

¡GRACIAS!

DEDICATORIA:



A mi abuela mi ejemplo de vida.

A mis padres que me enseñan día a día que los sueños se vuelven realidad y que los triunfos saben mejor cuando se comparten. Gracias por darme la oportunidad de disfrutar todo lo maravillosa que es la vida. ¡Los amo!

A Omar Trujillo Varela y a Damián Trujillo A. Gracias por darme oportunidad de compartir momentos inolvidables.

A todos los miembros de mi genealogía, portadores de cualquier tipo de alelo, dominante, recesivo o cualquier otro.

A una gran pequeña: Drosophila melanogaster.



Imagen tomada de Griffiths, 2002

*"Antes pensábamos que nuestro futuro estaba en las
estrellas. Ahora sabemos que está en nuestros genes"*
James Watson

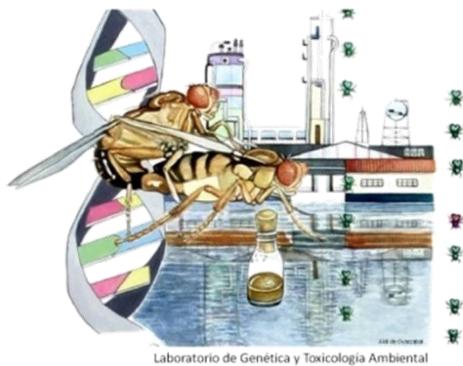
*Hay una fuerza motriz más poderosa
que el vapor, la electricidad y la
energía atómica: La voluntad*

Albert Einstein

*Soy de las que piensan que la ciencia tiene
una gran belleza. Un científico en su
laboratorio no es sólo un técnico: es
también un niño colocado ante fenómenos
naturales que le impresionan como
un cuento de hadas.*

Marie Curie

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Genética y Toxicología Ambiental
De la Facultad de Ciencias de la UNAM.



Gracias al Banco de Moscas de la UNAM por el material Biológico donado.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	5
1.1 Ambiente y comportamiento.....	5
1.2 Selección sexual.....	7
1.2.1 Selección pre-cópula.....	10
1.2.1.1 Monogamia.....	11
1.2.1.2 Poligamia.....	12
1.2.2 Selección sexual postcópula.....	13
1.3 El principio de Bateman.....	14
1.4 <i>Drosophila melanogaster</i>	16
1.4.1 Cortejo en <i>Drosophila melanogaster</i>	17
2. OBJETIVOS	19
2.1 Objetivos particulares.....	19
3. HIPÓTESIS	19
4. ANTECEDENTES	20
5. METODOLOGÍA	21
5.1 Compuestos químicos.....	21
5.1.1 Azida de sodio (NaN ₃).....	21
5.2 Líneas de moscas.....	22
5.3 Evaluación de la eficiencia reproductiva de mutantes y silvestres.....	22
5.4 Evaluación de la preferencia de hembras hacia machos mutantes vs silvestres diferentes Proporciones Sexuales Operativas.....	23
5.5 ¿Las hembras pueden descartar entre machos con posible daño genético?.....	25

6.RESULTADOS.....	29
6.1 Evaluación de la eficiencia reproductiva de mutantes y silvestres.....	29
6.2 Evaluación de la preferencia de hembras hacia machos mutantes vs silvestres en diferentes Proporciones Sexuales Operativas.....	30
6.3 ¿Las hembras pueden descartar entre machos con posible daño genético?.....	33
6.3.1 Resultados transvase 1.....	40
6.3.2 Resultados transvase 2.....	42
6.3.3 Resultados transvase 3.....	44
6.4 Resultados machos white.....	48
7. DISCUSIÓN.....	50
7.1 Evaluación de la eficiencia reproductiva de mutantes y silvestres.....	51
7.2 Evaluación de la preferencia de hembras hacia machos mutantes vs silvestres en diferentes Proporciones Sexuales Operativas.....	51
7.3 ¿Las hembras pueden descartar entre machos con posible daño genético?.....	52
8. CONCLUSIONES.....	58
9. REFERENCIAS.....	59

RESUMEN

Los seres vivos están expuestos de manera continua a una variedad de compuestos que pueden ser dañinos y que pueden poner en riesgo la integridad de los organismos. Esta exposición puede ocurrir a concentraciones sub-letales y puede alterar habilidades competitivas de comportamiento, reproducción y transmisión del material hereditario a las siguientes generaciones.

En el presente trabajo se buscó determinar si moscas de *Drosophila melanogaster* son capaces de identificar a organismos que han sido expuestos a un compuesto, modificando la capacidad de ser elegidos como pareja reproductora. Se utilizaron marcadores morfológicos recesivos ligados al cromosoma X; ♀♀ con fenotipo *ywf* y ♂♂ con los fenotipos: *w*, *y*, *f*, *yw*, *yf*, *wf*, *ywf* o silvestres. Para determinar la eficiencia reproductiva de moscas mutantes y silvestres se realizaron cruzas utilizando diferentes proporciones operativas de hembras y machos parentales para evaluar: 1) si la proporción hembra:macho afecta la preferencia entre machos mutantes y silvestres, 2) la frecuencia de cópula de las hembras parentales y 3) el número de hijos. Se realizaron cruzas masivas en diferentes proporciones operativas, a los dos días de iniciada la crusa se eliminaron a los machos y cada hembra fue transferida a un tubo homeopático para recobrar su familia y determinar cuántos y cuáles machos copularon con ésta, así como el número de progenie. Una vez que se obtuvieron los resultados de la preferencia de las hembras, la cual fue hacia los machos silvestres y la proporción de sexos operativa en la que se recobraba un mayor número de progenie (proporción 1:1) se procedió a tratar a machos silvestres con el mutágeno de referencia Azida de Sodio (NaN_3) en diferentes concentraciones [0.125- 1.13×10^{-13} mM]. Se eligieron a machos de la concentración 3.86×10^{-6} mM debido a que en esta concentración la sobrevivencia fue muy similar al testigo. Estos machos expuestos se colocaron junto con los machos mutantes (no expuestos) y con las hembras en una proporción 1:1 en una crusa masiva, ésto para observar la preferencia de las hembras frente a machos expuestos y no expuestos. Se encontró que la

preferencia seguía siendo hacia los machos silvestres y que la frecuencia de cópula era hasta con tres machos, pero debido a que la cuza se realizó masivamente no se podría establecer si uno o varios machos silvestres podrían copular con las hembras, por lo que posteriormente se realizó un segundo tratamiento independiente a los machos silvestres, seleccionando a machos de la misma concentración ($3.86 \text{ E}^{-6} \text{ mM}$) pero colocando ahora a un macho de cada genotipo por ocho hembras. Se encontró que en el lote de los machos expuestos, la preferencia de las hembras fue hacia los machos mutantes y que la frecuencia de cópula fue preferentemente con dos machos. Para tratar de esclarecer si la respuesta está dada a nivel pos-cópula una vez que se trataron a los machos silvestres se procedió a realizar tres diferentes sistemas de cruza 1:8, 8:8 y cruza masiva (64:64). De cada sistema de cruza, se colocó una hembra por tubo por dos días (transvase 1), posteriormente las mismas hembras se colocaron en otro tubo por otros dos días (transvase 2) y finalmente se volvieron a colocar en un tercer tubo (transvase 3) haciendo en total tres transvases de la hembra. Se encontró que la frecuencia de cópula es en su mayoría con dos machos y que en los primeros transvases la progenie era silvestre y posteriormente se recobró la progenie mutante. En la segunda parte del proyecto, se trataron a machos mutantes para determinar si la preferencia de moscas cambiaba, encontrando que la preferencia ahora se inclinaba más hacia los machos mutantes tratados. La eficiencia reproductiva fue mayor en los machos de tipo silvestre y posteriormente para las cepas *yw* y *yf* ya que se recobró un mayor número de progenie. La preferencia de hembras fue hacia machos silvestres en las diferentes proporciones de sexo operativa (PSO), y la mayor cantidad de progenie se recobró en la proporción 1:1. La frecuencia de apareamientos se puede dar hasta con 3 machos diferentes. Finalmente se puede concluir que las hembras de *Drosophila melanogaster* pueden discriminar entre los machos expuestos y no expuestos, eligiendo preferentemente a machos no expuestos.

ABSTRACT

The organisms are exposed continuously to numerous compounds which can be harmful and may put at risk the integrity of organisms. This exposure may occur at sublethal concentrations and alter competitive ability, behavior, reproduction and transmission of hereditary material to next generations.

The objective of this study was to determine whether *Drosophila melanogaster* flies are able to identify those organisms that have been exposed to a compound, modifying the capacity to be elected as breeding pair. Morphological X-linked recessive markers were used; ♀♀ with *ywf* phenotype and ♂♂ with *w*, *y*, *f*, *yw*, *yf*, *wf*, *ywf* or wild type phenotype. To determine the reproductive efficiency of mutant and wild type flies, matings using different sex operating proportions of females and males were performed to assess 1) whether female: male proportion can affect the sexual preference between mutant and wild type males, 2) the frequency of copula from parental females and 3) the number of descendants. Massive crosses in different operative proportions were performed. Two days later, the males were eliminated and each female was transferred to a homeopathic tube to recover her family and determine how many and which kind of males copulated with her, and the number of progeny. Females' preference was toward wild type male, and the sex operative proportion (SOP) in which a greater number of offspring was recovered was 1:1. Wild type males were treated with the reference mutagen sodium azide (NaN_3) at different concentrations [0.125- 1.13E-13 mM] to determine the toxicity of the treatment. For the experiments, 3.86 E -6 mM Sodium Azide was chosen because in this concentration the survival was similar to the control. Exposed males were placed with males mutants (not exposed) and females (not exposed) in a massive cross using a SOP 1:1. It was found that the female preference was toward the wild type males again and the frequency of copula was up with three males. However, due the massive crosses it could not be established whether females mated with one or more wild type males. A second

treatment was done but now one treated wild type male and seven untreated mutant males (one each genotype) were mated with eight untreated females.

In the treated males group, the females' preference was toward the mutant untreated males and the copula's frequency was up to two males. Trying to clarify whether the response is at post-copula level, wild type treated males were mated in three different kind of crosses: one wild type treated male: 8 females (1:8); one wild type treated mate and 7 mutant males to 8 females (1:8); and the massive cross (64:64). After matings, for each system crosses, females were put individually into a tube by two days (transfer 1), and then transferred two times into a fresh medium tube for two days each one (transfers 2 and 3), making a total of three transfers of each female. It was found that the frequency of copula is with two males, the progeny recovered from transfer 1 and 2 was mainly wild type, and in the transfer 3 the progeny was only mutant. In the next part of project, white males were exposed to NaN₃ (3.86 E-6) to determine if the preference of females was modified. It was found that the female's preference was toward mutant treated males. The reproductive efficiency was higher for the wild type males and then for *yw* and *yf* males, because a larger number of progeny was recovered.

In conclusion, the females' preference was toward the wild-type males for the different SOP, more progeny was recovered in the proportion 1:1 SOP. The frequency of matings is with three different males. Females of *Drosophila melanogaster* can discriminate between exposed and unexposed males, preferably choosing unexposed males.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Ambiente y comportamiento.

El comportamiento de un organismo es el producto de las interacciones de factores externos como el ambiente y procesos internos intrínsecos. Los procesos internos que forman la base del comportamiento puede ser dividido en componentes que interactúan entre sí: procesos hormonales, interacciones moleculares y celulares, neurobiología y desarrollo, así como el uso eficiente de recursos y restricciones psicofísicas (Drickarmer y Vessey , 1996 ;Giacomo, 2002) (Fig. 1).

Los factores ambientales se visualizan ampliamente como controles importantes en los patrones de evolución. El ambiente de cualquier especie cambia continuamente y por consecuencia los organismos tienen que cambiar para adaptarse a los nuevos cambios. Subyacentes a todos estos cambios se encuentran las modificaciones del material genético. Los cambios en el ambiente pueden alterar la calidad cantidad y expresión de los genes y esto puede verse reflejado en cambios a nivel del comportamiento de los individuos (Futuyma, 2009).

Las consecuencias ecológicas que intervienen en el comportamiento de los organismos pueden ser divididas en cuatro categorías principales con una variedad de interacciones: forrajeo, interacciones interespecíficas, organización social y apareamiento (Alcock, 2005).

La plasticidad del comportamiento es la capacidad de que un simple genotipo pueda producir más que una alternativa adaptativa en respuesta a condiciones del ambiente. Un organismo puede ser capaz o incapaz de alterar su comportamiento en respuesta a cambios internos o ambientales si estos cambios pueden afectar su oportunidad de sobrevivencia o reproducción (Giacomo, 2002). En los últimos años el cortejo se ha convertido en un modelo para los investigadores, desde diferentes puntos de vista incluyendo el ecológico, el cómo se elige pareja

reproductiva ya sea selección pre-cópula o post-cópula, hasta cómo está involucrado el sistema nervioso (Dornan & Goodwin, 2008).

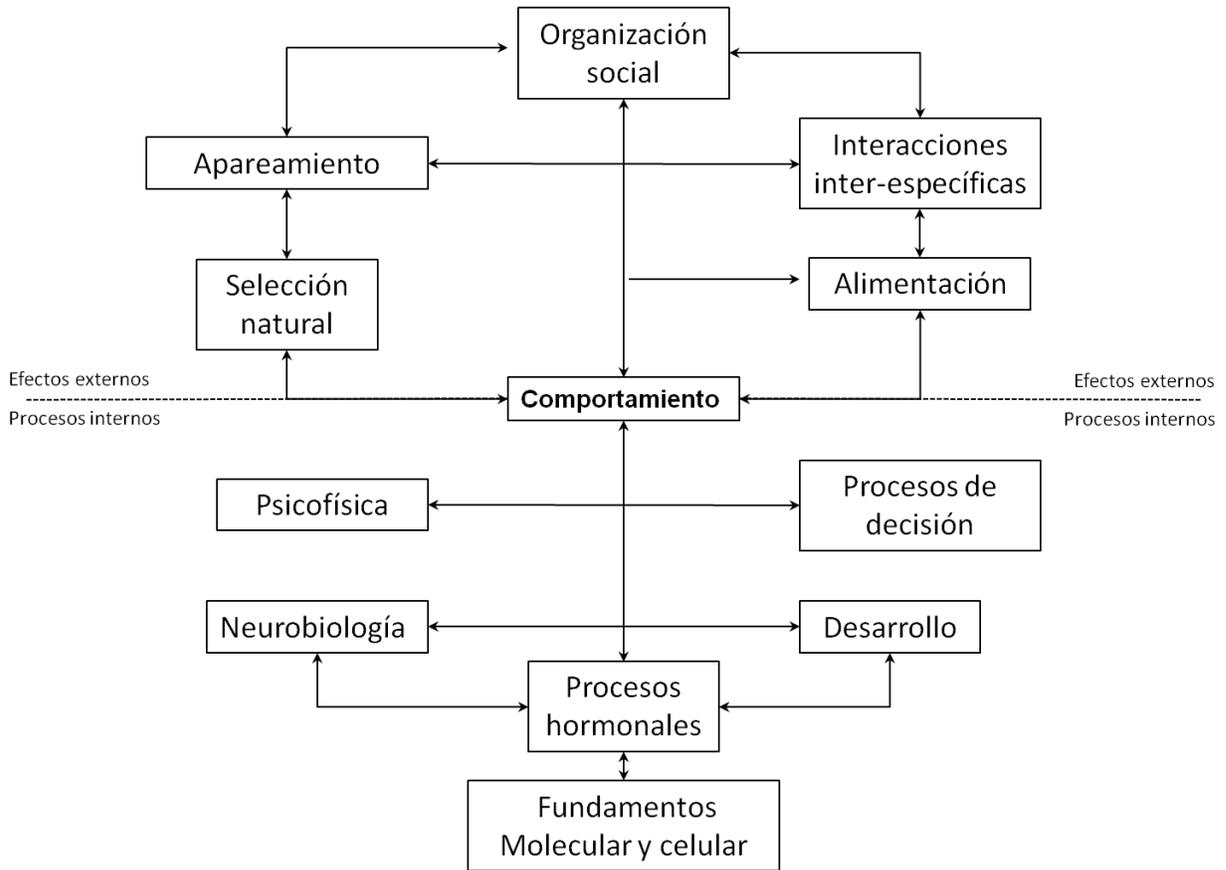


Fig. 1 Se muestran las interrelaciones en los procesos internos que gobiernan el comportamiento y que son resultado de efectos ecológicos externos en donde la selección natural actúa para que los organismos muestren respuestas de comportamiento. Modificado de Giacomo 2002.

1.2 SELECCIÓN SEXUAL

En 1871 Darwin dio una explicación de los diferentes ornamentos o atributos encontrados en los machos de distintas especies de aves y que en hembras no se presentaban o eran escasos. Esas características sexuales secundarias que aparentemente no incrementan la sobrevivencia, como plumajes vistosos, ornamentos grandes o cantos pueden ser muy costosos en términos de sobrevivencia, no solo por el gasto energético sino porque algunos de estos caracteres hacen a los machos presas fáciles, son el resultado de competencia intrasexual ya que da ciertos beneficios al momento de atraer a la pareja reproductiva. Darwin llamó a ese proceso de evolución selección sexual, describiendo a esa selección como “un proceso que depende de la ventaja que ciertos individuos tienen sobre otros del mismo sexo exclusivamente con respecto a la reproducción”.

La selección sexual implica una lucha entre los individuos de un sexo, generalmente los machos, por la posesión de individuos del otro sexo (lucha por la reproducción). Se puede establecer que existen dos formas de selección sexual: la competencia entre los machos por acceder a las hembras, o selección intrasexual, y la elección de macho que realizan las hembras, o selección intersexual (Darwin, 1871).

En la mayoría de las especies los machos compiten para atraer a las hembras o pueden llegar a enfrentarse con otros machos por las hembras. Los machos más fuertes pueden conseguir un mayor número de hembras y la selección sexual se verá favorecida para caracteres como el tamaño y la agresividad.

En muchas especies hay datos que indican que los machos con ciertos caracteres son preferidos por las hembras. Møller (1988) demostró que las hembras de la golondrina europea *Hirundo rustica*, prefieren a los machos con plumas caudales más largas aunque sean añadidas artificialmente. Los machos del estornino,

Sturnus vulgaris, que en las confrontaciones de canto entonan cantos más largos, tienen mayor éxito con las hembras. También hay evidencias similares en peces y en insectos como *Drosophila melanogaster* (Pischedda *et. al.*, 2011).

En muchas especies animales hay notables diferencias morfológicas, fisiológicas y de comportamiento entre los sexos, a esto comúnmente se le denomina dimorfismo sexual. La evolución de estos caracteres dimórficos relacionados con el comportamiento sexual ha sido estudiada debido a su importancia para la generación de nueva progenie (Drickarmer y Vessey, 1996).

Una de estas características dimórficas es la asimetría de los gametos y ésta debió evolucionar a partir de un estado inicial en el que los gametos presentaban igual tamaño y fue que por medio de la selección natural se originó una asimetría de éstos. Por un lado los gametos más grandes aportan mayor alimento inicial a sus embriones y los gametos pequeños tenían la ventaja de que pueden moverse y por lo tanto resultan más efectivos en conseguir fusionarse con los gametos grandes. Por lo tanto la fecundidad de una hembra está limitada, por su capacidad de producir óvulos, mientras que la del macho sólo está limitada por el número de óvulos que consiga fecundar puesto que sus gametos básicamente aportan ADN, son numerosos y no contienen recursos que contribuyan al desarrollo del cigoto (Clutton-Brock, 2007).

En organismos como las algas o las esponjas donde los gametos que producen son arrojados al exterior, y se da una fecundación externa, la selección sexual depende exclusiva y principalmente de la cantidad de gametos que producen. En otros organismos donde la fertilización involucra un contacto íntimo entre dos organismos, el éxito sexual podría depender de la capacidad de facilitar la transmisión de los gametos ya sean masculinos o femeninos por el cortejo y apareamiento; en ese caso características propias de cada sexo podían modificarse a través de la selección sexual (Cabrero y Vivaldi, 2003).

La tasa potencial de reproducción difiere entre los sexos, los machos son sexualmente más activos que las hembras en cualquier momento creando un sesgo en la proporción de sexos operativa (PSO) que indica la proporción de hembras disponibles por macho sexualmente activo en un momento dado. Como resultado cada macho debe competir con muchos rivales por un número limitado de hembras receptivas. Alcock (2005) sugiere que los machos usualmente compiten por aparearse porque existe una igualdad entre los sexos ya que la mayoría de las especies los machos no proporcionan cuidado parental y esto conduce a diferencias en las tasas de reproducción y en las proporciones de sexos operativa (Fig. 2).

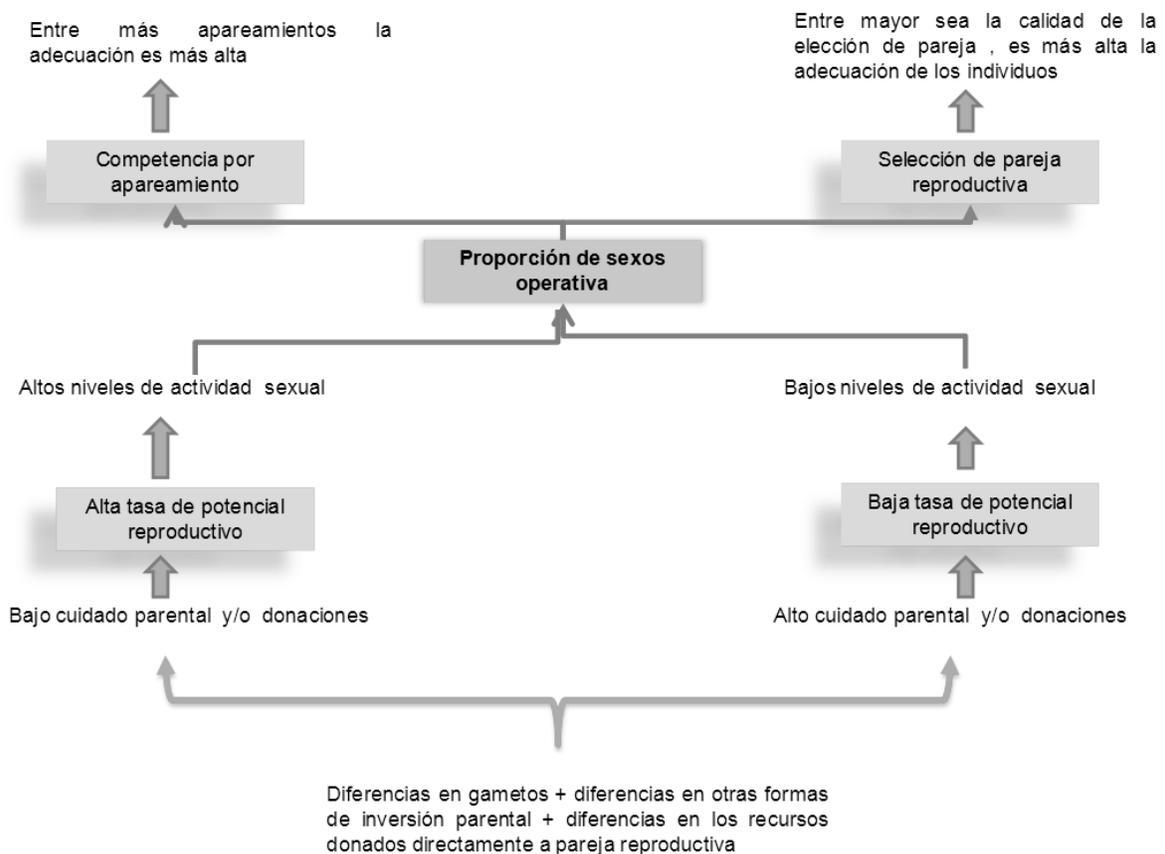


Fig. 2 Diferencias entre los sexos en el comportamiento sexual pueden hacer que surjan diferencias fundamentales en el cuidado parental que puede afectar la tasa en la que los individuos puedan producir progenie. Modificado de Alcock, 2005.

Los patrones de comportamiento sexual que se observan en animales son el resultado de presiones selectivas que actúan diferencialmente sobre los machos, por ejemplo, la capacidad de éstos para conseguir un mayor número de apareamientos requiere de una inversión mayor para realizar el apareamiento (cortejo, cópula, vigilancia de la hembra, etc.) puesto que si un macho logra aparearse con muchas hembras, sufrirá solo una pequeña reducción de su eficacia biológica si alguna vez se apareara con alguna hembra inapropiada, mientras que si una hembra tiene un apareamiento inapropiado con un macho que fecunde a todos o parte de sus óvulos, la reducción de la eficacia reproductiva puede ser significativamente importante. Además el que el macho se caracterice por producir un mayor número de gametos le resulta benéfico cuando fertiliza a más hembras ya que los genes que están siendo acarreados por un macho al fecundar a más hembras aumenta la probabilidad de que sean transmitidos a la siguiente generación. La selección sexual podría actuar en varios componentes del comportamiento del cortejo incluyendo la formación de parejas y la selección sexual (Carranza, 2010; Hubbell & Johnson, 1987; Sutherland, 1987).

1.2.1 Selección pre-cópula

El patrón estándar de comportamiento sexual es aquel en el que los machos compiten y las hembras elijen, pero éste puede alterarse conforme aumente el grado de inversión parental realizada por el macho. En algunas especies los machos compiten por conseguir los recursos o territorios para atraer a las hembras la competencia puede llevarse a cabo mediante una exhibición de señales orales o visuales, los machos más fuertes conseguirán un mayor número de hembras y la selección sexual (intrasexual) será muy intensa para caracteres como el tamaño, armamentos, exhibiciones de fuerza y comportamiento agresivo (Cordero, 1999).

La selección sexual podría haber actuado en varios de los componentes del comportamiento durante el apareamiento incluyendo la formación de pareja comportamiento del cortejo y selección sexual. Patterson (1970) propuso que cada especie posee su sistema de reconocimiento específico de apareamiento (SMRS) que controla el cambio de información sensorial enviada y recibida por la pareja sexual durante la interacción (Greenspan, 2000)

Los sistemas de apareamiento se han clasificado de acuerdo al número de parejas que obtiene el macho por unidad de tiempo o temporada reproductora. Entre las categorías están la monogamia, poligamia y promiscuidad. El éxito de las estrategias adoptadas por los individuos al momento del apareamiento depende de las estrategias adoptadas por los individuos de uno y otro sexo (Cordero, 1999)

Tabla I. Clasificación de los sistemas de apareamiento de acuerdo al número de parejas. Tomado de Cordero, 1999.

	Un macho	Varios machos
Una hembra	Monogamia 92% aves 5% mamíferos	Poliandria 1% aves Raro en mamíferos
Varias hembras	Poliginia 7% aves 94% mamíferos	Promiscuidad Muchas especies de peces e invertebrados marinos

1.2.1.1 Monogamia

El sistema de apareamiento como la monogamia aparece en aquellos grupos de animales en los cuales las expectativas de un aumento de beneficios obtenidos por un macho apareado con varias hembras simultáneamente o viceversa son menores que para una hembra o para un macho (Drickarmer y Vessey, 1996).

En la monogamia se forma una pareja de un macho y una hembra para un proceso reproductor, una temporada reproductiva o para toda la vida y se presenta un cuidado parental de ambos sexos y para los cuales un sistema de cuidado

biparental es indispensable para aumentar la eficiencia biológica de ambos sexos. La monogamia es el sistema de apareamiento más frecuente en las aves descrita en un 61% de especies de este grupo taxonómico (Møller, 1988; Cordero, 1999)

1.2.1.2 Poligamia

Para la aparición de un sistema de apareamiento polígamo se requieren los recursos necesarios para atraer a la hembra o la potencialidad de acceso a más de una de las hembras. También es necesario tomar en cuenta el nivel de cuidado parental que deben tener los organismos a la descendencia para maximizar la eficacia biológica (Drickarmer y Vessey, 1996).

En esta estrategia de apareamiento, un sexo establece relaciones reproductoras de forma simultánea con más de un miembro del sexo opuesto. Si es el macho el que se aparea con varias hembras se le denomina poliginia y si la hembra se aparea con varios machos se le denomina poliandria.

En la poliginia, las hembras son las que suelen encargarse de dar el cuidado parental necesario a la descendencia, la poliginia aparece en especies que presentan un alto grado de dimorfismo sexual. Este sistema de apareamiento surge a) porque los machos defienden los recursos que las hembras necesitan, b) porque defienden directamente a las hembras, c) porque las hembras prefieren seleccionar un macho de entre un grupo que se está exhibiendo (lek) (Andersson y Simmons, 2006).

La poliandria se ha observado en pocas especies de animales, es aquí donde el macho pasa a ser el recurso escaso o limitante por el cual las hembras han de competir. Las hembras al competir por los machos han evolucionado a ser más grandes y a presentar caracteres sexuales secundarios y los machos pasan a ser los encargados del cuidado parental.

1.2.2 Selección sexual postcópula

Durante mucho tiempo los estudios de selección sexual han asumido que las hembras copulan con un solo macho, por lo que se entendía que la competición entre machos termina en el momento de la cópula, y que la elección de pareja por parte de las hembras se limita al terreno del comportamiento, eligiendo con cuál macho se aparean. Pero en los últimos años esta visión ha cambiado radicalmente al demostrarse que en la mayoría de los grupos animales las hembras copulan con más de un macho durante un ciclo sexual y esto tiene implicaciones muy importantes, pues se puede establecer que la competencia para fecundar a las hembras continúa aún después de la cópula y que la elección de pareja por parte de las hembras no sólo se da a nivel de comportamiento, sino que además la elección puede continuar en el tracto reproductor femenino a nivel fisiológico y celular (Cordero, 1999).

Parker en 1970, reportó que la selección sexual puede continuar después del apareamiento. Si las hembras se aparean con varios machos antes de realizar la puesta y el espermatozoides que proviene de distintos machos se almacena en el interior de la hembra (como ocurre en la mayoría de los insectos), entonces se presenta una competencia entre los espermatozoides por la fecundación de los huevos, a esto se le conoce como competencia espermática y corresponde a una selección intrasexual.

Para que la reproducción se lleve a cabo, el tracto reproductor de la hembra debe asegurar, por una parte, que los óvulos se encuentren disponibles en el lugar de la fecundación, y por otra, que los espermatozoides lleguen al mismo lugar en el margen de tiempo en el que el óvulo está preparado para ser fecundado. Las características del tracto reproductor femenino definen la forma en que compiten los espermatozoides de machos rivales. En insectos, las hembras tienen unos órganos de almacenamiento denominados “espermatecas”, donde los espermatozoides pueden mantenerse viables por períodos largos de tiempo.

Birkhead y Pizzari (2002), proponen que la espermateca facilita que el último macho que copula con la hembra tenga más posibilidades de fecundar, pues el último eyaculado tiende a desplazar a eyaculados anteriores de la espermateca o a empujarlos hacia el fondo del receptáculo, de forma que son los espermatozoides del último macho los que quedan situados más cerca de la salida y son los primeros en salir cuando hay óvulos que fecundar.

Muchos comportamientos característicos de los machos (en especial insectos) como vigilancia postcópula, cópula prolongada, tapones nupciales, etc, surgieron como consecuencia de la competencia espermática, un ejemplo claro está en las libélulas en las que los machos se quedan en tándem mientras la hembra realiza la puesta, es decir los machos permanecen ahí para evitar que la hembra se aparee con otros machos y así garantizar la fecundación de huevos por ese macho. Por ejemplo la remoción del esperma rival es otro de los mecanismos posibles para disminuir la intensidad de la competencia espermática (Cordero, 1999; Parker, 1970).

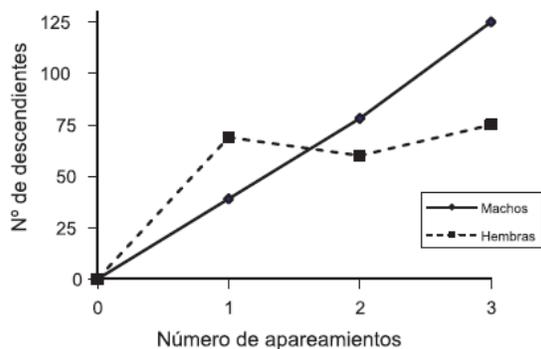
1.3 El principio de Bateman

Bateman (1948) comprobó el éxito reproductivo de machos de *Drosophila melanogaster*, utilizando marcadores genéticos para estimar la cantidad de progenie producida por macho. Machos y hembras fueron colocados juntos para que se cruzaran libremente, estos podrían copular libremente cualquier cantidad de veces de manera que las hembras podrían elegir entre varios machos que competían entre sí por las hembras. Él estableció que los machos conseguían un mayor número de descendientes conforme aumentaba el número de apareamientos, pero las hembras no y además mostraron mayor variación que las hembras en cuanto al éxito reproductivo (Fig. 3). La varianza en la frecuencia de apareamientos y en el número de descendientes era mayor en los machos. Aunque todas las hembras producían progenie el número de progenie que cada hembra producía podría depender no de un éxito sexual, sino de la cantidad de

recursos que ellas tienen que ser capaces de garantizar al ovopositar. También tiene que considerarse que una proporción de machos no copula exitosamente y por lo tanto no deja descendencia, entonces el éxito reproductivo varía más entre machos que entre hembras. A la gran varianza del éxito reproductivo en machos se le conoce como el principio de Bateman y es el resultado de la competencia sexual más intensa entre los machos que surgen de la mayor abundancia de los gametos masculinos (Bateman, 1948).

La posibilidad de conseguir más o menos apareamientos depende de la biología de la especie y este aspecto queda reflejado en la proporción de sexos operativa (PSO) esto va a depender del grado de agrupamiento espacial y temporal del sexo limitante y de las diferencias en la estrategia vital de ambos sexos. La PSO puede variar entre las poblaciones de una especie e incluso en la misma población dependiendo por ejemplo de factores ambientales (Clutton-Brock, 2007).

(A) Éxito reproductivo en función del número de apareamientos



(B) Variación en el número de apareamientos

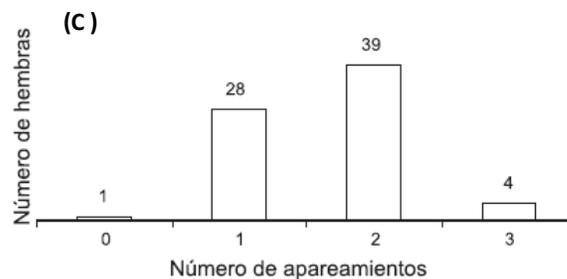
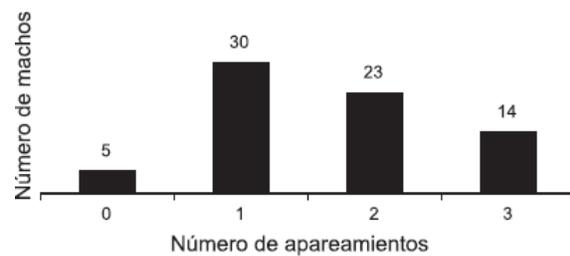


Fig. 3 Resultados del experimento de Bateman en *Drosophila melanogaster* A) éxito reproductivo, medido como el número de descendientes, en función del número de apareamientos. El éxito reproductivo en los machos aumenta con el número de apareamientos. B y C) Variación en el número de apareamientos: los machos muestran más variación en el número de apareamientos que las hembras. La variación fue medida en términos de varianza.

1.4 *Drosophila melanogaster*

Dada su relevancia, en el año 2000 fue completada la secuencia del genoma de *Drosophila melanogaster* (Adams et al., 2000). Este hecho, junto con la multitud de técnicas y herramientas moleculares para su análisis, ha permitido consolidar a *Drosophila* como un sistema experimental *in vivo* de suma importancia.

Drosophila melanogaster también permite la detección de la mayoría de los eventos genéticos inducidos como por ejemplo, la sustitución de pares de bases, no disyunción, mutaciones puntuales, inversiones o translocaciones cromosómicas, recombinación y otros efectos, tanto en células somáticas como en germinales, esto gracias a diferentes metodologías (Graf et al., 1984; Ziljistra & Vogel 1988).

Drosophila posee actividad metabólica (activación – desintoxicación) con la que es capaz de transformar gran variedad de xenobióticos (Baars et al., 1980). También posee enzimas dependientes de citocromos P450 cuya actividad se ha probado que es similar a la encontrada en la fracción S9 del hígado de mamíferos (Clark, 1982; Hällström et al., 1981; Hällstrom et al., 1982.); por lo que muestra alta eficiencia en la detección de metabolitos de vida media corta ya que no requiere de la adición de un sistema metabólico exógeno (Ziljistra & Voguel 1988). Por todo lo anterior *Drosophila melanogaster* es considerada una valiosa especie no-mamífero para pruebas *in vivo* de sustancias con actividad genotóxica (Zimmering, 1987).

Entre las principales ventajas de este organismo modelo se encuentran un ciclo de vida corto (10 días aproximadamente a 25 °C), descendencia abundante, además de que el medio de cultivo y su mantenimiento es de bajo costo.

1.4.1 Cortejo en *Drosophila melanogaster*

En 1970 Patterson propuso que cada especie posee su sistema de reconocimiento específico de cruza (SMRS) que controla el intercambio de información sensorial enviada y recibida por la pareja sexual durante el cortejo (Greenspan, 2000).

Los machos de *Drosophila* inician comportamientos de cortejo en respuesta a diversos estímulos sensoriales, la visión es el sentido más importante que desencadena la conducta de cortejo en los machos. Una vez que un macho encuentra a una hembra, de inmediato comienza a cortejar esto lo hace con la orientación (volviéndose hacia y persiguiendo a la hembra en movimiento); este comportamiento suele ir acompañado de un ligero movimiento de ambas alas o al mover el cuerpo. Cuando está oscuro las señales visuales no están disponibles, pero el macho es capaz de encontrar la hembra usando otras señales. Estas señales (olfato y mecanosensación) funcionan sólo a una corta distancia, por lo que el macho necesita más tiempo de búsqueda para encontrar a la hembra, por lo tanto, la latencia de cortejo se incrementa cuando hay poca luz (Andersson & Simmons, 2006; Giardina *et al.*, 2011; Greenspan, 2000; Griffith y Ejima, 2009; Thistle *et al.*, 2012).

Después de la orientación, el macho toca el cuerpo de la hembra con su pata delantera (tapping). El contacto físico de golpeteo contribuye a la identificación del sexo y especie del objetivo por el macho. Si el macho detecta las feromonas sexuales a través de los órganos gustativos en su pata delantera, el cortejo se pasa a la etapa siguiente, la vibración del ala. La vibración consiste en el movimiento repetido de un ala que produce una canción de cortejo esta canción es específica de cada especie. Un buen canto de cortejo hace que la hembra sea receptiva a la cópula. La audición es también importante para los propios machos, un macho escucha y afina su propia canción y el canto de cortejo. En general los

pasos en el cortejo de *Drosophila* son: Orientación seguido de un toque, canto, lameteo , intento de cópula y cópula (Greenspan, 2000) (Fig. 4).

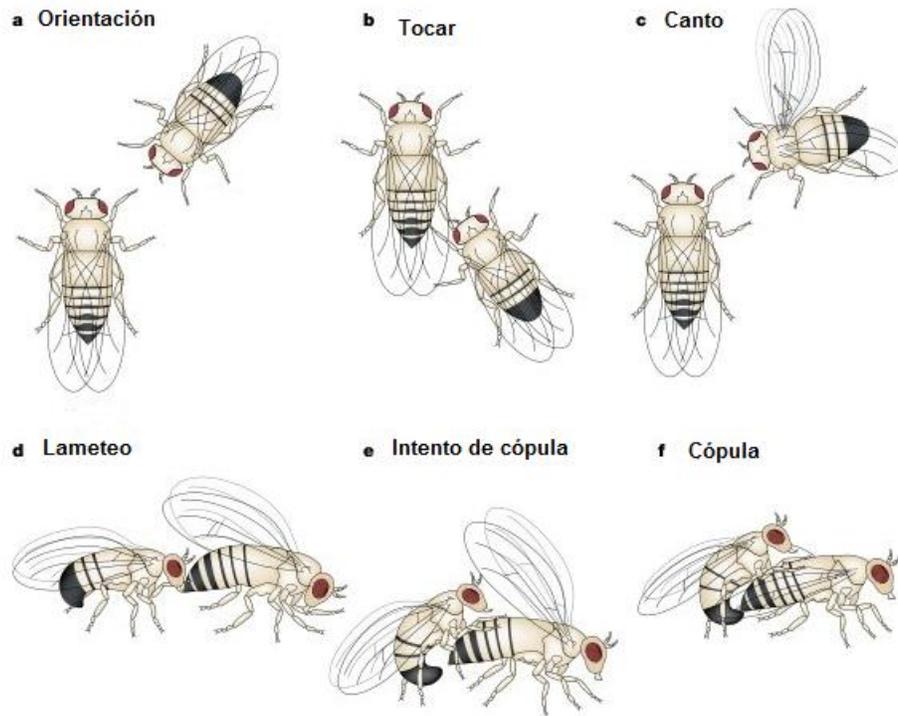


Fig. 4 Se muestra las diferentes etapas del cortejo de *Drosophila melanogaster*. Modificado de Greenspar, 2000.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Evaluar el desempeño reproductor de *Drosophila melanogaster* en relación con el daño genético.

2.1.2 Objetivos particulares:

- Determinar la eficiencia reproductiva de moscas mutantes y silvestres.
- Evaluar la preferencia de hembras hacia machos mutantes vs silvestres en diferente proporción de sexos operativa (PSO) de machos y hembras.
- Evaluar la frecuencia de apareamientos en diferentes PSO
- Establecer si las hembras pueden descartar entre machos con posible daño genético.

3. HIPÓTESIS

La exposición de machos a factores de riesgo puede provocar cambios que sean detectados por las hembras y por consecuencia éstas preferirán elegir como pareja reproductiva a aquellos machos que no fueron expuestos.

4. ANTECEDENTES

El principal objetivo de cualquier organismo es dejar descendencia, es decir, el reproducirse. La selección natural opera a nivel de individuo y favorece a aquellos que sobrevivan e incorporen un mayor número de descendientes a la siguiente generación, por consiguiente cabe esperar una alta competencia entre individuos de la misma especie en cuanto al comportamiento reproductor.

En especies donde la descendencia se obtiene por medio de la reproducción sexual, se tiene que buscar la pareja adecuada para obtener la mayor descendencia posible con la mejor calidad, esto en términos genéticos, ya que asegurar la transmisión de la mejor calidad de información genética aseguraría la adaptación y supervivencia de los organismos.

En la naturaleza los organismos están expuestos a diferentes condiciones ambientales, tales como la exposición a algún contaminante o algún compuesto químico, físico o biológico potencialmente peligroso. La exposición a concentraciones o niveles altos de compuestos no tiene relevancia evolutiva en cuanto a promover cambios en los organismos ya que con frecuencia conducen a la letalidad, en contraste con la exposición a concentraciones o niveles sub-letales que pueden alterar habilidades competitivas de comportamiento de los organismos alterando la integridad de su material genético y perdiendo la oportunidad de reproducción y de transmisión de sus genes.

Esto podría ocurrir al momento de elección de pareja en el que aquellos organismos que estuvieron expuestos fueran identificados y no se eligieran como pareja reproductiva. Por lo que en este trabajo se busca esclarecer si los organismos son capaces de identificar o de reconocer a organismos expuestos a un compuesto y que por lo tanto afectará su probabilidad de ser elegidos para dejar descendencia y la transmisión de sus genes a las siguientes generaciones.

5. METODOLOGÍA

5.1 Compuestos

5.1.1 Azida de sodio (NaN_3)

Se utilizó al mutágeno de referencia Azida de Sodio (NaN_3) [CAS 26628-22-8]. Es una sal altamente soluble en agua poco soluble en alcohol y relativamente estable. Es un agente altamente tóxico inhibidor de la citocromo oxidasa por lo que interfiere con la cadena respiratoria. La actividad mutagénica se debe a la producción de un metabolito (L-azidoalanina) producido por la enzima O-acetil serina sulfridilasa (Owais *et al.*, 1979; Owais *et al.*, 1978).

La toxicidad de la azida de sodio ha sido reportada en distintos organismos: bacterias, algas, gusanos, insectos plantas superiores y vertebrados, aunque algunos resultados han sido contrastantes entre las mismas especies (Owais y Kleinfors, 1988).

Es considerada mutagénica en bacterias, plantas y en cultivos celulares de mamíferos y en *Drosophila melanogaster* se ha probado que induce mutación y recombinación en células somáticas (Arenaz, *et al.*, 1989; González y Ramos, 1997; Of y Azide, 1979; Ramos-Morales *et al.*, 2010; Winter *et al.*, 2012)

Los múltiples usos de la azida de sodio abarcan a la agricultura en la cual la emplean como un fungicida, nematicida y desinfectante de granos en la medicina lo usan como un conservador de productos de diagnóstico y en la industria automotriz se emplea para inflar bolsas de aire en los automóviles. En investigación se utiliza como inhibidor respiratorio y bactericida selectivo ya que suprime a la catalasa, la peroxidasa y desacopla a la citocromo oxidasa (Wilcox, 1994)

5.2 Líneas de moscas

Para poder determinar la preferencia sexual de *Drosophila melanogaster* se utilizaron a moscas de la línea silvestre C-S (Canton -S) y a cepas de moscas que presentaban marcadores morfológicos recesivos ligados al cromosoma X, que nos permiten establecer qué macho fecundó a la hembra por medio de la progenie obtenida (se utilizaron hembras *ywf*). Los marcadores recesivos se describen a continuación: (Fig. 5)

y¹ (yellow) : Se localiza en el cromosoma 1 a 1um. Produce color del cuerpo amarillo pelos y sedas color café, pelos y venas de las alas amarillos.

w¹ (white) : se encuentra en el cromosoma 1 a 1.5um codifica para ojos blancos puro.

f¹(forked) : está en el cromosoma 1 a 56.7um, las sedas son acortadas nudosas y bifurcadas, con las puntas abiertas, pelos acortados de forma similar.

ywf : presenta cuerpo amarillo ojos blancos y sedas acortadas.

yw : tiene cuerpo amarillo y ojos blancos.

yf : presenta cuerpo amarillo y sedas acortadas.

wf : tiene ojos blanco puro y sedas acortadas.

5.3 Evaluación de la eficiencia reproductiva de mutantes y silvestre.

Para evaluar la eficiencia de moscas mutantes y silvestres se realizaron 50 cruzas individuales para cada uno de los marcadores genéticos *y*, *w*, *f*, *yw*, *yf*, *wf* *ywf* y silvestres. Se colocó una hembra por un macho en un tubo homeopático con medio de cultivo estándar para mosca. A los cinco días se eliminaron los padres. Transcurridos diez días se procedió a contar a la progenie producida de cada una de las 50 cruzas individuales por marcador genético.

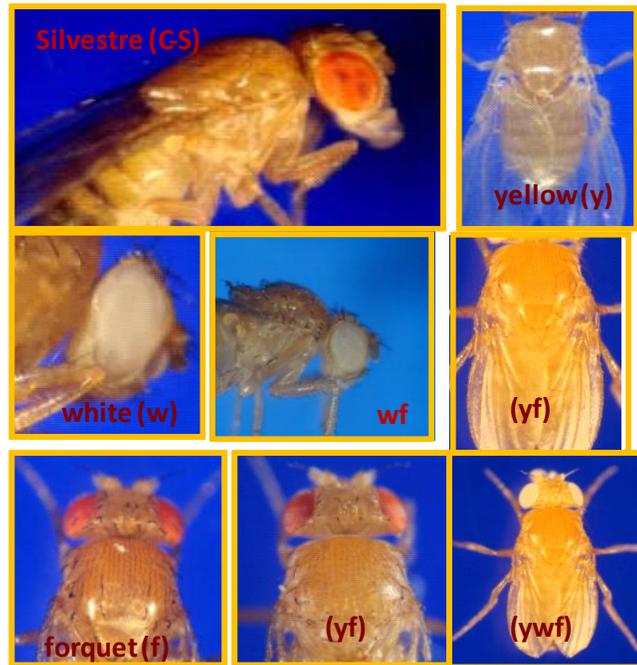


Fig 5 Líneas de moscas utilizadas , silvestre (C-S), white(w) , yellow (y), forked (f), yellow white forked (ywf), white forked (wf) , yellow white (yw), yellow forked (yf).

5.4 Evaluación de la preferencia de hembras hacia machos mutantes vs silvestres en diferentes Proporciones Sexuales Operativas.

Para establecer la preferencia de las hembras para la elección de pareja reproductiva (mutantes vs silvestres) se realizaron cruza masivas con diferentes proporciones de sexos operativa hembras:machos (04:01, 03:01, 02:01, 01:01, 01:02, 01:03, 01:04) ♀♀ con fenotipo *ywf* x ♂♂ con los fenotipos: *w*, *y*, *f*, *yw*, *yf*, *wf*, *ywf* ó silvestres (Tabla. II). Debido a que se utilizaron marcadores genéticos recesivos que están localizados en cromosoma sexual (X), el fenotipo de la descendencia, en especial el fenotipo de las hijas resultantes de las cruza

indicará el genotipo del macho que fecundó a la hembra (Fig. 6). Las cruizas masivas de cada relación se dejaron por dos días en medio de cultivo estándar.

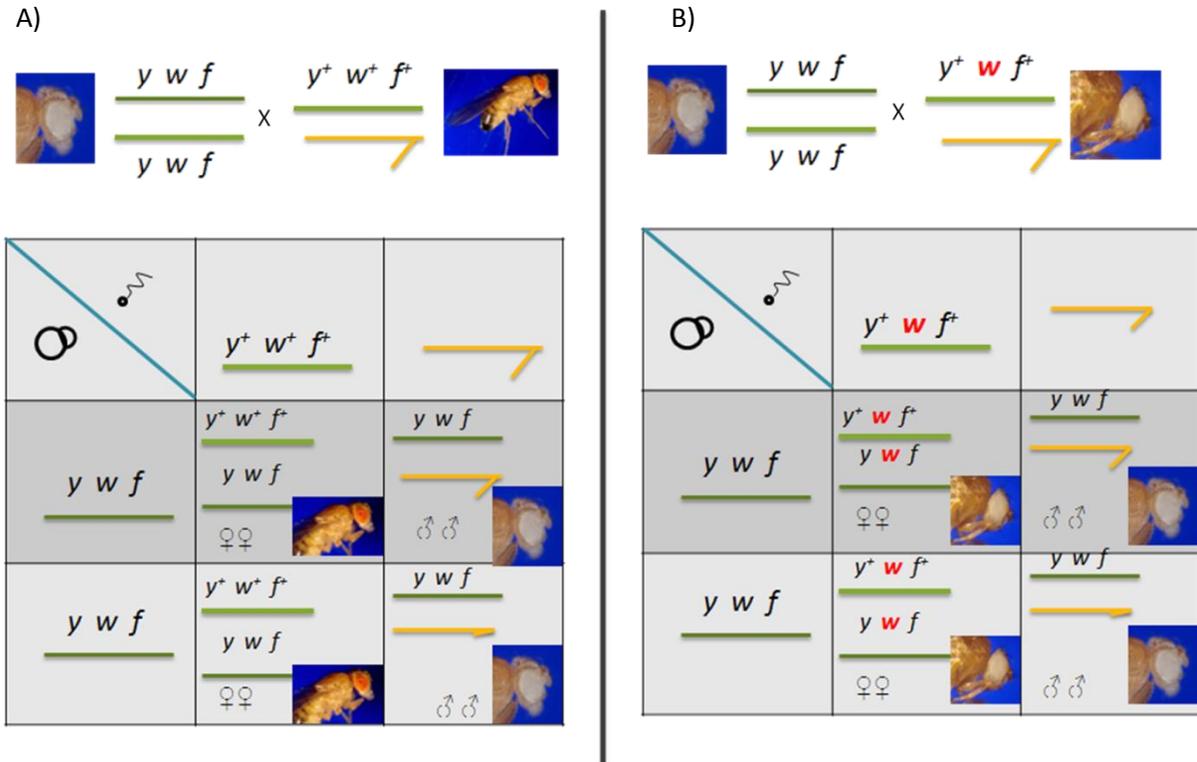


Fig. 6 A) Se muestra el tipo de progenie obtenida cuando un macho silvestre fecunda a una hembra ywf. La progenie que se obtiene son hembras con fenotipo silvestre (igual que el macho progenitor) y machos ywf (igual que la hembra progenitora). B) Se muestra la progenie obtenida cuando un macho white fecunda a una hembra ywf. La progenie obtenida son hembras white y machos ywf.

Posteriormente se sembraron las hembras de cada PSO en tubos con medio de cultivo, se colocó una hembra por tubo y se esperó a que emergiera la progenie para así establecer qué tipo de macho fecundó a las hembras, la preferencia de las hembras hacia los machos mutantes y se estimó el número de veces en la que una hembra fue copulada a lo que se le denominó frecuencia de cópula.

Tabla II. Número de machos de cada fenotipo para cada una de las PSO.

PSO	Machos								Hembras	Total	
	y	w	f	yw	wf	yf	ywf	sil	Machos	ywf	
04:01	3	3	3	3	3	3	3	3	24	96	120
03:01	4	4	4	4	4	4	4	4	32	96	128
02:01	5	5	5	5	5	5	5	5	40	80	120
01:01	8	8	8	8	8	8	8	8	64	64	128
01:02	10	10	10	10	10	10	10	10	80	40	120
01:03	12	12	12	12	12	12	12	12	96	32	128
01:04	12	12	12	12	12	12	12	12	96	24	120
									432		
Total	54										

5.5 ¿Las hembras pueden descartar entre machos con posible daño genético?

Una vez que se estableció la PSO en la que se obtuvo un mayor número de progenie se procedió a tratar a los machos silvestres con el mutágeno de referencia Azida de Sodio.

A partir de un cultivo maduro de moscas silvestres se colectaron huevos transfiriendo la cruda a medio fresco por 8 horas. Tres días después se obtuvieron larvas de tercer estadio (72 ± 4 h) las cuales fueron extraídas con el procedimiento de Nöthinger (1970) el cual consiste en separar larvas del medio de cultivo mediante una solución concentrada de sacarosa al 20%. La solución se vertió en un embudo de separación en el que las larvas, al tener una menor densidad que la solución de sacarosa, flotan y de esta manera pueden ser extraídas en grandes cantidades y con un mínimo de estrés. Posteriormente se enjuagaron para

eliminar los restos de medio y de la solución de sacarosa y se capturaron en una malla de nylon. Enseguida se colocaron grupos de aproximadamente 100 larvas en tubos homeopáticos que contenían medio de cultivo (Carolina Biological Supply) hidratado con agua destilada ó el mutágeno.

Las larvas tipo silvestre se colocaron en tubos de 10 ml de capacidad que contenían 1 g de medio instantáneo para mosca (Carolina Biological Supply) y 4.5 ml de agua destilada como testigo ó 4.5 ml de la solución de azida de sodio en diferentes concentraciones que van desde 1.13×10^{-13} a 3.6 mM, las cuales ya han sido probadas para inducir efecto genotóxico pero sin presentar letalidad en los organismos expuestos (Ramos *et al.*, 2010). Las concentraciones se prepararon por diluciones sucesivas a partir de la mayor concentración probada. Los tubos se taparon con un tapón de hule espuma y se dejó que las larvas permanecieran en los tubos hasta que inició la metamorfosis y posteriormente se recobraron las moscas adultas las cuales fueron contabilizadas y se obtuvo el índice de sobrevivencia y la proporción de sexos con las siguientes fórmulas:

$$IS = \frac{\text{\# moscas del lote experimental}}{\text{\# moscas en el lote testigo}}$$

$$P_{sex} = \frac{\text{\# de machos} \times []}{\text{\# moscas recobradas por []}}$$

Para la siguiente etapa del tratamiento se seleccionó la concentración 3.8×10^{-6} ya que aquí se encontró una sobrevivencia similar al testigo; de esta concentración se obtuvieron machos los cuales se colocaron junto con machos mutantes no tratados y hembras vírgenes no tratadas en una proporción 01:01 para así establecer si las hembras discriminan entre los machos expuestos y los no expuestos. Esto se realizó en cruce masiva en una proporción 01:01, posteriormente, para poder descartar la posibilidad de que los resultados sobre la preferencia de hembras hacia los machos silvestres ya sea que estén tratados o no, se deba a que en las cruces masivas a ciencia cierta no se puede establecer si la progenie obtenida está dada por la cópula de todos los machos silvestres

puestos a la selección o que sólo unos son los que pueden copular con todas las hembras, se procedió a realizar cruza individuales en las que se colocó un macho de cada fenotipo mutante y el macho silvestre con hembras vírgenes esto se realizó 20 veces, tanto para el lote experimental como para el lote testigo.

Para tratar de esclarecer los resultados, se realizó nuevamente el tratamiento a machos silvestres que se colocaron con machos mutantes y hembras vírgenes, realizando los tres sistemas de cruza 1:8, 8:8 y 64:64 (cruza masiva), pero ahora una vez transcurridos dos días, cada hembra fue colocada en un tubo por tres tiempos diferentes para recolectar la progenie por intervalos, es decir, una hembra se colocó en un tubo por dos días (transvase 1) después esta misma hembra fue colocada en otro tubo con alimento fresco por otros dos días, (transvase 2) y finalmente fue colocada en un tercer tubo con alimento fresco (transvase 3), esto para ver si la respuesta se está dando a nivel post-cópula.

Posteriormente, los mutantes más seleccionados por las hembras (*w*) fueron tratados con la azida de sodio, para determinar si las hembras presentaban una tendencia diferente al ser ahora machos mutantes los tratados.

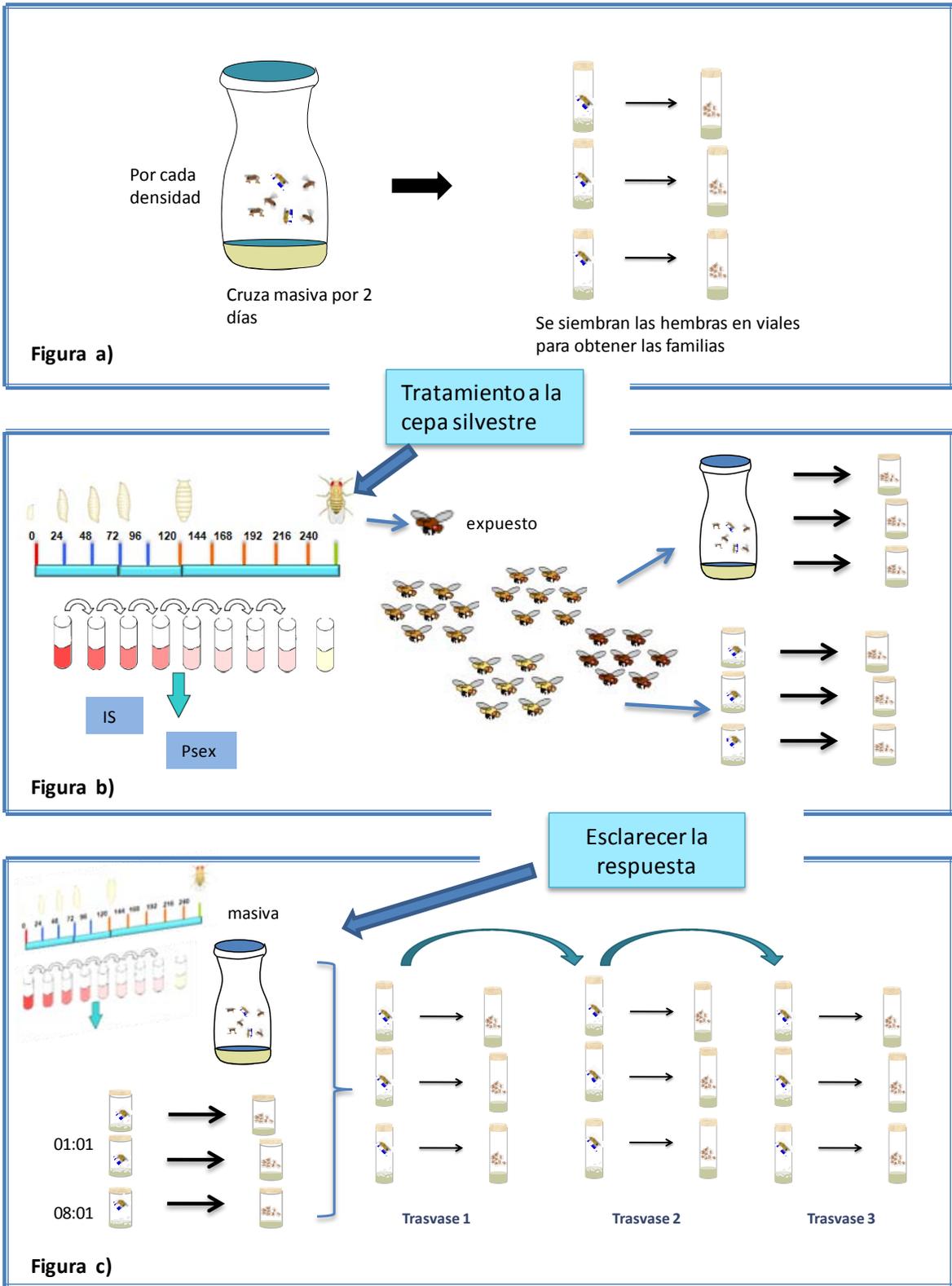


Fig. 7. Resumen de la metodología utilizada en el presente trabajo. Índice de sobrevivencia (IS). Proporción de sexos (Psex)

6. RESULTADOS

6.1 Evaluación de la eficiencia reproductiva de mutantes y silvestres.

En la figura 8 se muestran los resultados (promedio \pm ee) de la eficacia reproductiva de los machos por genotipo (*y*, *w*, *f*, *yw*, *wf*, *ywf*, *yf* y *silv*) en las dos ocasiones probadas. Se encontró que la cantidad de progenie se ve modificada por el marcador genético, las moscas silvestres (CS) tienen más progenie que todos los mutantes utilizados ($p < 0.05$) (Tukey $p < 0.05$). Los mutantes con menos progenie fueron las cepas *yw*, y *yf*.

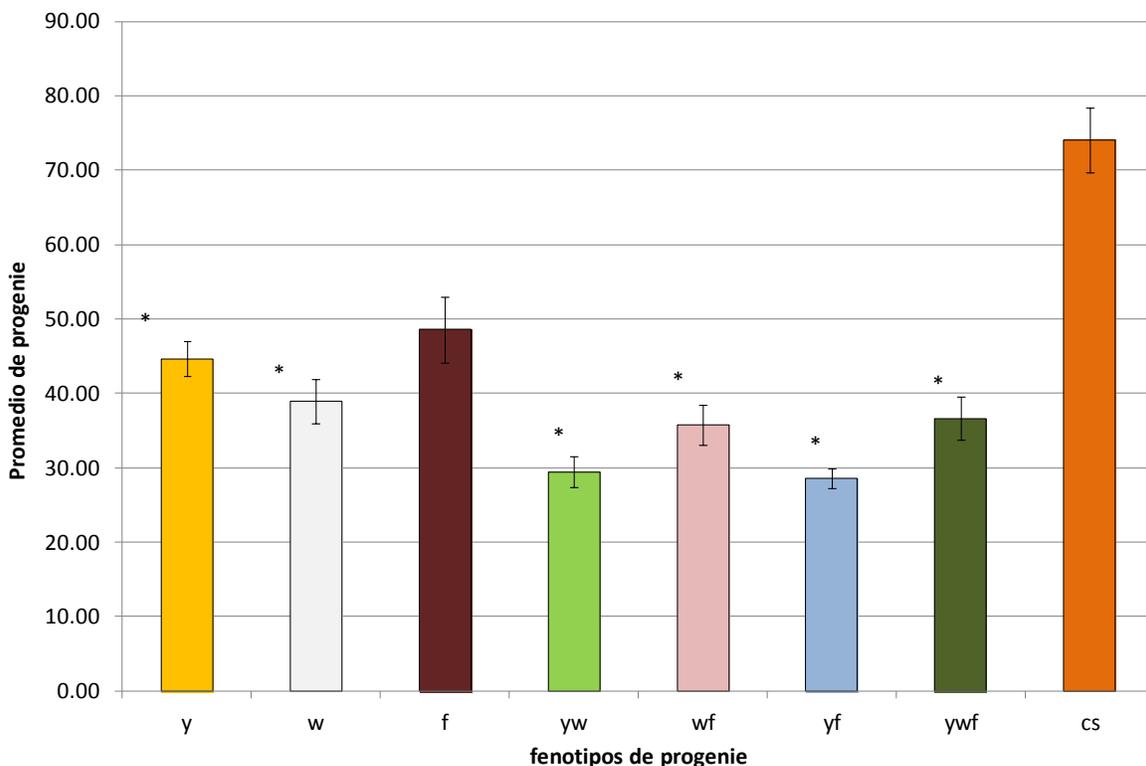
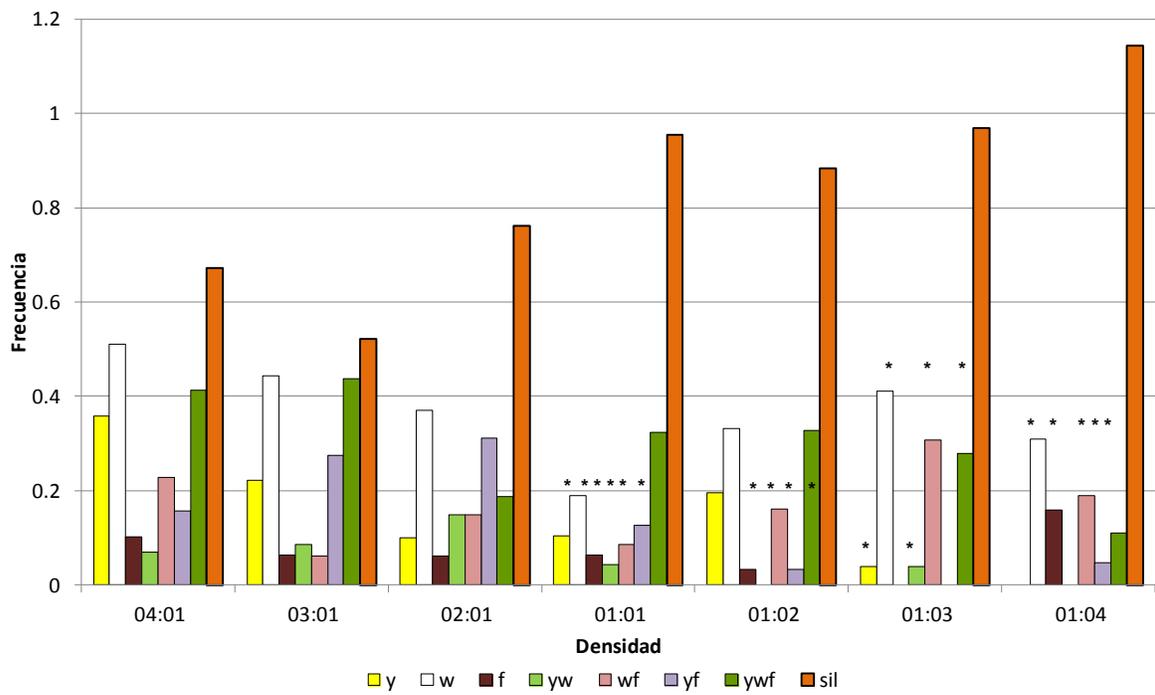


Fig. 8 Progenie promedio por macho por marcador genético.* Valores significativos (ANOVA $P < 0.05$)

6.2 Evaluación de la preferencia de hembras hacia machos mutantes vs silvestres en diferentes Proporciones Sexuales Operativas

En cuanto a la preferencia de las hembras por machos mutantes vs silvestres se encontró que en todas las densidades la progenie mostró que a la mayoría de las hembras las fecundaron machos silvestres (Fig. 9), esto en todas las proporciones evaluadas de hembras y machos, aunque se puede observar que se recobran organismos silvestres en menor frecuencia en las proporciones donde el número de hembras es mayor en comparación con los machos (04:01, 03:01, 02:01) (Fig. 9).

Debido a que se utilizaron marcadores recesivos ligados al cromosoma X, el fenotipo encontrado en la progenie, además de que nos permite establecer qué macho fecundó a la hembra también ayuda a determinar cuál es el genotipo de la progenie obtenida. En relación con los machos mutantes se observó que después de los machos silvestres, las hembras prefieren a machos con genotipos similares al de ellas, los machos que siguen en orden de preferencia son los que tienen el ojo color blanco después machos que presentan ojos blancos y cerdas del cuerpo rizadas. Los machos menos preferidos son los que presentan ojo blanco cuerpo amarillo y finalmente los machos que tienen cerdas rizadas. El orden de preferencia es *silvestres* > *w* > *ywf* > *y* > *wf* > *yf* > *yw* > *f* encontrando diferencias significativas para cada genotipo y proporción comparado con el genotipo silvestre (ANOVA < 0.05) (Tukey $p < 0.05$) (Fig. 10).



Fi **Figura 3. Densidad hembras:machos**
 (Comparados con el sistema parental 1:1)

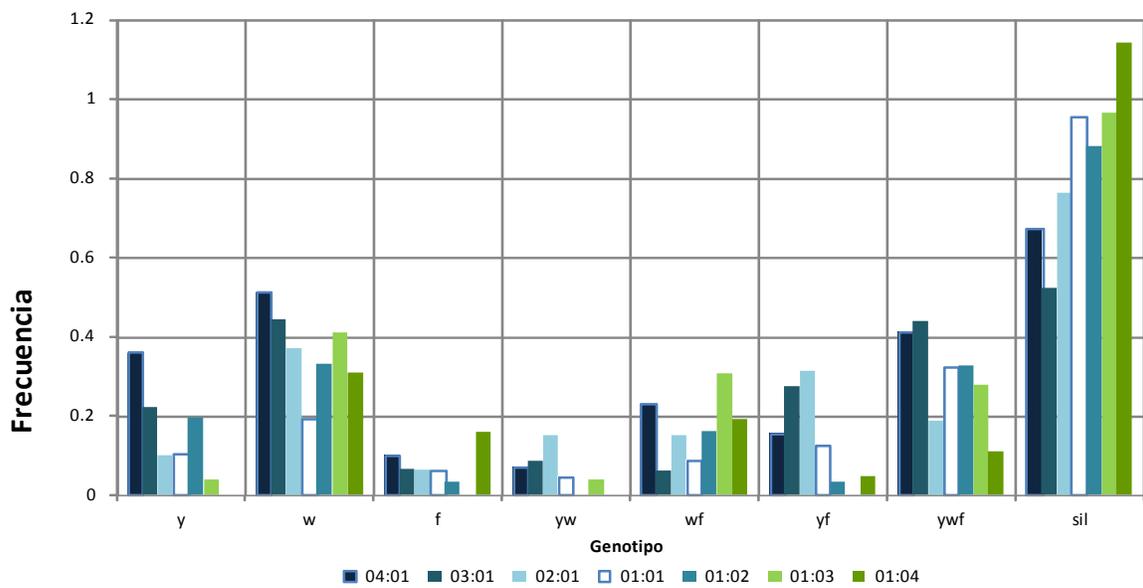


Fig. 10 Frecuencia promedio de los genotipos presentes en cada una de las proporciones

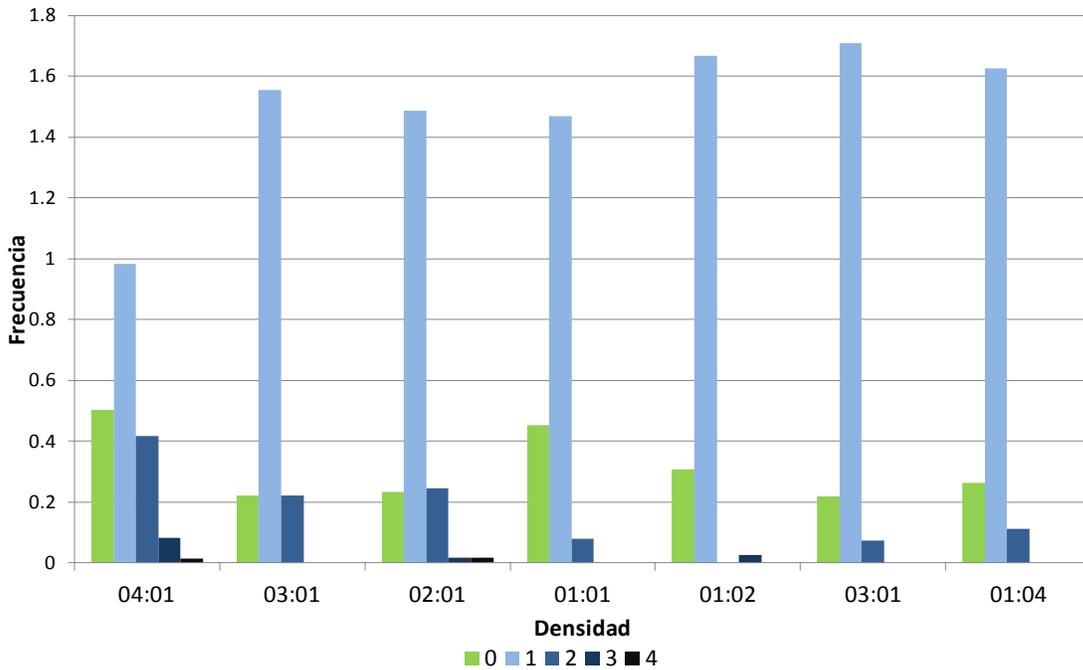


Figura 1. Número de apareamientos por densidad

Fig11. Frecuencia de apareamientos por proporción Sexual Operativa.

La frecuencia de apareamientos se estableció por el tipo de progenie que se recobraba por tubo, es decir, si una hembra tuvo tres diferentes fenotipos en su progenie se puede afirmar que al menos copuló con tres machos diferentes. En las PSO donde había un mayor número de hembras con relación a machos se encontraron hembras que fueron fecundadas hasta por cuatro machos diferentes esto en la proporción de cuatro hembras por un macho (04:01) (Fig. 11).

En la figura 12 se muestra el promedio de la progenie obtenida para cada una de las proporciones evaluadas. En las densidades 01:01 y en 02:01 donde la proporción de sexos es equilibrada, el promedio de progenie es mayor en comparación con aquellas proporciones donde el número de hembras es mayor con respecto a los machos (04:01,03:01).

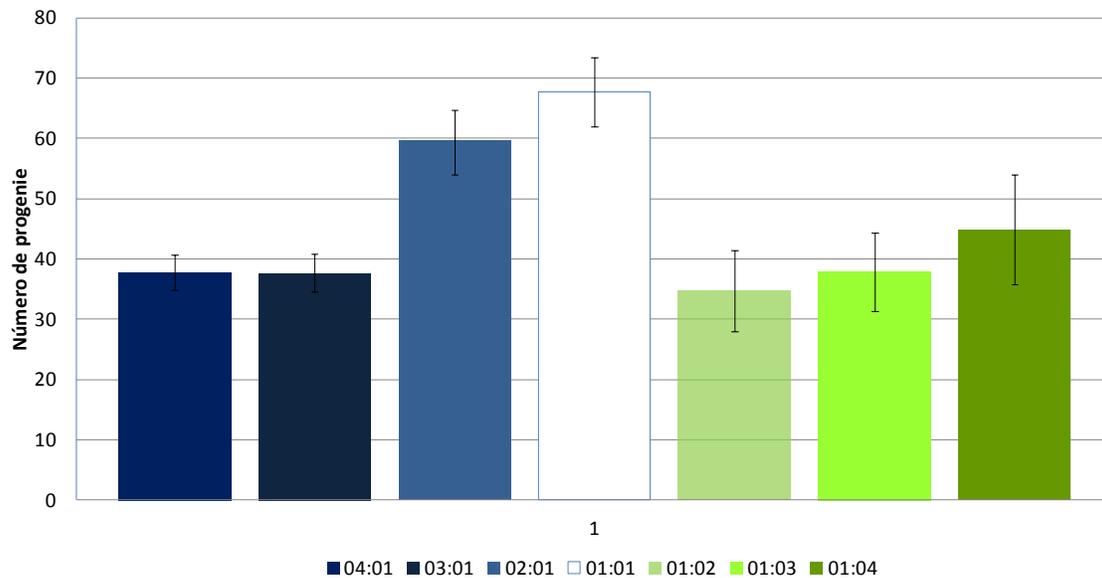


Figura 2. progenie promedio por densidad de macho

6.3 ¿Las hembras pueden descartar entre machos con posible daño genético?

Una vez que se estableció que la preferencia de las hembras favoreció al fenotipo silvestre y tomando en cuenta que en la proporción 01:01 se obtuvo un mayor número de organismos, se procedió a dar tratamiento a los machos silvestres con un mutágeno de referencia (NaN_3) En la Tabla III se muestra el IS y la Psex (tres experimentos) de moscas de tipo silvestre (C-S) obtenidas del tratamiento con NaN_3 . Sólo se encontraron diferencias significativas en las concentraciones más altas observándose toxicidad (Fig. 13).

Tabla III Índice de sobrevivencia (IS) y Proporción de machos (Psex) de moscas expuestas al tratamiento con Azida de Sodio (NaN₃) (promedio ± error estándar, ee)

NaN ₃ []	N	IS	±	ee	PSex	±	ee
0	800	1	±	0	0.43	±	0.02
1.13E-13	617	0.798	±	0.01	0.48	±	0.03
1.8E-12	704	0.965	±	0.01	0.49	±	0.00
1.5E-11	731	1.031	±	0.06	0.51	±	0.03
1.9E-09	663	0.934	±	0.01	0.47	±	0.04
2.4E-07	677	0.952	±	0.03	0.48	±	0.02
3.8E-06	717	0.929	±	0.02	0.45	±	0.02
3.1E-05	749	1.051	±	0.03	0.49	±	0.06
4.9E-04	804	1.081	±	0.03	0.48	±	0.01
0.125	463	0.588*	±	0.06	0.50	±	0.07
Σ= 6925							

* Valores Significativos ANOVA. P<0.05 (Tukey<0.05).

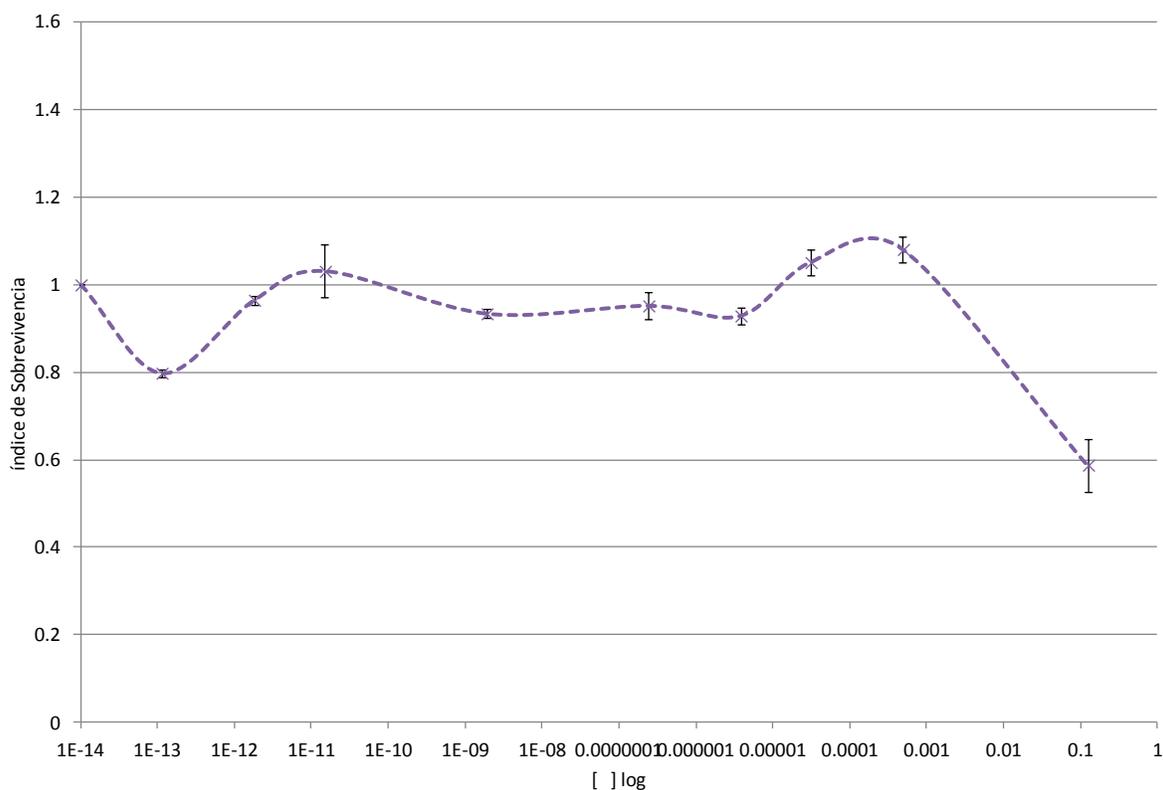


Fig. 13 Índice de sobrevivencia del tratamiento NaN₃ en función del logaritmo de la concentración.

Para la siguiente etapa de la metodología, se seleccionó la concentración 3.8×10^{-6} de azida de sodio en la que la sobrevivencia es similar a la de las moscas testigo (Tabla III). Posteriormente los machos que se recobraron en la concentración seleccionada fueron colocados junto a machos mutantes no expuestos para la selección de las hembras realizando una “cruza masiva”.

Al comparar el número de organismos recobrados mutantes vs silvestres tanto para el lote testigo y lote experimental se encontró que prevalece un mayor número de organismos de fenotipo silvestre para ambos lotes, aunque se recobró menor cantidad de progenie en el lote testigo ($Z_{0.05}=1.96$; $p<0.05$) (Fig. 14). En la figura 15 se muestra la preferencia de las hembras hacia los distintos tipos de machos en la que se mantiene hacia el fenotipo silvestre a pesar de que se obtuvo una menor frecuencia en el lote donde los machos no han sido expuestos. Para la frecuencia de apareamientos se encontró que la mayoría de las hembras copuló con un macho esto en el lote testigo y en el experimental, pero en cuanto a la frecuencia de dos cópulas se encontró en mayor frecuencia en el lote experimental (Fig.16).

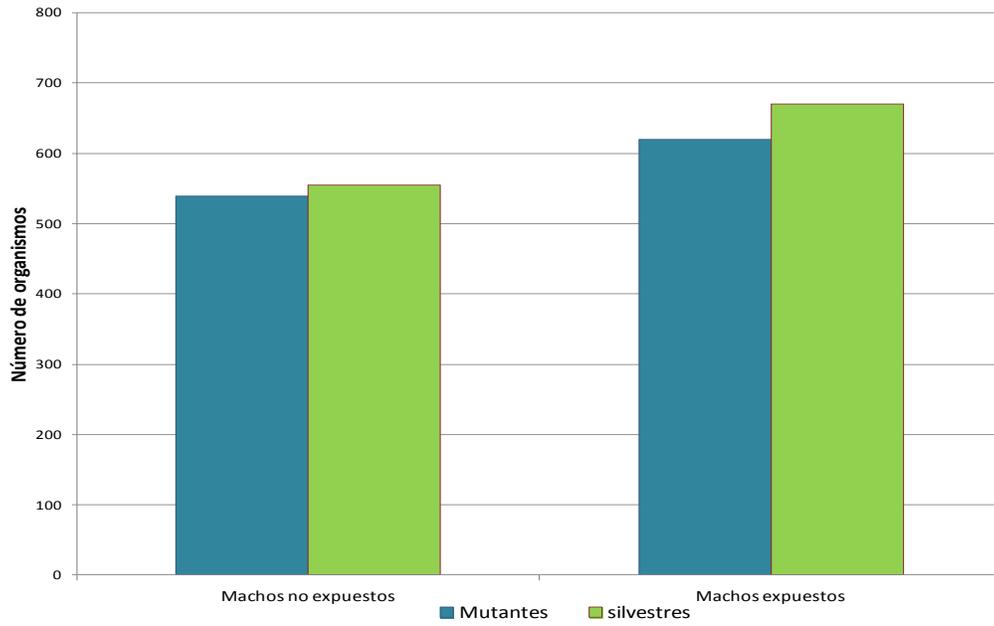


Fig. 14 Número de organismos recobrados con fenotipo mutante y fenotipo silvestre. Lote testigo y lote experimental .Cruza masiva. Prueba de Z para proporciones ($Z_{0.05}=1.96$; $p<0.05$) para cada lote.

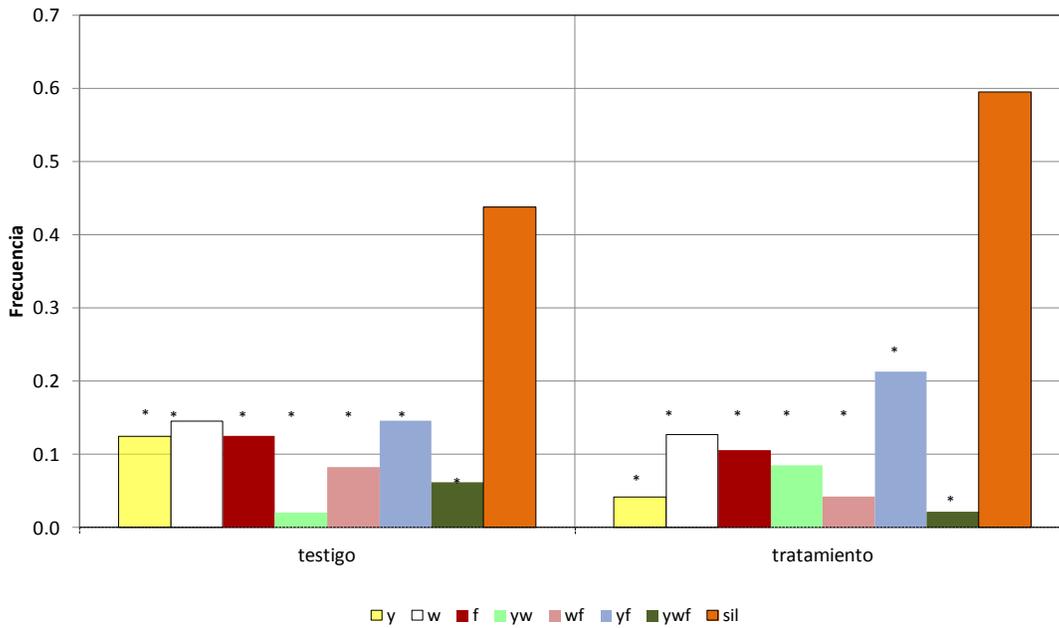


Fig. 15 Frecuencia de fenotipos recobrados en el lote experimental y el lote testigo "cruza masiva" * Valores significativos con respecto al silvestre (ANOVA $P<0.05$).

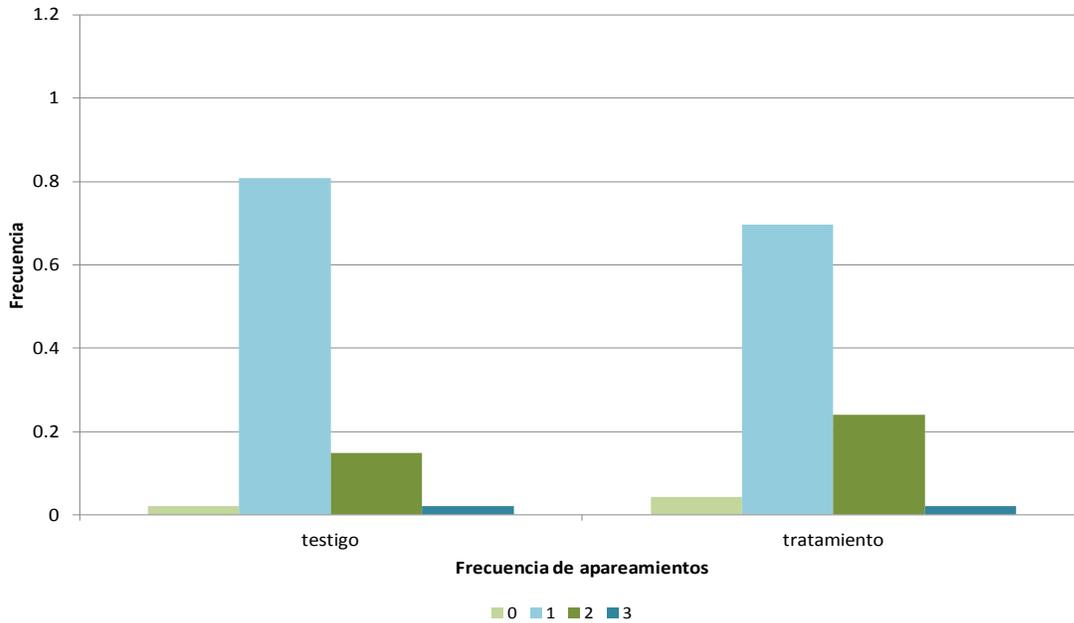
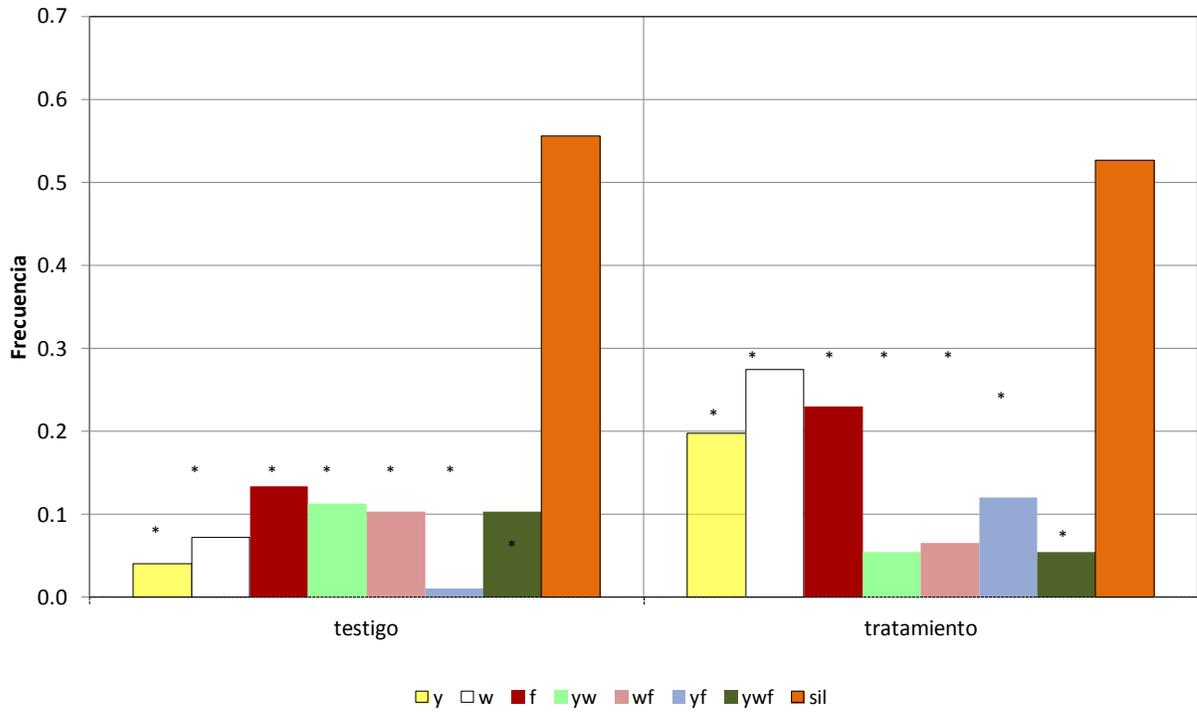


Fig. 16 Frecuencia de apareamientos en el lote testigo y experimental "cruza masiva"

Al partir de los resultados obtenidos para cada uno de los lotes realizados en la cruce masiva se puede establecer que en general, la preferencia es hacia los machos silvestres, pero al estar varios machos silvestres en el mismo espacio no se puede establecer si la progenie silvestre recobrada procede de uno ó varios machos silvestres, lo que podría estar enmascarando la respuesta obtenida al producir una frecuencia mayor para el fenotipo silvestre. Para aclarar este aspecto, en el paso siguiente, se colocaron hembras vírgenes con 8 machos, uno de cada fenotipo, a lo que se denominó cruce individual.

En la figura 17 se presenta la frecuencia de los organismos recobrados de las cruces individuales por cada uno de los marcadores utilizados y se encontró que en el lote testigo la frecuencia de organismos silvestres es mayor. En el lote experimental la frecuencia de organismos silvestres es mayor pero también se observa que las frecuencias de organismos mutantes y , w y f son mayores en comparación con las registradas en el lote testigo.



Fenotipos presentados en el testigo y tratamiento
Fig. 17 Frecuencia de fenotipos recobrados en el lote experimental y el lote testigo "cruza individual"* Valores significativos con respecto al testigo (ANOVA P<0.05).

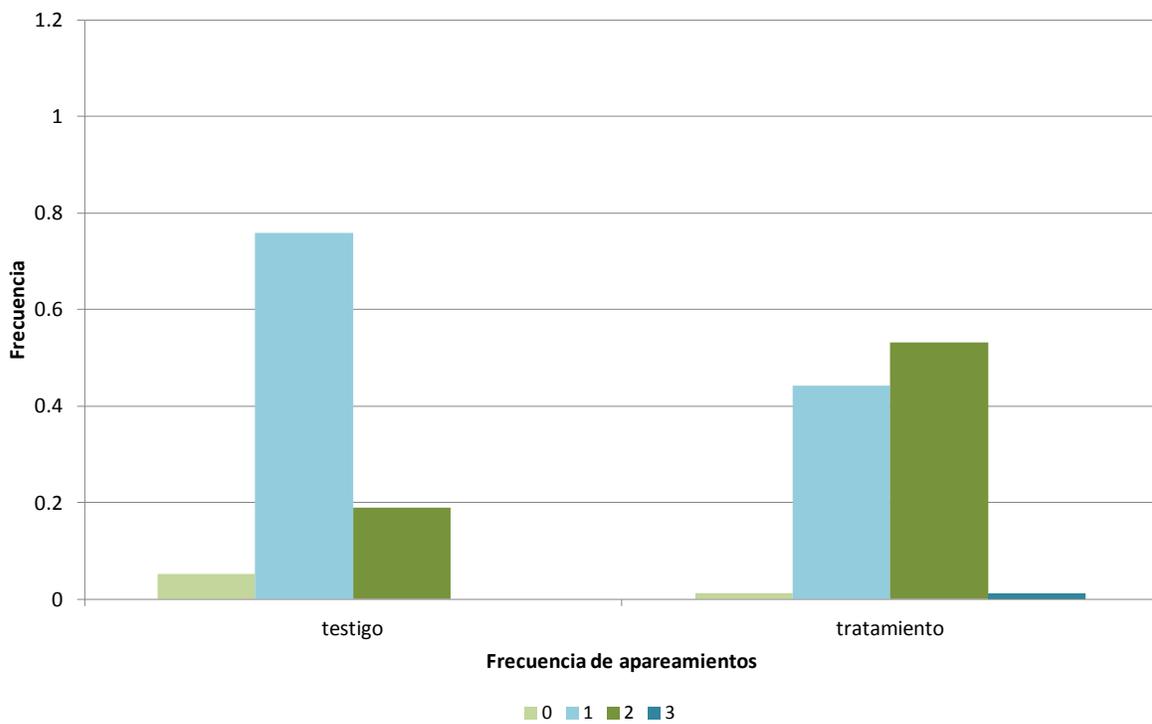
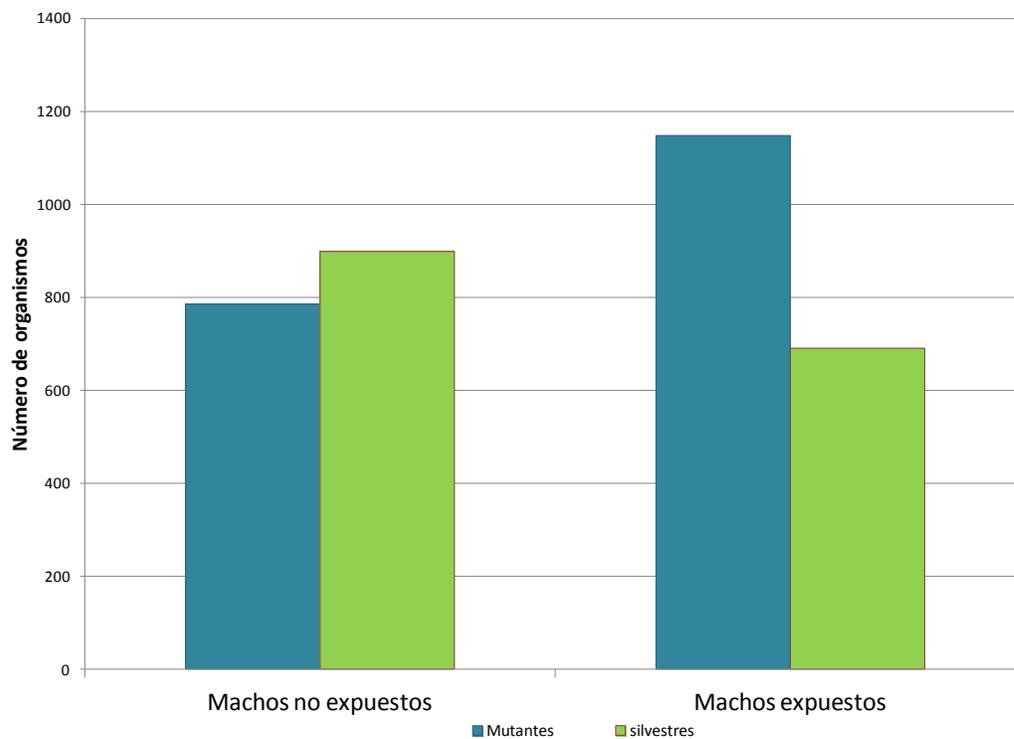


Fig. 18 Frecuencia de apareamientos en el lote testigo y experimental "cruza individual"

Con respecto a la frecuencia de apareamientos en las cruzas individuales del lote testigo la mayoría de las hembras fueron fecundadas una sola ocasión, mientras que en el lote experimental la mayoría de las hembras fueron fecundadas por dos machos (Fig. 18).

En cuanto al número de organismos recuperados (silvestres o mutantes) esto para el lote experimental o de tratamiento, se registró un mayor número de organismos con fenotipo mutante, en comparación lote en el que el número de organismos silvestres es mayor ($Z_{0.05}=1.96$; $p<0.05$) (Fig. 19).



**Fig. 19 Número de organismos recobrados mutantes y silvestres en el lote testigo y experimental "cruza individual".
Prueba de Z para proporciones ($Z_{0.05}=1.96$; $p<0.05$)**

Para tratar de explicar si la respuesta está dada a nivel post-copulatorio se realizaron tres transvases de las hembras en los tres sistemas de cruzas (01:08, 08:08 y masiva) para obtener la progenie.

6.3.1 Resultados transvase 1

En la PSO 8:8 se recobró mayor cantidad de progenie ($p < 0.05$) esto para el lote testigo, pero en los otros sistemas de cruza no se encontraron diferencias significativas (Fig. 20). En cuanto a la elección del fenotipo las hembras seleccionaron a los machos silvestres tanto en el lote testigo como en el experimental, aunque en menor frecuencia en este último para los tres sistemas de cruza (Fig. 21). También se encontraron diferencias entre los machos mutantes seleccionados por las hembras en el lote testigo, después de los machos silvestres, las hembras eligen a los machos tipo white (ANOVA $p < 0.05$, Tukey $p < 0.05$) (Fig. 22).

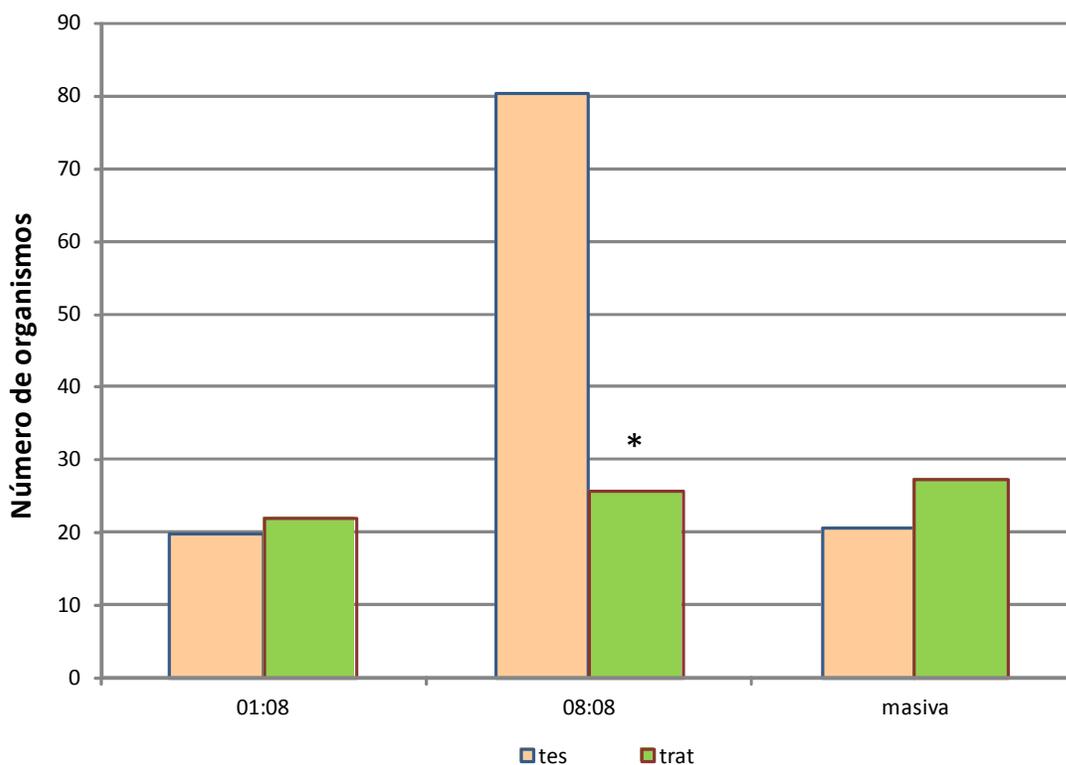


Fig. 20 Número de organismos promedio (sin importar el fenotipo) recobrados en los tres sistemas de cruza transvase 1.

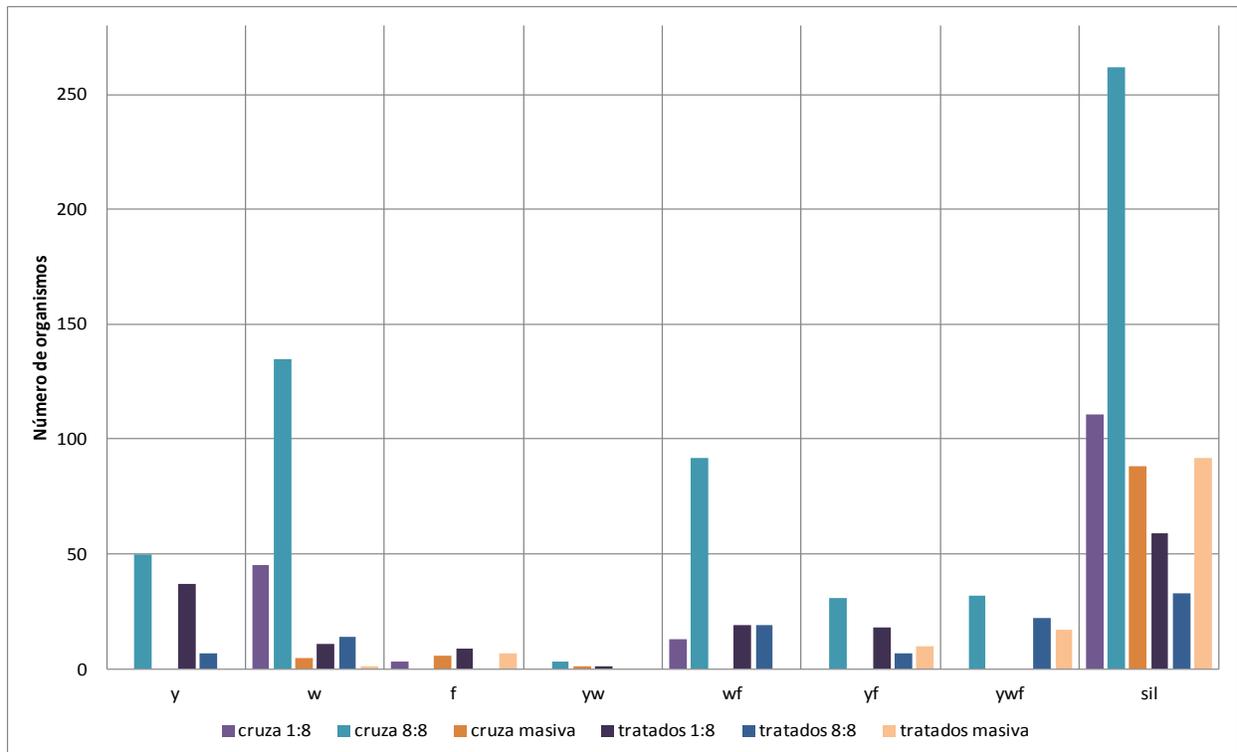


Fig. 21 Número de organismos de cada fenotipo presentados en los tres sistemas de cruza (trasvase 1) en el lote experimental y en el testigo.

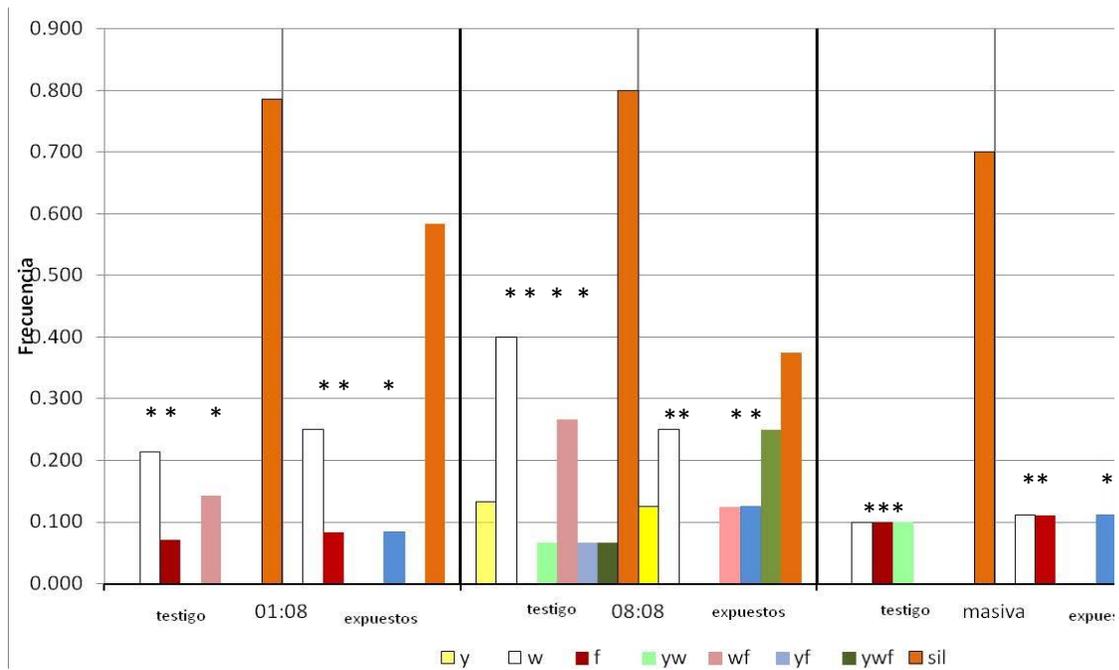


Fig. 22 Fenotipos presentados en el lote de machos testigo y expuestos (en los tres sistemas de cruce trasvase 1) * Valores significativos (ANOVA $p < 0.05$ Tukey $p < 0.05$).

6.3.2 Resultados trasvase 2

Para el trasvase 2 se observó que en el lote de machos testigo el número de organismos recuperados fue mayor con respecto al lote de machos expuestos, esto en todas las PSO (Fig. 23) y en el lote de machos testigo el fenotipo que predominó fue el silvestre.

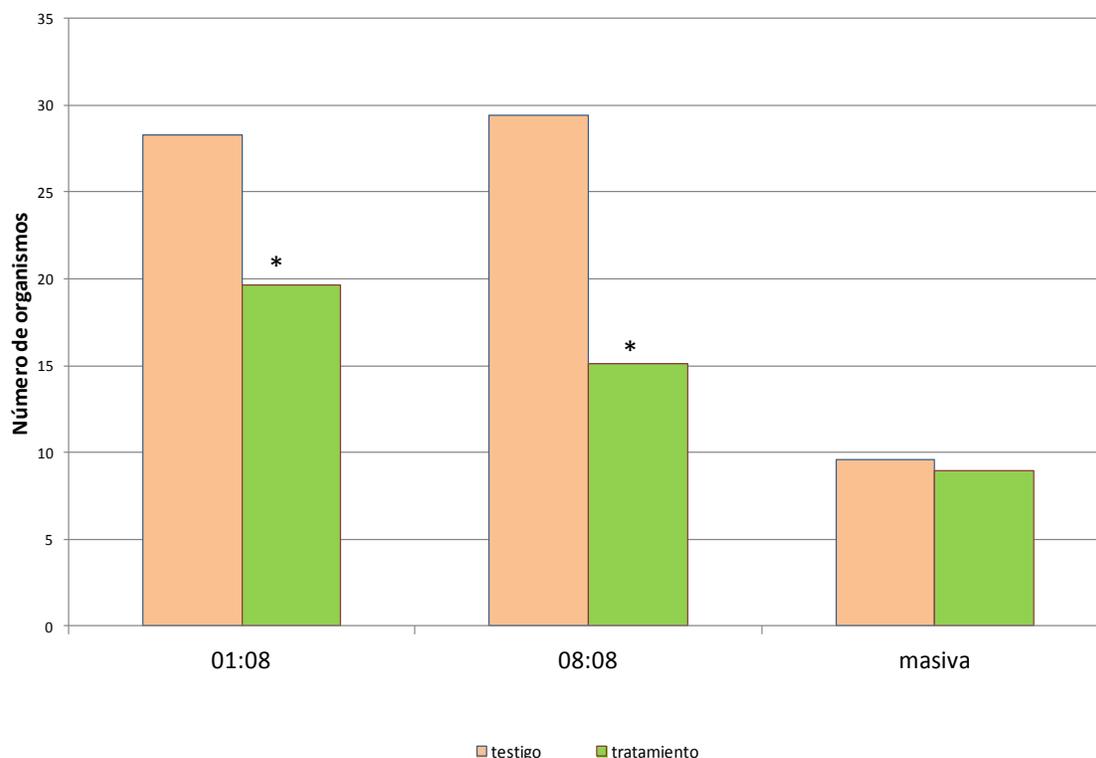


Fig. 23 promedio de organismos recuperados en el trasvase 3 (sin importar el fenotipo) en los tres sistemas de cruza expuestos vs machos no expuestos * Valores significativos (ANOVA $p < 0.05$ Tukey $p < 0.05$).

En la figura 24 se muestra que en la cruzada masiva en donde los organismos fueron tratados la preferencia de las hembras presenta una tendencia hacia los machos white. Para todos los demás sistemas de cruzada la preferencia fue hacia los machos silvestres, y el fenotipo siguiente es el white (Fig. 25).

Fig. 24 Fenotipos presentados en el lote de machos expuestos y no expuestos (en los tres sistemas de cruce trasvase

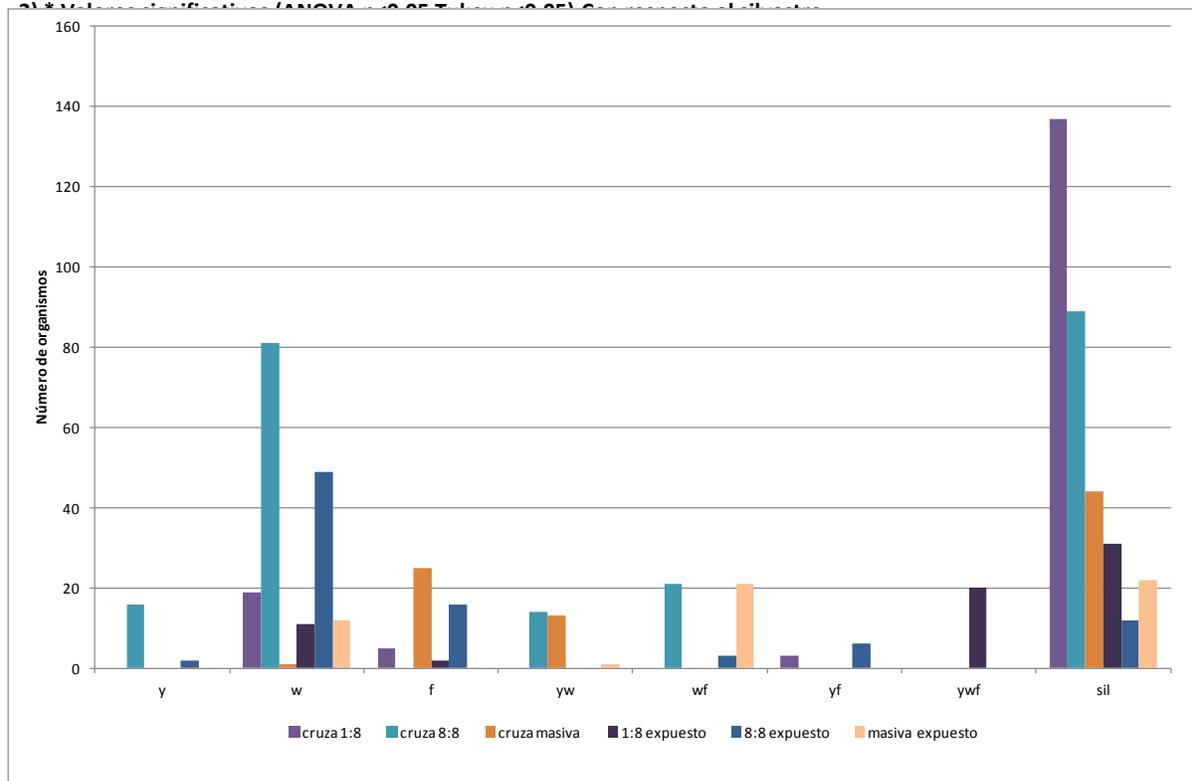


Fig. 25 Número de organismos de cada fenotipo presentados en los tres sistemas de cruzas (trasvase 2) en el lote experimental y en el testigo.

6.3.3 Resultados trasvase 3

En el trasvase 3, se observa que el número de organismos recuperados tanto en el lote testigo como en el experimental es mayor que en el trasvase 2, aunque la tendencia de testigo vs tratamiento es similar a las de los resultados mostrados en los transvases 1 y 2 (Fig. 26). En la figura 27 se muestra que en los lotes experimentales la frecuencia de organismos silvestres es menor o nula. Para los lotes testigos se ve claramente una tendencia hacia los organismos silvestres en todas las PSO. En cuanto a la preferencia de las hembras hacia los machos mutantes es hacia los white para ambos lotes y para el lote expuesto la preferencia también es para los forked (Fig. 28).

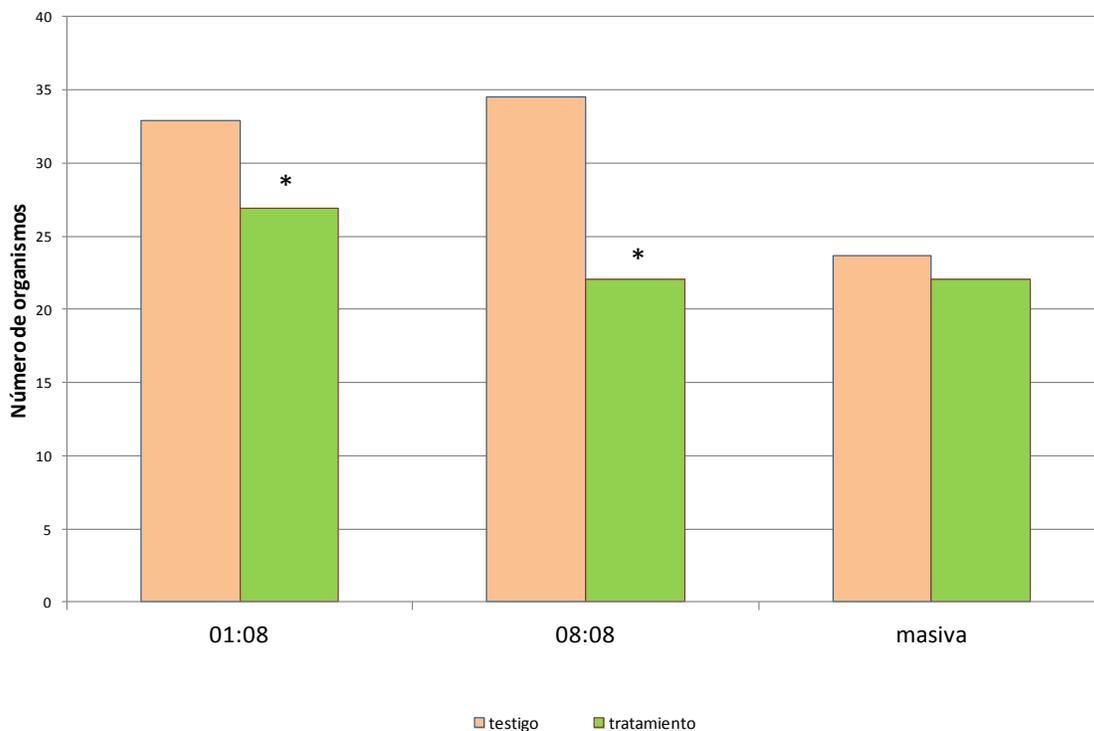


Fig. 26 promedio de organismos recuperados en el trasvase 3 (sin importar el fenotipo) en los tres sistemas de cruza expuestos vs machos no expuestos * Valores significativos (ANOVA $p < 0.05$ Tukey $p < 0.05$).

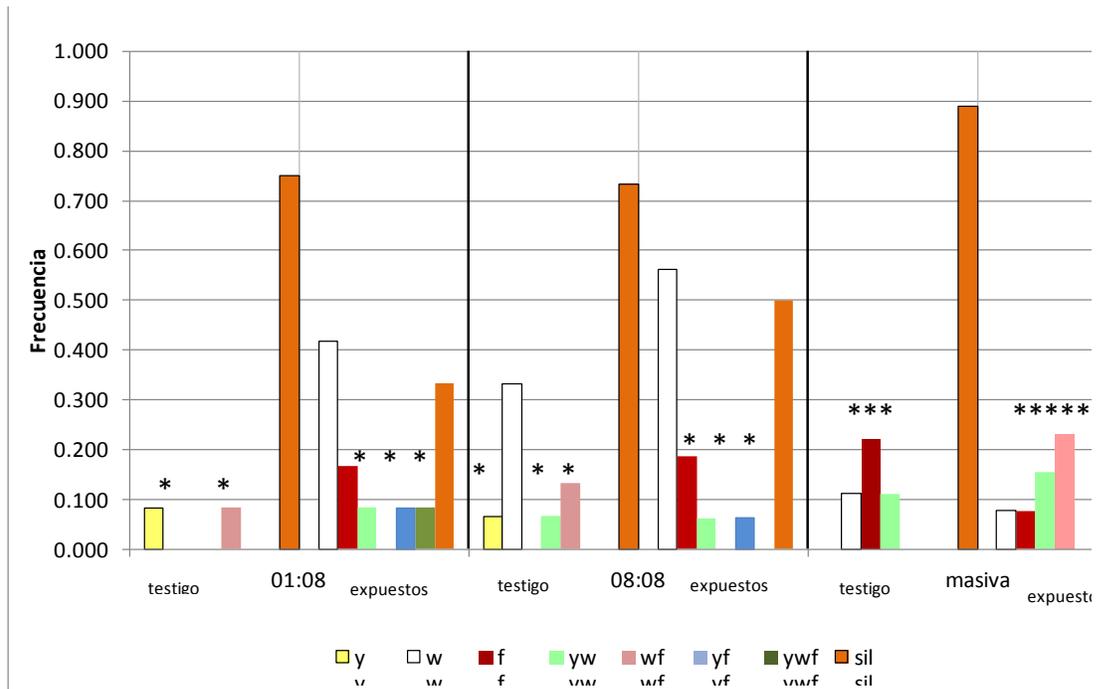


Fig. 27 Fenotipos presentados en el lote de machos expuestos y no expuestos (en los tres sistemas de cruce trasvase 3) * Valores significativos (ANOVA p<0.05 Tukey p<0.05). Con respecto al silvestre.

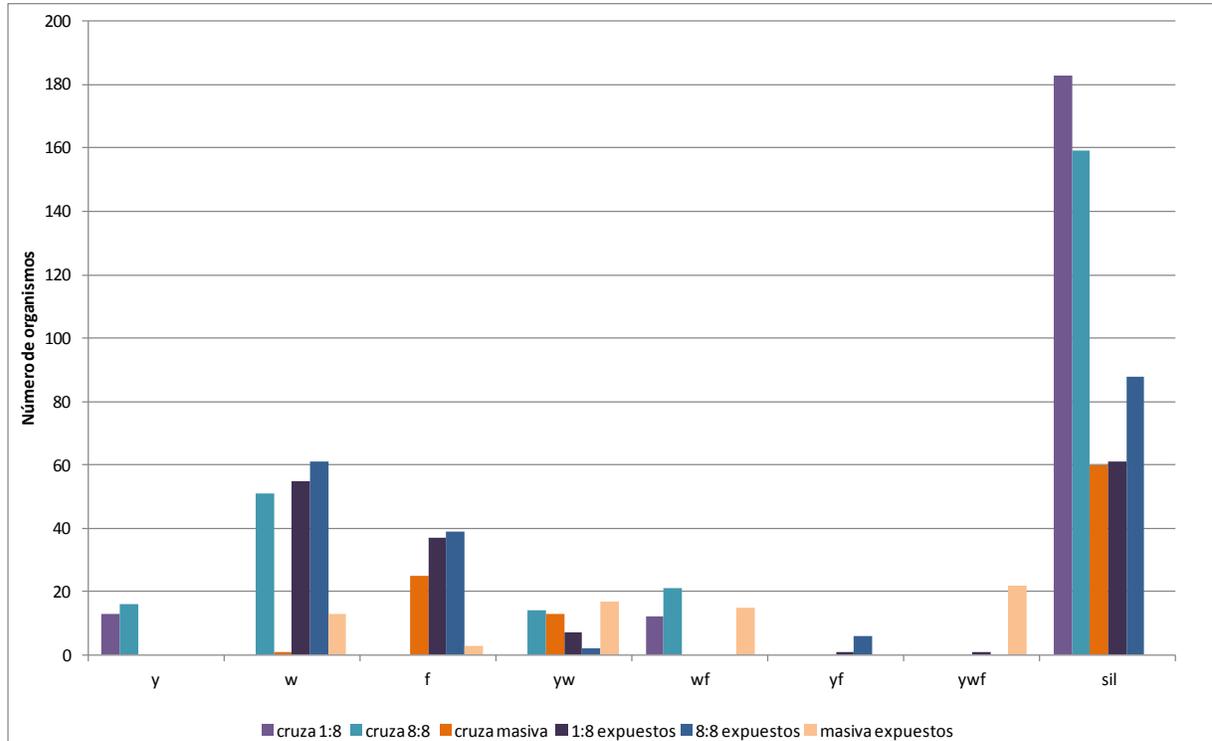


Fig. 28 Número de organismos de cada fenotipo presentados en los tres sistemas de cruces (trasvase 3) en el lote experimental y en el testigo.

En la figura 29 se observa el número de organismos totales presentados por fenotipo y por sistema de cruza (considerando los tres transvases) encontrando que el número de organismos silvestres es menor en la cruza masiva donde los machos fueron tratados en comparación con las cruzas 1:8 y 8:8 en el lote testigo donde el número de organismos silvestres es mayor.

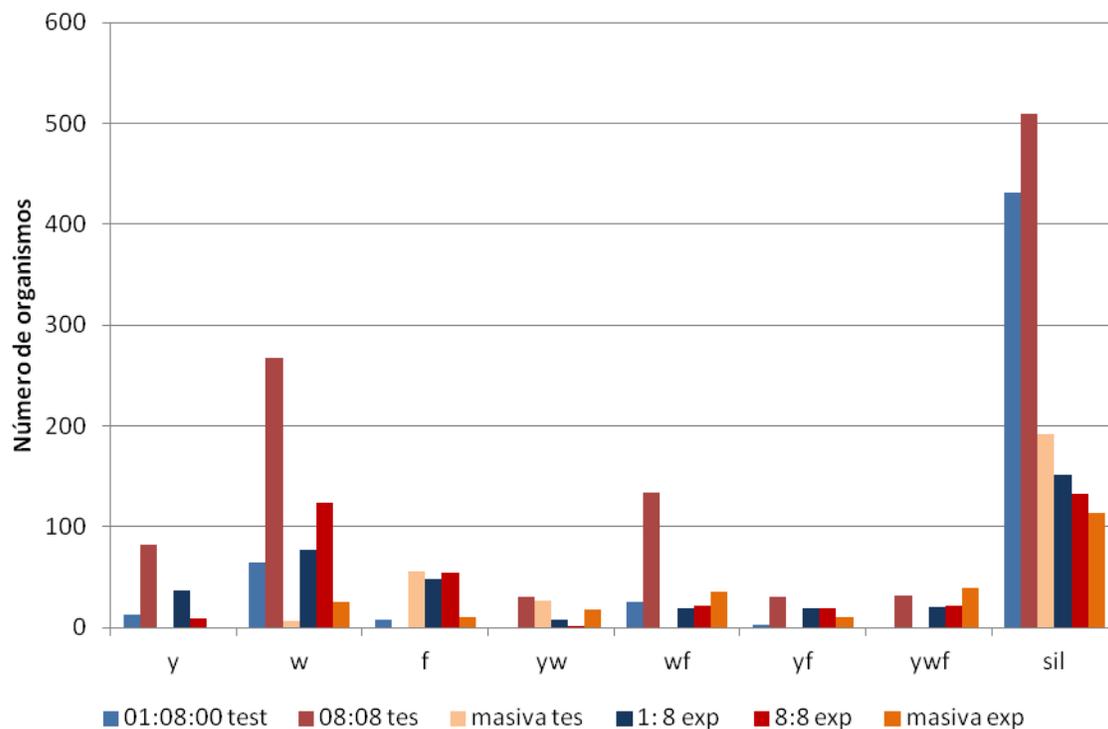


Fig. 29 Número de organismos totales de cada fenotipo presentados en los tres sistemas de cruzas en el lote experimental y en el testigo.

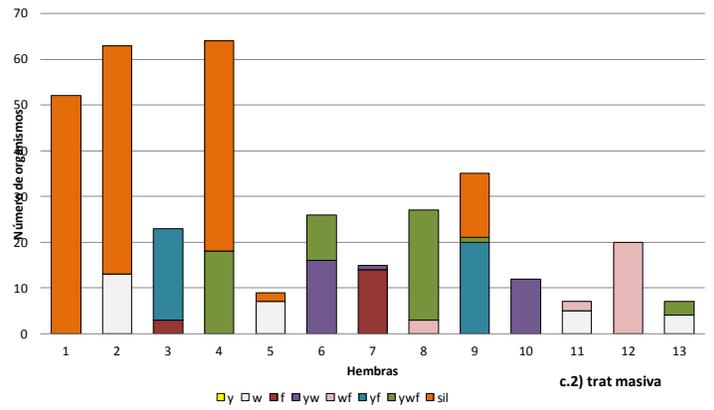
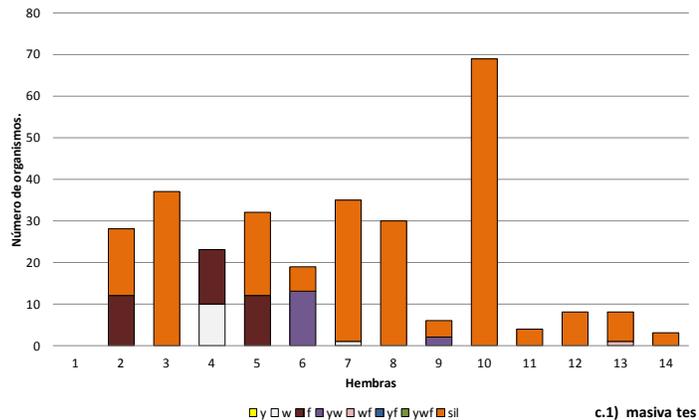
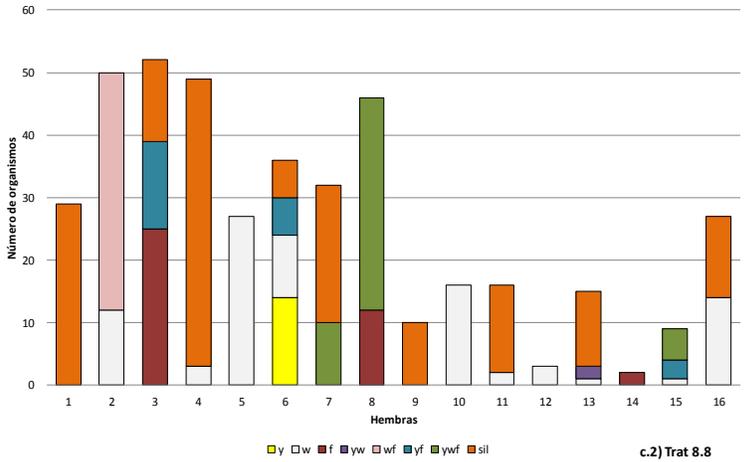
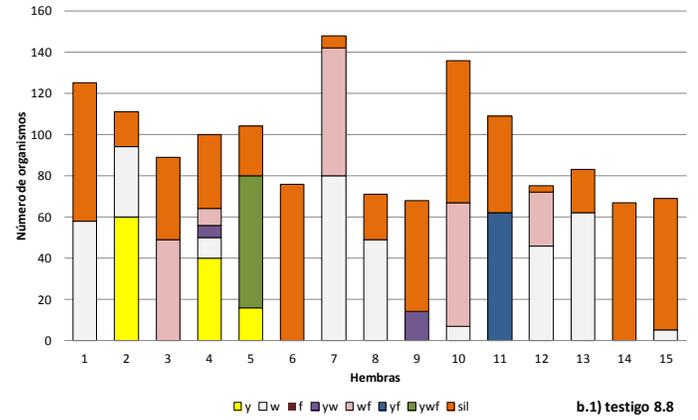
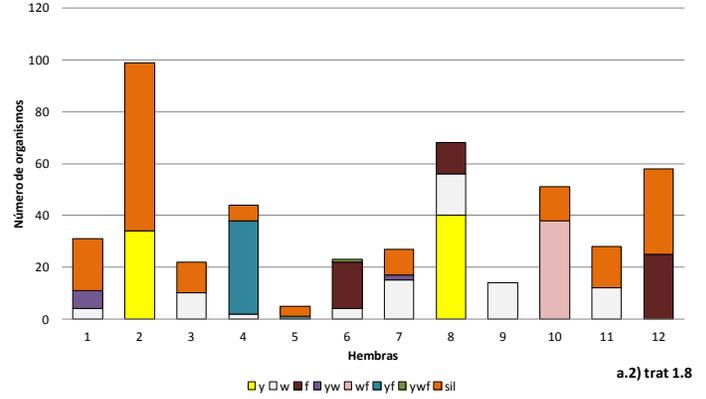
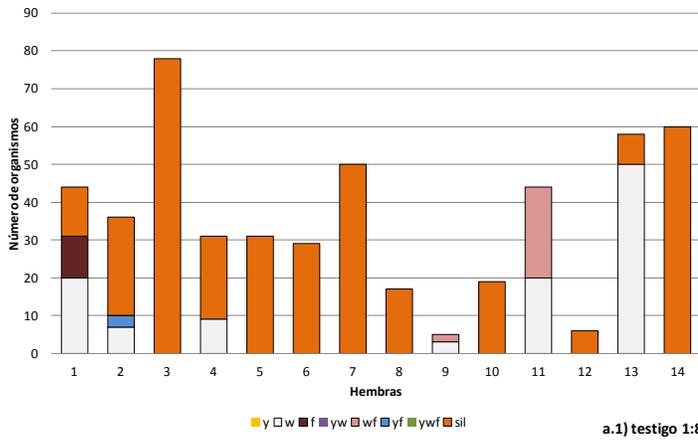


Fig. 30 Número de organismos obtenidos por hembra por cruce y por lote a.1) lote testigo cruce 1:8 a.2) lote tratado cruce 1:8. b.1) testigo cruce 8:8 b.2) lote tratado cruce 8:8 c.1) lote testigo masiva c.2) lote tratado masiva.

En la figura 30 se muestra el número de organismos por fenotipos que se obtuvo por cada hembra. En los lotes testigo para los tres sistemas de cruce la emergencia de moscas silvestres fue mayor especialmente en el sistema de cruce 1:8. Para los lotes de tratamiento se encontró que en donde las hembras tenían prole de tipo silvestre estas hembras también presentaban prole de tipo mutante, es decir las hembras copularon con más de un macho, donde uno era el silvestre tratado y otro era el mutante en comparación con el lote testigo donde la mayoría de las hembras presentaban sólo un tipo de prole (cruces 1:8 y masiva).

6.4 Resultados (machos white tratados)

Para corroborar la respuesta obtenida en cuanto a la preferencia de las hembras se procedió a tratar a los machos *white* en la PSO 1:8. En la figura 31 se presentan los resultados de la preferencia de moscas donde los machos de fenotipo *white* estaban tratados y se encontró que en el lote testigo se presentaron todos los fenotipos de los machos sobresaliendo el fenotipo silvestre. Para el lote experimental se observa que los fenotipos que predominan son el *white* y el *ywf* y se observó que la preferencia hacia las moscas silvestres es menor con respecto al lote testigo.

En la figura 32 se muestra que en el lote testigo el fenotipo predominante es el silvestre, encontrándose un mayor número de organismos en el lote testigo ($Z_{0.05}=1.96$; $p<0.05$). En cuanto a la preferencia de moscas hacia los mutantes, el mutante preferido es el *white* en los dos lotes pero se encontró un mayor número de organismos mutantes en el lote experimental.

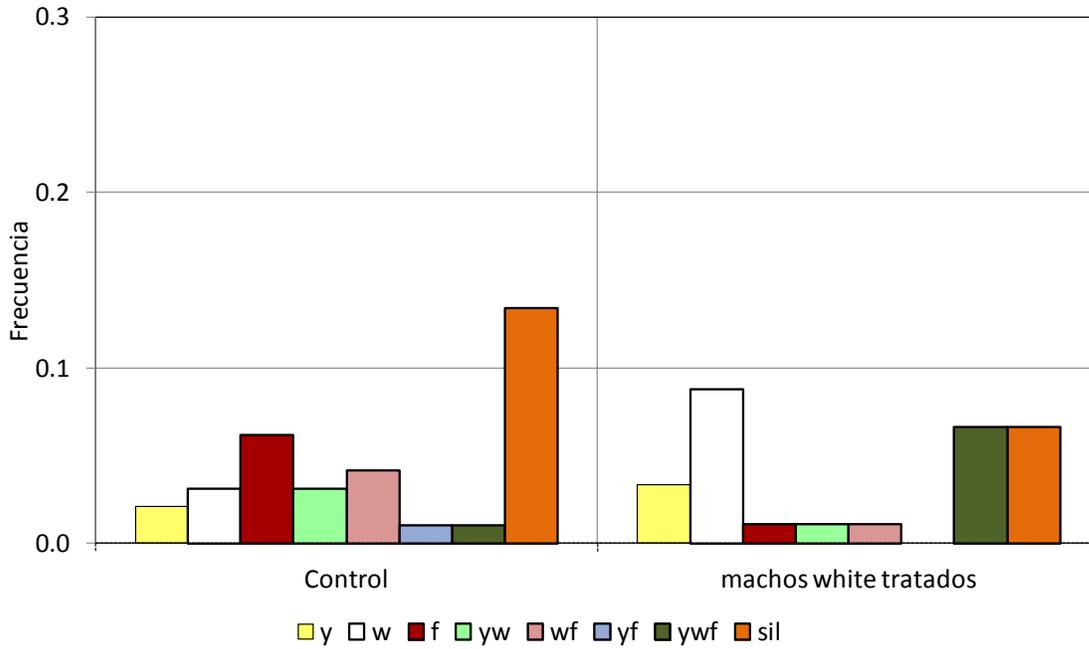


Fig.31 Frecuencia de organismos de cada fenotipo presentados en el lote testigo y experimental (machos white tratados)

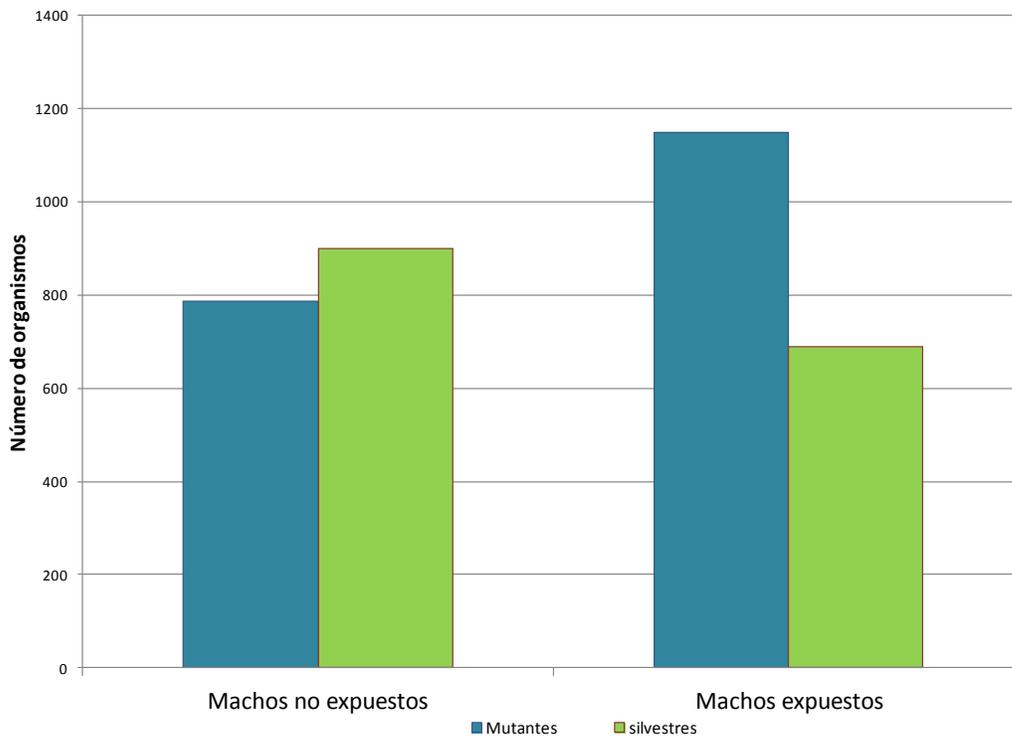


Fig. 32 Número de organismos recobrados mutantes y silvestres en el lote testigo (machos white tratados). Prueba de Z para proporciones ($Z_{0.05}=1.96$; $p<0.05$) para cada lote.

7. DISCUSIÓN

El objetivo de todo ser vivo es tratar de preservar la especie, pasando a la siguiente generación información genética de la mejor calidad posible para que las siguientes generaciones sean capaces de adaptarse al ambiente. Sin embargo, los organismos pueden estar expuestos a distintos cambios ambientales o compuestos xenobióticos, los cuales pueden afectar la integridad del material genético. Esta exposición puede finalmente influir en la elección de pareja para la reproducción de la especie, modificando la probabilidad de ser elegidos como parejas de apareamiento. Para los organismos es muy importante elegir como pareja reproductiva a aquellas que les permitan dejar a las siguientes generaciones características o genotipos que le permitan a la especie adaptarse a diversos cambios (Drickarmer y Vessey , 1996).

En la naturaleza los organismos pueden variar mayormente en su sistema transmisión de genes a la siguiente generación, es decir hay organismos que se reproducen sexualmente o asexualmente, se pueden autofecundar (hermafroditas) o hay especies con sexos separados, entender porqué se dan estos sistemas genéticos y lo procesos que involucran es complicado y para la biología del comportamiento está siendo producto de nuevas investigaciones sobre todo en aquellos casos donde el ambiente puede afectar a estos procesos de elección de pareja (Brommer *et al.*, 2012). Se ha observado que variaciones en el ambiente por ejemplo el reducir los sitios de ovoposición de la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* puede tener efectos directa o indirectamente en la frecuencia de apareamiento (Sutherland, 1987).

7.1 Evaluación de la eficiencia reproductiva de mutantes y silvestres.

Al evaluar la eficiencia reproductiva de cada línea de mosca se observó que las moscas que no presentaban ninguna mutación es decir la cepa silvestre presentó un mayor número de progenie, esto es importante ya que en la naturaleza se encuentran mayormente moscas con estas características fenotípicas y genotípicas las cuales están mejor adaptadas al ambiente, lo que favorece la sobrevivencia de la especie.

7.2 Evaluación de la preferencia de hembras hacia machos mutantes vs silvestres en diferentes Proporciones Sexuales Operativas

Para la preferencia de hembras hacia machos mutantes vs silvestres se encontró que las hembras prefieren a machos de tipo silvestre sin importar en qué proporción de sexos operativa se encontraban lo que indica que las hembras podrían buscar como pareja reproductiva a machos que tengan una calidad genotípica o alta o “buenos genes” que finalmente la progenie podría heredar y así la especie podría tener una alta probabilidad de sobrevivencia y reproducción (Pekkala *et al.*, 2009). Se ha encontrado que en *Drosophila melanogaster* mutaciones recesivas constituyen una desventaja en cuanto a la selección sexual incrementando los esfuerzos para ser tomados en cuenta para el apareamiento ya que genéticamente estos presentan una desventaja y finalmente son excluidos (Maclellan *et al.*, 2009).

Al observar la preferencia de las moscas frente a los machos mutantes, se puede establecer que la preferencia de manera general es hacia machos con un tipo de mutación y genotípicamente igual que las hembras, se ha encontrado que algunas mutaciones tienen efectos pleiotrópicos que podrían afectar el comportamiento sexual, por ejemplo el vigor o el verse saludables y no sean preferidos por las hembras (Fitzpatrick, 2004; Mallet *et al.*, 2011). Existen mutaciones recesivas que

pueden alterar el aprendizaje y la memoria un ejemplo de ese tipo de mutación es el color de ojos café (sepia) la cual se ha visto que presenta un efecto pleiotrópico a nivel de neurotransmisores (Mallet *et al.*, 2011).

Bateman en 1948, comprobó el éxito reproductivo de machos y hembras de *Drosophila melanogaster* y encontró que si aumentaba el número de apareamientos aumentaba el número de descendientes. Al comparar los resultados que se obtuvieron en cuanto al número de apareamientos y el número de progenie obtenida por cada proporción de sexos operativa se observa que esta respuesta no es directamente proporcional como lo describió Bateman ya que en aquellas proporciones donde se encontraron hembras que se aparearon con tres machos el número de progenie obtenida es menor que en aquellas proporciones donde el número de apareamientos es hasta con dos machos (proporción 1:1). Esto puede deberse en gran parte a que podría existir una proporción de sexos operativa sesgada hacia los machos en aquellas proporciones donde hay un mayor número de machos que hembras y por lo tanto una mayor presión de selección que se ve reflejado en la cantidad de huevos fecundados por macho (Drickarmer y Vessey , 1996b; Evans y Simmons, 2008).

7.3 ¿Las hembras pueden descartar entre machos con posible daño genético?

Una vez que se estableció la PSO en la que se recuperara un mayor número de progenie y la preferencia se procedió a tratar con un mutágeno de referencia (NaN_3) a machos silvestres. Para determinar el efecto tóxico del tratamiento en los organismos expuestos se utilizó el índice de sobrevivencia el cual muestra la cantidad de organismos que se recobran en las diferentes concentraciones del compuesto a probar con el testigo concurrente. Con base en este biomarcador se encontró que en las concentraciones más bajas no se encontraron efectos tóxicos, sin embargo se eligió a la concentración de 3.8×10^{-6} ya que esta es muy parecida

al testigo para la sobrevivencia. La toxicidad de los compuestos además de comprometer la sobrevivencia, pueden tener efectos a otros niveles como en la capacidad de la reproducción, sufriendo alteraciones en los procesos fisiológicos relacionados con el apareamiento, la diferenciación, maduración sexual, la producción de gametos y la fertilización (Repetto y Repetto, 2009).

Al observar la preferencia de las hembras frente a machos silvestres tratados vs machos mutantes no tratados se puede concluir que las hembras no pueden discriminar entre los organismos expuestos de los no expuestos, sin embargo al realizarse una cruce masiva no se sabe a ciencia cierta si sólo un macho es el que pudo haber logrado fecundar a la mayoría de las hembras o simplemente que las hembras pueden estar copiando la selección de otras hembras. Dugatkin en 1998, encontró que las hembras de la especie de pez *Poecilia reticulata*, en determinadas condiciones alimentarias copian con frecuencia la elección de apareamiento de otras hembras. Este comportamiento aparentemente es ventajoso para las hembras puesto que reduce el tiempo utilizado en la elección de pareja.

La preferencia de las hembras frente a los distintos tipos de machos mutantes varió comparado con la que mostraron cuando no estaban presentes machos tratados, esto puede deberse a que finalmente los machos se encontraban en otro tipo de competencia donde aquellos machos mutantes mayormente elegidos adquirieron cierta ventaja frente a otros. Existen muchas tácticas de elección por parte de las hembras basadas por ejemplo en comparaciones secuenciales de machos u otras que requieren decisiones extremas, pero la elección más favorable depende en cierta medida de la variación existente entre los machos (Clutton-Brock y Huchard, 2013; Clutton-Brock, 2007).

En cuanto a la frecuencia de apareamientos en el lote donde se encontraban los machos expuestos ésta aumentó hasta con dos machos. Los machos al copular con las hembras generalmente presentan mecanismos que impiden que otros machos lleguen a copular con las hembras y así pueden garantizar el que los huevos sean fecundados con su material genético. Sin embargo han encontrado

en *Drosophila melanogaster* que los machos pueden tener alteraciones en las proteínas en las glándulas accesorias del fluido seminal y por consecuencia esto puede afectar aspectos del comportamiento reproductor por ejemplo que las hembras sean receptivas a otros machos (Manier *et al.*, 2010; Stockley, 1999).

Para las cruzas individuales donde se encontraba un macho de cada genotipo incluido el macho silvestre tratado, se observó que el número de mutantes en la progenie es mayor con respecto a la silvestre en el lote de machos expuestos. Aunque la preferencia seguía hacia los machos silvestres, la frecuencia con la que preferían ciertos fenotipos mutantes aumentó, es decir al estar el macho silvestre tratado los machos con fenotipo mutante adquirían cierta ventaja para reproducirse. Se propone dos opciones en las que pudieran darse esos resultados:

- a) Que los machos mutantes fecunden solamente a las hembras.
- b) Que las hembras estén copulando tanto con los machos silvestres como con los mutantes.

Al observar los resultados de la frecuencia de apareamientos se podría establecer que las hembras están copulando con los dos tipos de macho ya que se observa que la frecuencia de apareamientos hasta con dos machos es mayor en el lote de tratamiento.

Al analizar los resultados obtenidos sobre la preferencia de las hembras bajo diversas condiciones, desde diferentes proporciones sexuales, hasta cruzas individuales donde ciertos machos fueron tratados se puede concluir que las hembras presentan una cierta preferencia hacia los machos silvestres; sin embargo, al tratar a estos machos la frecuencia de mutantes aumenta así como también la frecuencia de apareamientos de hasta dos machos, proponiendo que los apareamientos se dan tanto de machos mutantes y silvestres. Las hembras de *Drosophila* son participantes activas tanto para la selección sexual pre-cópula como post-cópula (Giardina *et al.*, 2011). Esto puede contribuir en la variación que

se presenta para la elección de buenos genes que se transmitirán a las siguientes generaciones (en el caso de machos tratados) podría darse en dos casos:

- a) Que las hembras al copular con un tipo de macho en este caso silvestre, éste no le está confiriendo la capacidad a la hembra a ya no ser receptiva y por lo tanto pueda copular con otro tipo de macho.
- b) Que la selección se esté dando a nivel post-cópula es decir a nivel de selección espermática.

La competencia espermática determina en gran medida el éxito reproductor de los machos, es una fuerza selectiva de gran potencia que en muchos organismos ha moldeado características de comportamiento, fisiológicas y celulares en los machos, tanto a nivel inter-específico como intra-específico (Evans y Simmons, 2008).

Para tratar de explicar si la respuesta está dada a nivel post-copulatorio se realizaron tres transvases de las hembras en tres sistemas de cruza (01:08, 08:08 y masiva). De manera general la emergencia de organismos se da en su mayoría en el último transvase, (transvase 3) pero en cuanto a si son mutantes y silvestres, la emergencia de moscas se encontró que emergían primero organismos con fenotipo silvestre en todos los PSO en ambos lotes (testigo y expuesto), posteriormente para el transvase 3 la emergencia de moscas presentaban en su mayoría fenotipo mutante, esto para el lote experimental.

Se ha reportado que en ciertos insectos el último macho que copula con la hembra tiene más posibilidades de fecundar, pues el último eyaculado tiende a desplazar a eyaculados anteriores de la espermateca o a empujarlos hasta el fondo del receptáculo, de forma que son los espermatozoides del último macho los que quedan situados más cerca de la salida y son los primeros en salir cuando hay óvulos que fecundar (Andersson y Simmons, 2006; Singh y Hoenigsberg, 2002)(Birkhead & Pizzari, 2002) (Gordemio, 2003). Al observar los resultados en

cuanto a la emergencia primero de los machos silvestres se podría atribuir a que los primeros huevos fecundados en las hembras están dados por espermatozoides con genotipo silvestre y posteriormente se da la fecundación con espermatozoides genéticamente mutante proponiendo que las hembras podrían elegir como primer pareja reproductora a machos mutantes y posteriormente a machos silvestres tratados, los cuales desplazarían el espermatozoides de los machos mutantes fecundando primero a los huevos. Sin embargo al analizar la preferencia de las moscas en distintas condiciones de elección de pareja por ejemplo en las distintas proporciones operativas evaluadas o en cruces masivas, se observó que la preferencia está dada para el fenotipo silvestre. En experimentos llevados a cabo en insectos en los que se compara la cantidad del eyaculado de machos que copulan en ausencia de otros machos, con machos que se encuentran en presencia de un segundo macho, se ha observado que estos últimos transfieren mas espermatozoides y proteínas que impiden que otro macho logre fecundar a la hembra (Clark y Begun, 1998; Moatt *et al.*, 2014; Price *et al.*, 1999; Stockley, 1999). Dependiendo de si hay ventajas o desventajas según el orden de la cópula, si la ventaja es para el primer macho que copula, a los machos les convendrá ser los primeros en localizar a las hembras y fecundarlas (Birkhead & Pizzari, 2002; Cordero, 1999; Stockley, 1999). En *Drosophila* en cuanto más copula una hembra, más corta es su vida, se pensaba que era por el costo de producir huevos, pero posteriormente se mostró que es debido al número de veces que es inseminada por machos, y en concreto a los efectos nocivos del fluido seminal. Como se mencionó anteriormente el macho transfiere sustancias químicas que aceleran la ovoposición, disminuyen la receptibilidad de la hembra y atacan al espermatozoides de machos rivales, (Brommer *et al.*, 2012; Price *et al.*, 1999) entonces se puede decir que la cantidad de espermatozoides y de proteínas Sfps (seminal fluid proteínas) que se están produciendo por los machos silvestres tratados no es suficiente para impedir que la hembra no sea receptiva a otro macho, puesto que la preferencia se mantuvo hacia los machos silvestres se podría decir que la respuesta esta dada a nivel de fluido seminal y no necesariamente sea que el último macho con que copule la hembra sea el primero en fecundar a los huevos .

En cuanto a la selección de machos por parte de las hembras cuando estaba tratado el macho con la mutación *white* se observó que el lote experimental los machos *white* fueron preferidos por las hembras, esto podría darse porque el macho *white* en condiciones naturales presenta una cierta desventaja a nivel de neurotransmisores, pero al ser expuestos a un compuesto que se ha probado que tiene efectos en el DNA , pudieran adquirir ciertos atributos que en condiciones naturales que le ayuden a que la hembra los seleccione (Anaka *et al.*, 2008) .

Un organismo nunca es independiente del ambiente en el cual vive. La adaptación de los organismos es una serie de procesos donde se tienden a presentar cambios genéticos, fisiológicos, inmunológicos, bioquímicos y de conducta como respuesta a la tensión de estrés El estrés resulta cuando los factores físicos, químicos y/o bióticos empujan a un organismo más allá de los límites de su nicho fundamental (Hoffmann, 1991). Los organismos al estar tratados con un compuesto que está relacionado con la inhibición del citocromo C que forma parte del complejo proteico de la cadena transportadora de electrones estos pueden tener un ambiente de estrés el cuál puede tener como consecuencia efectos a nivel de conducta por lo que estos machos *white* tratados salen beneficiados al estar expuestos ya que el estrés producido les proporcionaría cierta ventaja para ser elegidos como pareja reproductora.

Al analizar los resultados se puede concluir que cuando las hembras cuando seleccionan a machos tratados estos no están confiriendo la capacidad a la hembra a ya no ser receptiva y por lo tanto pueda copular con otro tipo de macho, aunado a esto la selección podría darse a nivel de selección espermática. Narraway y colaboradores en 2010 mostraron que las interacciones entre el genotipo y el ambiente de los machos son cruciales para la elección de pareja de las hembras eligiendo a aquellos machos que presentan “buenos genes” para transmitirlos a la siguiente generación.

8. CONCLUSIONES

- La eficiencia reproductiva fue mayor en las moscas de tipo silvestre y posteriormente para las cepas y^w y y^f .
- La preferencia de hembras fue hacia machos silvestres en las diferentes proporción de sexos operativa (PSO), y la mayor cantidad de progenie se recobró en la proporción 1:1.
- La frecuencia de apareamientos se puede dar hasta con 3 machos diferentes.
- Las hembras pueden discriminar entre los machos expuestos y no expuestos, eligiendo preferentemente a machos no expuestos.
- Las hembras prefieren a machos white expuestos frente a machos mutantes y silvestres no expuestos.

9. REFERENCIAS

- Adams, M. D., Celniker, S. E., Holt, R. A., Evans, C. A., Gocayne, J. D., Amanatides, P. G., ... Venter, J. C. (2000). The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science (New York, N.Y.)*, 287(5461), 2185–95. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10731132>
- Alcock, J. (2005). *Animal Behavior: An Evolutionary Approach* (Eighth., p. 564). USA: Sinauer Associates, Inc.,.
- Anaka, M., MacDonald, C. D., Barkova, E., Simon, K., Rostom, R., Godoy, R. a, ... Lloyd, V. (2008). The white gene of *Drosophila melanogaster* encodes a protein with a role in courtship behavior. *Journal of Neurogenetics*, 22(4), 243–76. doi:10.1080/01677060802309629
- Andersson, M., y Simmons, L. W. (2006). Sexual selection and mate choice. *Trends in Ecology & Evolution*, 21(6), 296–302. doi:10.1016/j.tree.2006.03.015
- Arenaz, P., Hallberg, L., Mancillas, F., Gutierrez, G., y Garcia, S. (1989). Sodium azide mutagenesis in mammals: inability of mammalian cells to convert azide to a mutagenic intermediate. *Mutation Research*, 227(1), 63–7. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2671718>
- Baars , A.J. Blijleven, W.G.H. Mohn , G.R. y Natarajan, A. T. B. (1980). Preliminary studies on the ability of drosophila microsomal preparations to activate mutagens and carcinogens. *Mutation Research*, 72, 257—264.
- Bateman, A. J. (1948). Intra-sexual selection in *Drosophila*. *Heredity (Edinb)*, Dec;2(Pt. , 349–68.
- Birkhead, T., y Pizzari, T. (2002). Postcopulatory sexual selection. *Nature*, 3, 262–273.
- Brommer, J. E., Fricke, C., Edward, D. A., y Chapman, T. (2012). Interactions between genotype and sexual conflict environment influence transgenerational fitness in *Drosophila melanogaster*. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 66(2), 517–31. doi:10.1111/j.1558-5646.2011.01449.x
- Cabrero Josefa, y Vivaldi Manuel Martín . (2003). Selección sexual. In *Evolución la base de la biología* (p. 553). España: Proyrcto SurEdiciones.
- Carranza, J. (2010). Sexual selection and the evolution of evolutionary theories. *Animal Behaviour*, 79(3), e5–e6. doi:10.1016/j.anbehav.2009.08.010

- Clark, a G., y Begun, D. J. (1998). Female genotypes affect sperm displacement in *Drosophila*. *Genetics*, 149(3), 1487–93. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1460231&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>
- Clark, A. M. (1982). The use of larval stages of *Drosophila* screening for some naturally occurring mutagens. *Mutation Research*, 2, 89–97.
- Clutton-Brock, T. (2007). Sexual selection in males and females. *Science (New York, N.Y.)*, 318(5858), 1882–5. doi:10.1126/science.1133311
- Clutton-Brock, T. H., y Huchard, E. (2013). Social competition and selection in males and females. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 368(1631), 20130074. doi:10.1098/rstb.2013.0074
- Cordero, A. (1999). Selección sexual y comportamiento reproductor de los insectos. *Bol.S.E.A.*, 26, 693–701.
- Darwin, C. (1871). *The Descent of man ,and selection in Relation to Sex*. London: J C Murray.
- Dornan, A. J., y Goodwin, S. F. (2008). Fly courtship song: triggering the light fantastic. *Cell*, 133(2), 210–2. doi:10.1016/j.cell.2008.04.008
- Drickarmer L., Vessey S., M. D. (1996). *Animal Behavior* (p. 447). USA: Wm C .Brown.
- Evans, J. P., y Simmons, L. W. (2008). The genetic basis of traits regulating sperm competition and polyandry: can selection favour the evolution of good- and sexy-sperm? *Genetica*, 134(1), 5–19. doi:10.1007/s10709-007-9162-5
- Fitzpatrick, M. J. (2004). Pleiotropy and the genomic location of sexually selected genes. *The American Naturalist*, 163(6), 800–8. doi:10.1086/386297
- Futuyma D. (2009). *Evolution* (Second., p. 663). USA: Sinaver Associates Sunderland MA.
- Giacomo, D. (2002). *Bahavioural Ecotoxicology*. (O`h. S. Weeks Jason, Ed.) (p. 463). USA: Ecological & Enviromental Toxicology Series.
- Giardina, T. J., Beavis, A., Clark, A. G., y Fiumera, A. C. (2011). Female influence on pre- and post-copulatory sexual selection and its genetic basis in *Drosophila melanogaster*. *Molecular Ecology*, 20(19), 4098–108. doi:10.1111/j.1365-294X.2011.05253.x

- González-César, E., y Ramos-Morales, P. (1997). Sodium azide induces mitotic recombination in *Drosophila melanogaster* larvae. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 389, 157–165. doi:10.1016/S1383-5718(96)00142-8
- Graf, U. Würgler, F. E. Katz, A. J. Frei, H. Juon, H. Hall, C. B. Kale, P. G. (1984). Somatic Mutation and Recombination Test in *Drosophila melanogaster*. *Environmental Mutagenesis*, 6, 153–188p.
- Greenspan, R. J. (2000a). Courtship in *Drosophila*. *Annu. Rev. Genet.*, 34, 205–232.
- Griffith, L. C., y Ejima, A. (2009). Courtship learning in *Drosophila melanogaster*: diverse plasticity of a reproductive behavior. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 16(12), 743–50. doi:10.1101/lm.956309
- Hällström, I. A. Sundvall, U. Ranung, R. y Grafstrom, R. (1981). The metabolism of drugs and carcinogens in isolated subcellular fractions of *Drosophila melanogaster* activation of vinyl chloride, 2-aminoanthracene and benzo[a]pyrene as measured by mutagenic effects in *Salmonella typhimurium*. *Chem.-Biol. Interactions*, 34, 129—143.
- Hällström, I. y Graftrosm, R. (1982). The metabolism of drugs and carcinogens in isolated subcellular fractions of *Drosophila melanogaster*. Enzyme induction and metabolism of benzo[a]pyrene. *Chem.-Biol. Interactions*, 34, 145–159p.
- Hubbell, S. P., y Johnson, L. K. (1987). Environmental variance in lifetime mating success, mate choice and sexual selection. *Am. Nat.* 130: 91-102., 130, 91–102.
- Maclellan, K., Whitlock, M. C., y Rundle, H. D. (2009). Sexual selection against deleterious mutations via variable male search success. *Biology Letters*, 5(6), 795–7. doi:10.1098/rsbl.2009.0475
- Mallet, M. A, Bouchard, J. M., Kimber, C. M., y Chippindale, A. K. (2011). Experimental mutation-accumulation on the X chromosome of *Drosophila melanogaster* reveals stronger selection on males than females. *BMC Evolutionary Biology*, 11(1), 156. doi:10.1186/1471-2148-11-156
- Manier, M. K., Belote, J. M., Berben, K. S., Novikov, D., Stuart, W. T., y Pitnick, S. (2010). Resolving mechanisms of competitive fertilization success in *Drosophila melanogaster*. *Science (New York, N.Y.)*, 328(5976), 354–7. doi:10.1126/science.1187096

- Moatt, J. P., Dytham, C., & Thom, M. D. F. (2014). Sperm production responds to perceived sperm competition risk in male *Drosophila melanogaster*. *Physiology & Behavior*, *131*, 111–4. doi:10.1016/j.physbeh.2014.04.027
- Møller, A. . (1988). Female choice selects for male sexual ornaments in the monogamous swallow. *Nature*, *332*(640-642).
- Narraway, C., Hunt, J., Wedell, N. y Hosken, D. J. (2010). Preference., Genotype-by-environment interactions for female. *Evol. Biol.*, *23*, 2550–2557.
- Nöthinger. (1970). Sucrose density separation: A method for collecting large number or *Drosophila* larvae. *DIS*, *45*, 177.
- Of, M., y Azide, B. Y. S. (1979). *Saccharomyces cerevisiae*, *61*, 197–205.
- Owais,W. M. y Kleinfhors, A. (1988). Metabolic activation of the mutagen azide in biological systems. *Mutation Research*, *197*, 313–323.
- Owais,W. M., Klieinfhors, A. y Nilan, R. A. (1979). In vivo conversion of sodium azide to a stable mutagenic metabolite in *Salmonella typhimurium*. *Mutation Research*, *68*, 15–22.
- Owais,W. M., Zariwicz, R.A. y Gunovich, A. L. (1978). A mutagenic in vivo metabolite of sodium azide. *Mutation Research*, *53*, 355–358.
- Parker. (1970). Sperm competition and its evolutionary consequences in insects. *Biol. Rev*, *45*, 525–567.
- Pekkala, N., Puurtinen, M., y Kotiaho, J. S. (2009). Sexual selection for genetic quality: disentangling the roles of male and female behaviour. *Animal Behaviour*, *78*(6), 1357–1363. doi:10.1016/j.anbehav.2009.09.003
- Pischedda, A., Stewart, A. D., Little, M. K., y Rice, W. R. (2011). Male genotype influences female reproductive investment in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society*, *278*(1715), 2165–72. doi:10.1098/rspb.2010.2272
- Price, C. S., Dyer, K. a, y Coyne, J. a. (1999). Sperm competition between *Drosophila* males involves both displacement and incapacitation. *Nature*, *400*(6743), 449–52. doi:10.1038/22755
- Ramos-Morales P, Muñoz-Hernández A, Hernández-Bernal BR, y Rivas.-Martínez. H. (2010). Sodium Azide shows reprotoxic activity in *Drosophila*. In *41th Annual Meeting, Environmental Mutagen Society*. Omni Fort Worth Texas, Oct 23-27.

- Repetto, M. y Repetto, G. (2009). *Toxicología fundamental* (Cuarta edc., p. 616). Madrid ,España: Días de Santos.
- Singh, S. R., Singh, B. N., y Hoenigsberg, H. F. (2002). Female remating, sperm competition and sexual selection in *Drosophila*. *Genetics and Molecular Research : GMR*, 1(3), 178–215. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14963827>
- Stockley, P. (1999). Sperm Competition and Sexual Selection. T. R. Birkhead and A. P. Møller (eds). Academic Press, London. 1998. Pp. 826. Price £39.95, paperback. ISBN 0 12 100543 7. *Heredity*, 82(3), 344–345. doi:10.1038/sj.hdy.6885353
- Sutherland, W. J. (1987). *Random and deterministic components of variance in mating success*. (E. J. W. B. y M. B. Anderson, Ed.). UK.
- Thistle, R., Cameron, P., Ghorayshi, A., Dennison, L., y Scott, K. (2012). Contact chemoreceptors mediate male-male repulsion and male-female attraction during *Drosophila* courtship. *Cell*, 149(5), 1140–51. doi:10.1016/j.cell.2012.03.045
- Wilcox, S. R. (1994). Toxicology of selected nitric oxide-donating xenobiotics, with particular reference Azide. *Critical Reviews in Toxicology*, 24(4), 355–377.
- Winter, C., Kerros, M.-E., y Weinbauer, M. G. (2012). Effects of sodium azide on the abundance of prokaryotes and viruses in marine samples. *PloS One*, 7(5), e37597. doi:10.1371/journal.pone.0037597
- Ziljistra, J. A. V., y W., E. (n.d.). 1988 b. Influence of inhibition of the metabolic activation on the mutagenicity of some nitrosamines, triazenes, hydrazines and seniciphylline in *Drosophila melanogaster*. *Mutat Res.*, 202, 251–67.
- Zimmering. (1987). *Aneuploidy in Drosophila* (p. 32). Aln Rliss, Inc.