



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Modulación por efecto materno del daño reprotóxico inducido
por la azida de sodio en machos de *D. melanogaster*.

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

Mayra Manuela Castillo Manzanilla

DIRECTOR DE TESIS:

Dra. Patricia Ramos Morales

2015

Ciudad Universitaria, D. F.





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



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.

1.- Datos del alumno

Castillo

Manzanilla

Mayra Manuela

5520124827

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

304112902

2. Datos del tutor

Dra.

Patricia

Ramos

Morales

3. Datos del sinodal 1

Dr.

Rafael

Camacho

Carranza

4. Datos del sinodal 2

Dra.

María Elena

Calderón

Segura

5. Datos del sinodal 3

M. en C.

Alfonso José

Vilchis

Peluyera

6. Datos del sinodal 4

Biól.

Higo

Rivas

Martínez

7. Datos del trabajo escrito.

Modulación por efecto materno del daño reprotóxico inducido por la azida de sodio en machos de *D. melanogaster*

64p

2015



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
Secretaría General
División de Estudios Profesionales

Votos Aprobatorios

DR. ISIDRO ÁVILA MARTÍNEZ
Director General
Dirección General de Administración Escolar
P r e s e n t e

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

Modulación por efecto materno del daño reprotóxico inducido por la azida de sodio en machos de *D. melanogaster*

realizado por **CASTILLO MANZANILLA MAYRA MANUELA** con número de cuenta **3-0411290-2** quien ha decidido titularse mediante la opción de **tesis** en la licenciatura en **Biología**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario Dr. Rafael Camacho Carranza

Propietario Dra. María Elena Calderón Segura

Propietario Dra. Patricia Ramos Morales
Tutora

Suplente M. en C. Alfonso José Vilchis Peluyera

Suplente Biól. Hugo Rivas Martínez

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, D. F., a 28 de octubre de 2014
EL JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES

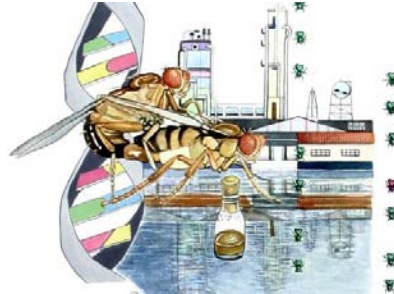
ACT. MAURICIO ÁGUILAR GONZÁLEZ

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

MAG/MGM/mdm *Uau*

Este trabajo se realizo en:

Laboratorio de Genética y Toxicología Ambiental de la Facultad de Ciencias



y con material donado por el Banco de Moscas de la Facultad de Ciencias



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por ser la institución que me permitió formarme académicamente, pero sobre todo a la Facultad de Ciencias de la UNAM, por haber formado parte también de mi formación profesional, por los excelentes profesores de los que tuve la oportunidad de aprender, por haberme permitido seguir mi vocación científica.

A los sinodales, Dra. Patricia Ramos Morales, Dr. Rafael Camacho Carranza, Dra. María Elena Calderón Segura, M. en C. Alfonso José Vilchis Peluyera y al Bió. Hugo Rivas Martínez por su disposición y ayuda al leer mi trabajo de tesis, por sus observaciones, sugerencias y correcciones para mejorar este trabajo.

Dra. Patricia Ramos Morales Gracias por la atención y el tiempo que ha dedicado a enseñarme y formarme como estudiante, por el apoyo que me ha dado durante el desarrollo de mi trabajo, por los consejos para mejorarlo. Gracias por las múltiples revisiones y correcciones a esta tesis. Gracias por ser mi tutora.

Dra. Adriana Muñoz Hernández por sus aportaciones para mejorar este trabajo, por la constante presión para terminar la tesis y por su experiencia dentro del laboratorio.

Bió. Blanca Rosa Hernández Bernal, gracias por enseñarme el mundo de las moscas del desierto pero sobretodo, gracias por permitirme tiempo y espacio para aprender un poco más desde la perspectiva académica como ayudante de la materia y por tus aportaciones a este trabajo.

Bió. Hugo Rivas Martínez, gracias por brindarme las cepas de moscas con las que realice los experimentos de este trabajo, por el tiempo dedicado a las lecturas de la tesis y tus aportaciones. También por tu interminable serenidad para explicarme repetidas veces los marcadores de las cepas *mei*.

M. en C. Yaneli Trujillo Varela, gracias por todo tu apoyo durante este trabajo, por ayudarme a leer mosquitas y aplicar pruebas estadísticas, por tus aportaciones a este trabajo y por nunca dejar que el ánimo desaparezca de mí para culminar este trabajo.

Bió. Estefanía Arroyo Jilote, gracias por todo tu apoyo en el laboratorio, por la paciencia que tuviste al ayudarme a entender que prueba estadística aplicar, por las aportaciones a este trabajo y la continua presión para terminar la tesis.

Karla Martínez Ledesma, gracias por brindarme siempre tu apoyo durante la carrera y en congresos como también durante el tiempo experimental, por ayudarme a leer moscas, a preparar cultivo y brindarme tiempo para discutir sobre aspectos biológicos y no biológicos. Gracias por todo tu apoyo moral.

Quiero agradecer también a Juan A. Gabriel Vázquez, Olga M. Ramírez Flores, Mari Cruz Mesa, Gabriela Pérez, Aida Cos, Fernanda Ramírez Flores, Mariana Cavita, Marlene Viridiana, Abril Cristino, Estefanía Felix, Aura Venegas, Ana Valeria Ángeles Cruz, Tania Alonso y Gabriel Ponce por hacer más grato y encantador el tiempo que trabajamos en el laboratorio.

A mis abuelos Hilda Manzanilla y Ángel Castillo por enseñarme las cosas bellas de la vida, los valores, la perseverancia, la humildad, el respeto, la sinceridad y la empatía.

A mi madre que es una gran mujer y que siempre ha sabido como apoyarme emocionalmente, por ayudarme monetariamente y por todo su cariño incondicional. Gracias Lidia Castillo eres otro excelente ejemplo en mi vida.

ÍNDICE

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| RESUMEN..... | 1 |
| I INTRODUCCIÓN..... | 3 |
| 1.1 Toxicología Ambiental..... | 3 |
| 1.2 Herencia Citoplasmática..... | 4 |
| 1.2.1 Efectos Reprotóxicos..... | 6 |
| 1.3 <i>Drosophila melanogaster</i> | 8 |
| 1.3.1 Mutantes no morfológicos..... | 9 |
| 1.3.2 Cromosomas Balanceadores..... | 10 |
| 1.3.3 Genes deficientes en reparación..... | 13 |
| 1.3.3.1 Gen mei ⁹ | 14 |
| 1.3.3.2 Gen mei41 ^{D5} | 15 |
| 1.3.3.3 Doble mutante mei ⁹ -mei41 ^{D5} | 16 |
| 1.4 Azida de Sodio..... | 17 |
| 1.4.2 Usos de la azida de sodio..... | 18 |
| Justificación..... | 19 |
| Objetivos..... | 20 |
| Hipótesis..... | 21 |
| II Materiales y Métodos..... | 22 |
| 2.1 Materiales..... | 22 |
| 2.1.1 Líneas de moscas..... | 22 |
| 2.1.2 Compuesto..... | 22 |
| 2.2. Tratamiento con azida de sodio..... | 22 |
| 2.2.1 Obtención de larvas para el tratamiento..... | 22 |
| 2.2.2 Tratamiento..... | 23 |
| 2.3 Sistemas de cruzas..... | 25 |
| 2.4 Análisis de resultado..... | 27 |
| 2.4.1 Toxicidad: Supervivencia Promedio y Proporción Sexual..... | 27 |
| 2.4.2 Efecto Reprotóxico: Fertilidad (F), Progenie Promedio (PPM)..... | 27 |
| 2.4.3 Efecto Materno: Progenie Promedio Corregido (PPC)..... | 28 |
| III RESULTADOS..... | 29 |
| 3.1 Toxicidad..... | 29 |
| 3.1.2 Supervivencia Promedio y Proporción Sexual..... | 29 |
| 3.2 Efecto Reprotóxico: Fertilidad, Progenie Promedio y Progenie Corregida..... | 31 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.2.1 Fertilidad..... | 31 |
| 3.2.2 Progenie Promedio total del Sistema de Cruzas..... | 33 |
| 3.2.2. i Progenie Promedio de la cepa silvestre..... | 35 |
| 3.2.2. ii Progenie Promedio de la cepa <i>mei9^omei41^{D5}</i> /FM7c..... | 36 |
| 3.2.2. iii Progenie Promedio de la cepa FM7c/ <i>w⁺</i> | 38 |
| 3.3 Efecto Materno: Genotipo silvestre, mei, FM7c con Progenie Promedio Corregido..... | 40 |
| 3.3.1 Genotipo silvestre..... | 41 |
| 3.3.2 Genotipo silvestre & mei..... | 41 |
| 3.3.3 Genotipo con cromosoma balanceador FM7c..... | 41 |
| IV DISCUSIÓN..... | 45 |
| 4.1 Toxicidad, Efecto Reprotóxico y Efecto Materno..... | 45 |
| 4.1.1 Toxicidad: Supervivencia Promedio Proporción Sexual..... | 45 |
| 4.2 Efecto Reprotóxico..... | 46 |
| 4.2.1 Fertilidad..... | 46 |
| 4.2.2 Progenie Promedio..... | 48 |
| 4.2.2.i Progenie Promedio de la cepa silvestre..... | 50 |
| 4.2.2.ii Progenie Promedio de la cepa <i>mei9^omei41^{D5}</i> /FM7c..... | 50 |
| 4.2.2.iii progenie Promedio de la Cepa FM7c/ <i>w⁺</i> | 51 |
| 4.3. Efecto Materno: Genotipo de la Progenie silvestre, mei y FM7c..... | 52 |
| 4.3.1 Genotipo silvestre..... | 52 |
| 4.3.2 genotipo silvestre & mei..... | 53 |
| 4.3.3 Genotipo con cromosoma balanceado..... | 53 |
| V CONCLUSIONES..... | 55 |
| VI REFERENCIAS..... | 56 |

RESUMEN

Con la evaluación de la actividad genotóxica se busca establecer qué tipo de efecto se asocia a una sustancia o factor físico y la forma e intensidad de la exposición. Todas las células tienen material genético y en consecuencia, son susceptibles de ser afectadas por genotóxicos.

La respuesta genotóxica asociada con la herencia citoplasmática ha sido poco explorada en cuanto al efecto materno relacionado con el óvulo por lo cual se propone a *Drosophila melanogaster* como un modelo para el estudio de la modulación del daño inducido por la exposición a genotóxicos, además de sus múltiples ventajas y la gran cantidad de mutantes, entre los que se encuentran cepas deficientes en recombinación meiótica como *mei9^a* y *mei41^{D5}*. Los mutantes *mei9^a* presentan una tasa elevada de no disyunción de los cromosomas durante la meiosis y se ha mostrado un efecto materno en la descendencia de hembras homocigotas para este gen. Los mutantes *mei9^a* son altamente sensibles a la radiación UV, a los agentes alquilantes y se les considera deficientes en la reparación por escisión de bases. El gen *mei9^a* se considera homólogo de Xeroderma pigmentosum en humanos. Por su parte, los mutantes *mei41^{D5}* también muestran incremento en la no disyunción de cromosomas y en la sensibilidad a agentes alquilantes, aunque en menor proporción que los mutantes *mei9^a*, se ha propuesto que son deficientes en la reparación por recombinación. El gen *mei41^{D5}* se considera homólogo de Ataxia telangiectasia en humanos.

La fertilidad y fecundidad de las hembras homocigóticas para ambos genes es menor que la de las moscas silvestres, por lo que estas cepas se mantienen por medio del cromosoma balanceador FM7, para evitar la homocigosis.

La NaN_3 es un atrapador de oxígeno excitado [$^1\text{O}_2$], e interfiere con la transferencia de electrones en la cadena respiratoria generando especies reactivas de oxígeno. Es un promutágeno que requiere de ser metabolizado para producir el metabolito secundario β - azidoalanina el cual se ha asociado con la actividad mutagénica.

En este trabajo se comparó el impacto de la exposición de machos al promutágeno azida de sodio y de su apareamiento con hembras con diferente contenido citoplasmático en el tipo y cantidad de progenie obtenida.

Larvas de tercer estadio (72 ± 4 h) de la cepa *white* se trataron por alimentación subcrónica por 48 h con diluciones sucesivas de NaN_3 en un rango de concentraciones que va de 1.86E^{-12} a 1.25E^{-03} mM. Se determinó la Supervivencia promedio y la Proporción de sexos de los adultos recobrados. El tratamiento no afectó la supervivencia ni la proporción de sexos en las moscas tratadas, las hembras se descartaron y los machos se utilizaron para las cruza experimentales con hembras no tratadas: w^+/w^+ , $mei9^a mei41^{D5}/FM7c$ y $FM7c/w^+$. Se determinó la fertilidad de las hembras y el tipo y cantidad de la progenie.

Con respecto a la cantidad de progenie se encontraron diferencias en los testigos negativos de acuerdo con la siguiente relación: $w^+/w^+ > FM7c/w^+ > mei9^a mei41^{D5}/FM7c$.

El citoplasma del óvulo sí modula la progenie que se recobra cuando el macho ha sido expuesto a la NaN_3 . La presencia de inversiones afecta la expresión de genes y probablemente la calidad del citoplasma, por lo que en la progenie el impacto del aporte citoplasmático materno se suma al daño inducido al macho progenitor.

Se ha reportado que en *Drosophila* existen genes de desarrollo involucrados en el desarrollo temprano del nuevo organismo que intervienen en la segmentación durante el desarrollo del embrión o que modifica la formación de tricomas en las alas y en especial el caso de los genes $mie9^a$ y $mei41^{D5}$ de efecto materno.

I INTRODUCCIÓN

1.1 Toxicología Ambiental

La Toxicología Ambiental estudia las formas de ingreso, transformación y excreción de sustancias químicas y los mecanismos, a nivel celular o molecular de los procesos de la desintoxicación para entender los diferentes sistemas y capacidades de respuesta de los individuos. Dependiendo del estado de salud, edad y sexo de los organismos, de los procesos químico - biológicos determinados por su constitución genética, así como por la concentración, duración y vía de exposición se llevará a cabo la desintoxicación (Newman & Unger, 2003). El efecto de la exposición a los compuestos puede ser modulado por las características antes descritas, pero también hay que considerar los productos secundarios provenientes de los cambios metabólicos que se originan durante el proceso de biotransformación (Cassaret & Dull, 2001), conjunto de reacciones que modifican a una sustancia para convertirla en otra, generalmente más polar con respecto a la sustancia original. La función y estructura de órganos se relaciona también con los sitios de acción o almacenamiento de los tóxicos.

Las reacciones metabólicas son similares desde los procariontes hasta los eucariontes en cuanto a los procesos de desintoxicación (Peña *et.al*, 2001) y están asociadas con: la producción de energía en los organismos, la transformación de moléculas complejas a otras más sencillas, hidrosolubles y fáciles de excretar; la distribución de metabolitos a órganos y tejidos en los cuales pueden almacenarse o bien pueden ser eliminados a través de los fluidos y productos corporales: orina, heces, sudor, lágrimas, leche o en compartimentos de células especializadas como los adipocitos y los óvulos o huevos. Así, todos los seres vivos presentan la capacidad de detectar y responder a cambios que alteren su ambiente, les brinde o no ventajas.

1.2 Herencia Citoplasmática

En los organismos con reproducción sexual, la formación de un nuevo individuo requiere de la fusión del óvulo y el espermatozoide. Cada progenitor contribuye con la mitad del contenido nuclear: el espermatozoide, de menor tamaño posee un núcleo donde el material genético se encuentra altamente compacto y presenta un flagelo con numerosas mitocondrias que aportan la energía necesaria para su motilidad (Campbell & Reece, 2008); la hembra aporta además del contenido citoplasmático, organelos y nutrientes necesarios para el desarrollo (Russell, 1998), metabolismo y protección del embrión (Kalthoff 1996).

Durante la formación de los espermatozoides, las histonas asociadas al DNA son sustituidas por proteínas tipo protaminas (Fig. 1), las cuales podrían: conferir una mayor compactación del contenido nuclear, proteger al genoma paterno de daño físico y químico desde su formación hasta que se encuentra con el óvulo y estar implicadas en la regulación epigenética (Rathke *et.al*, 2014).

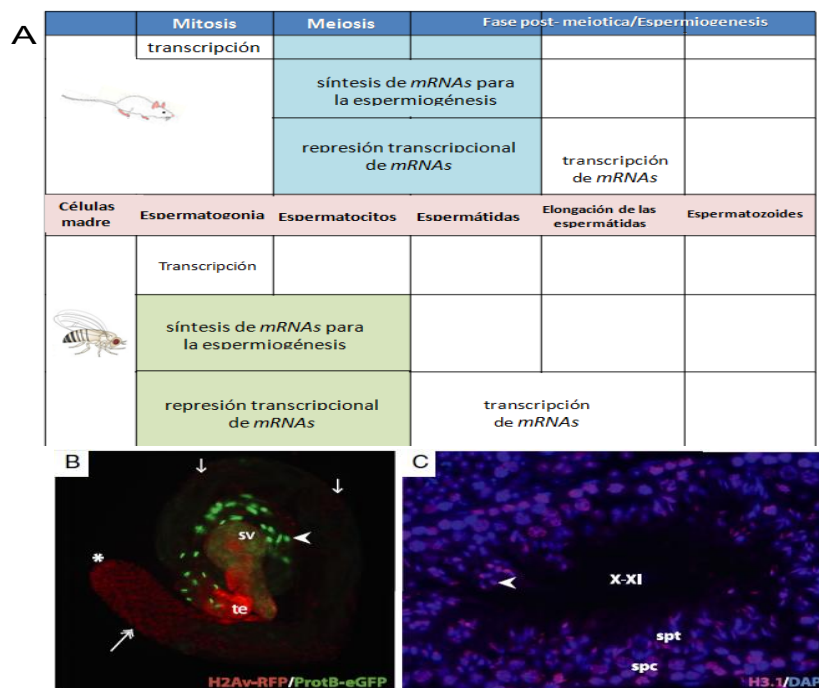


Figura 1. A) Comparación de las etapas de la espermatogénesis en ratón y mosca. La transcripción de *mRNAs* relevantes para la espermiogénesis ocurre previo a la traducción selectiva de *mRNAs* almacenados. B) Espermatogénesis en *Drosophila*; (*), estructura testicular con espermatogonias (rojo); (↓), espermátocitos; (<) espermátidas; espermatozoides en la zona vesicular; (te), células somáticas del epitelio terminal; (sv), vesícula seminal; (C) Espermatogénesis en ratón, X- XI; túbulos seminíferos (azul) e histonas (rojo); (spt), espermátidas; (spc) espermátocitos. Tomado y modificado de: Rathke *et.al*, 2014.

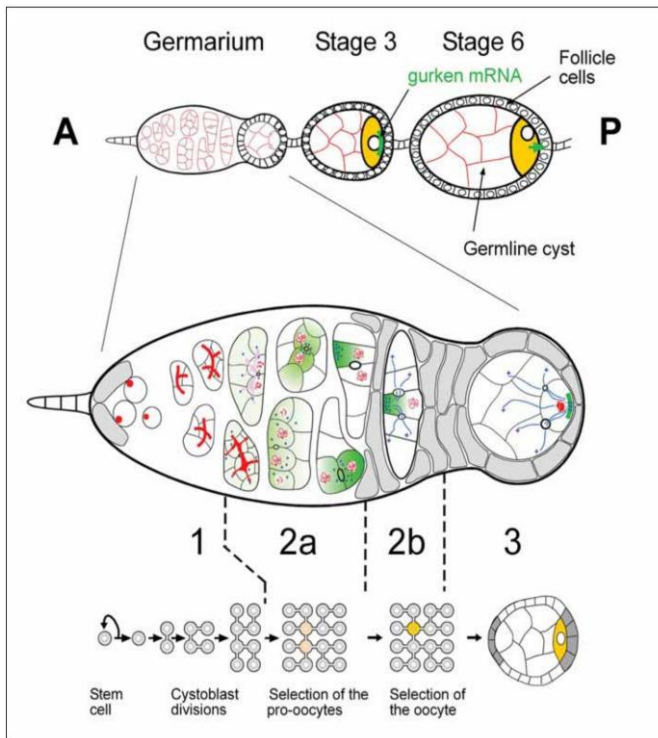


Figura 2. Durante la ovogénesis las células precursoras de la línea germinal se dividen produciendo 16 cistoblastos comunicados entre sí. Una vez que se selecciona el ovocito o la célula que hará la meiosis el resto de las células se convierten en células nodrizas que producen proteínas, *mRNAs* y distribuyen mitocondrias y centrosomas en el ovocito en formación. Tomado de: *Huynh, 2006*

masculino por histonas maternas (Raja & Renkawitz-Pohl, 2005).

Cuando ocurre la fecundación se desencadenan una gran cantidad de reacciones metabólicas, que aceleran la síntesis de DNA y de proteínas requeridas para el resto de la embriogénesis.

El contenido del citoplasma depende exclusivamente del genotipo de la hembra que produce el huevo. Durante la ovogénesis, las células especializadas y denominadas nodrizas producen gran cantidad de proteínas y *mRNAs* que serán utilizados por el embrión como señales posicionales (Fig. 2), factores de transcripción de otros genes y en algunos casos tienen consecuencias drásticas ya que pueden resultar en la letalidad del mismo (Kalthoff, 1996). Por ejemplo, en *Drosophila*, el producto del gen materno *sesame* es indispensable para el recambio de las proteínas tipo protaminas del pronúcleo

Los transcritos de RNA maternos se encuentran latentes hasta que ocurre la fecundación (Nelson & Cox, 2006) para la formación de proteínas en etapas tempranas del desarrollo y enzimas esenciales en rutas metabólicas del ciclo de Krebs, en la fosforilación o la biosíntesis de ácidos grasos durante el resto de las etapas del desarrollo embrionario (Reilly & Thomas, 1980; Hartl & Jones, 2009) como también en la formación del blastodermo (Perrimon, 1988; Loppin *et al*, 2001).

En la estirpe germinal del macho, la reparación de lesiones al DNA ocurre sólo en etapas tempranas de la espermatogénesis, de manera que todas las lesiones que ocurran después de esta etapa tendrán que ser reparadas en el óvulo, por lo que la capacidad y función de la maquinaria del citoplasma de la hembra para reparar el daño al DNA dependerá no solo de la calidad del citoplasma del óvulo sino del tiempo en el cual se haya producido daño al material genético del espermatozoide (Baker *et.al*, 1976; Rathke *et.al*, 2014).

La participación de organelos y demás componentes citoplasmáticos del óvulo son esenciales para la sobrevivencia de nuevos individuos, sin embargo, esta respuesta ha sido poco explorada en modelos *in vivo* y menos aún a nivel poblacional, principalmente por el tiempo de duración y costo del estudio para poder darle seguimiento con un gran número de individuos.

1.2.1 *Efectos Reprotóxicos*

Los organismos se encuentran en constante exposición a una gran variedad de sustancias químicas en diferentes dosis (Lovell, 2000) que afectan los atributos reproductivos entre los que se encuentran la fertilidad, la fecundidad, estructurales de órganos reproductores y cortejo, también la integridad del genoma pero a nivel de gametas y pueden heredar el daño a la siguiente generación (Trujillo 2015).

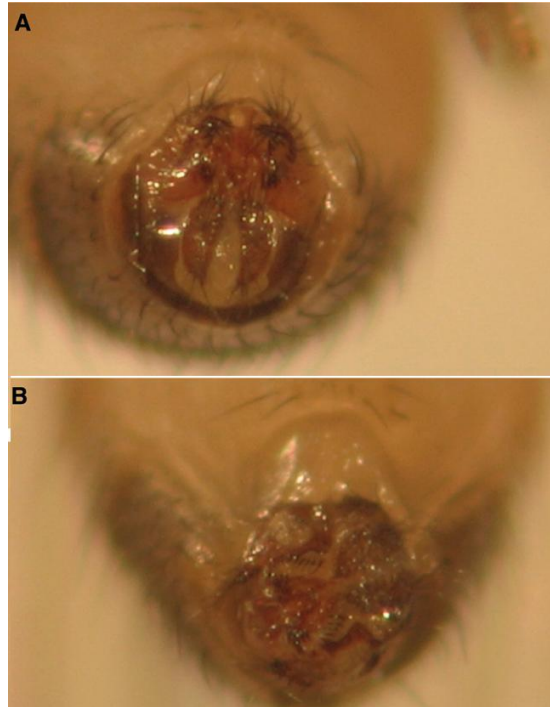


Figura 3. Rotación de la placa genital de macho en *Drosophila melanogaster* por la exposición a metopreno durante la etapa larval. A) Placa genital normal. B) Placa genital irregular. Tomado de: Bauman *et.al*, 2010.

Dentro de los efectos reprotóxicos que reflejan el daño ocasionado a los organismos por haber estado expuestos a sustancias químicas; están la Fertilidad que permite evaluar la capacidad de tener descendencia, la Fecundidad o cantidad de progenie por pareja que es un indicador de cómo se modifica la cantidad de la progenie producida en las poblaciones de un nicho. Las características que reúne un organismo para poder sobrevivir y reproducirse eficazmente pueden ser alteradas en distintos niveles. Ya sea alteración de las estructuras reproductoras como sucede en *Drosophila melanogaster* (Marsall & Uller, 2007) cuando alguno de los sexos se ve limitado a los eventos de cópula por la incompatibilidad estructural de las placas genitales (origen somático) debido a la exposición de compuestos químicos (Fig. 3B) (Baker & Lambdin, 1985; Bauman *et.al*, 2010) o bien por las lesiones que se encuentren en el DNA de las células de la línea germinal afectando la capacidad reproductora como en moscas de

Drosophila deficientes en recombinación meiótica que son poco prolíficas por ser portadoras de genes como *mei9^a* y *mei41^{D5}* (Baker *et.al*, 1976; Zimmering & Cooper, 1980; Zimmering *et.al*, 1980; Zimmering & Deitemeyer, 1981; Vogel & Nataraja, 1995).

Actualmente ha llamado la atención el efecto en la salud reproductora de compuestos con actividad como disruptores hormonales los cuales modifican la capacidad reproductora de los organismos porque alteran el control de la producción regular de hormonas en la reproducción, la diferenciación sexual y el metabolismo. Los disruptores hormonales pueden ser de origen natural, o producidos por síntesis química. Se asocian con diferentes usos, como polímeros de recubrimiento, en cosméticos, pinturas y en envases como el bisfenol y los falatos (Moreno & Álvarez, 2012).

Por su parte, las habilidades de cada individuo para adaptarse al ambiente les permite o no a su vez la capacidad de adecuación ya que no solo importa reproducirse, sino que la cantidad de descendencia es importante para establecer poblaciones exitosas. Es relevante cuantificar la progenie producida de acuerdo al número de progenitores que tuvieron hijos (Marsall & Uller, 2007).

Si bien los modelos de mamíferos, diferentes a los humanos; son sumamente valiosos por la cercanía evolutiva, otros modelos biológicos presentan características ventajosas para este tipo de estudios. Por ejemplo, los insectos como *Drosophila melanogaster*, útiles por la gran cantidad de progenie producida en un corto periodo, bajo costo comparado con otros sistemas de mamíferos y requiere de poco espacio (Demerec, 1994; Trujillo, 2015).

1.3 *Drosophila melanogaster*

La familia de dípteros comunes que incluyen a los Drosofilidos (mosca del vinagre) se encuentran en una gran variedad de hábitats, son benéficos en muchos aspectos para el hombre y el ambiente como en la investigación (Brusca & Brusca, 2003) ya que es un insecto holometábolo porque reúne todas las fases del desarrollo para facilitar su estudio (huevo, larva, pupa e imago) (Demerec, 1994).

En el corto tiempo de duración del ciclo de desarrollo (Fig. 13) con 10-12 días a 25 °C, produce gran cantidad de progenie y requiere un bajo costo de mantenimiento. Presenta dimorfismo sexual, lo que facilita una rápida identificación de sexos.

Es un organismo modelo para el estudio del comportamiento reproductivo del imago (Lushchak, *et.al*, 2013; Trujillo, 2015) y la respuesta ante estímulos sensoriales de cortejo durante el apareamiento de la mosca adulta (Pandey & Nichols, 2011) e igual que otros modelos biológicos como *Mus musculus* (Arenaz & Nilan, 1981); *Zea mays*, *E. coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Neurospora crassa* y *Arabidopsis thaliana* para el estudio de la metabolización *in vivo* de diferentes mutágenos (Graf *et.al*, 1978) por la actividad enzimática del citocromo P- 450 homólogo de la fracción S9 del hígado de mamíferos (Baars, *et.al*, 1980; Yang, *et.al*, 2007), mecanismos de excreción de xenobióticos en los túbulos de Malpighi (Yang, *et.al*, 2007; Chahine *et.al*, 2012) y enfermedades metabólicas a partir de estructuras y proteínas homólogas en el humano (Sekelsky *et.al*, 1995; Dusenbery & Smith, 1996; Sibon *et.al*, 1999; Nelson & Cox, 2006; Lewin, 2008; Pandey & Nichols, 2011).

Drosophila es un organismo ideal para estudiar también los aspectos de la herencia citoplasmática (Vogel, 1975; Pandey & Nichols 2011; Chajine, & O'Donell, 2011) y el efecto de genes maternos, genes del desarrollo durante la embriogénesis (Pandey & Nichols 2011), longevidad, producción de huevos e inducción de daño al genoma (Vogel, 1975; Pandey & Nichols, 2011) en linajes celulares somáticos y germinales (Graf & Singer, 1992) y para evaluar los eventos de no disyunción sexual (Sobels, 1974).

1.3.1 Mutantes no morfológicos

Además de los mutantes morfológicos que han sido sumamente valiosos en el estudio de la herencia, existen muchos más genes que no tienen una expresión morfológica distinguible a simple vista, tal es el caso de genes relacionados con el

metabolismo como cepas en las que se sobreexpresan la superóxido dismutasa $cu - zn$ y la catalasa (Orr & Sohal, 1994), la recombinación y el ciclo celular mitótico (Ferrus, 1975), genes de efecto materno (Casso *et.al*, 2000), genes letales recesivos (Graf *et. al*, 1983) y genes asociados con la reparación del DNA (Baker & Carpenter, 1972).

Debido al inespecífico reconocimiento del fenotipo, y con frecuencia a la baja fertilidad de algunos mutantes o a que muchos de ellos son letales en homocigosis, se recurre para su mantenimiento al uso de arreglos cromosómicos asociados con marcadores morfológicos (Linsdley & Zimm, 1992; Ramírez, 2003).

1.3.2 Cromosomas Balanceadores

Los cromosomas son el nivel más alto de organización del genoma que contiene la célula, debido a que la cromatina adopta diferentes estados de compactación durante el ciclo celular de la mitosis o bien de la meiosis, según sea el caso (Lewin, 2008). Sin embargo, durante la división celular el material genético puede ser dañado en diferentes niveles; en este caso, los cromosomas pueden sufrir alteraciones numéricas como las aneuploidías, o bien diferente tipo de aberraciones estructurales como inversiones, translocaciones, duplicaciones o deleciones. Las inversiones cromosómicas son del tipo de aberraciones cromosómicas que no implican la pérdida de información genética, pero sí el reordenamiento lineal de la secuencia de genes (Klug *et. al*, 2008). El cambio en la secuencia de genes puede ocurrir de manera espontánea o inducida a través de agentes mutagénicos como los rayos X (Fig. 4).

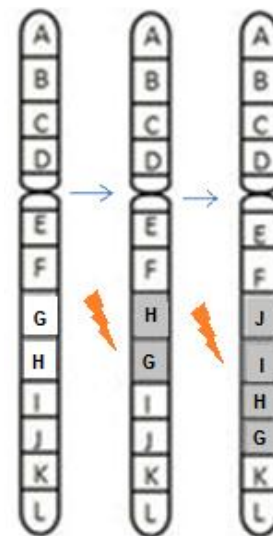


Figura 4. Inversiones cromosómicas

Drosophila fue el primer organismo en el que se estudió el efecto de las radiaciones. Hermann Joseph Müller en 1946 al exponer de manera repetida a moscas al efecto de radiaciones determinó que se producían alteraciones en la secuencia lineal de genes. Tras varias ocasiones de exposición a la radiación logró construir los primeros arreglos cromosómicos como el cromosoma balanceador *Muller5*, que incluía numerosas inversiones pero que producía organismos viables. Al cruzar a hembras con cromosomas X con el orden normal de genes (silvestre) con machos portadores del cromosoma invertido, solo encontró progenie con el cromosoma silvestre o con el cromosoma invertido. Aunque en los cromosomas con inversiones y los cromosomas no invertidos la sinapsis ocurre en los segmentos homólogos (Greenspan, 2004; Klug *et.al*, 2008; Carlson, 2009), por lo que concluyó que la presencia de inversiones múltiples interfiere con la producción de productos recombinantes viables. En los cromosomas balanceadores se utilizan genes morfológicos dominantes (algunos letales) para identificar al organismo portador de un cromosoma balanceador.

Así, los cromosomas balanceadores ayudan a:

- Eliminar la homocigosis en organismos con genes de efecto deletéreo, letal o sin una manifestación en la morfología del organismo homocigótico.
- Evitar los arreglos viables como producto de la recombinación durante la meiosis y de esta manera, a mantener estable el arreglo (Lindsley & Zimm, 1992).
- Identificar el fenotipo del organismo portador con base en marcadores para color y/o forma de ojos, cerdas y color de cuerpo, entre otros (Lindsley & Zimm, 1992; Ralph, 2004).

En la investigación con *Drosophila melanogaster*, Müller fue el primero en implementar a los cromosomas balanceadores como herramienta para eliminar el efecto deletéreo o el efecto letal de algunos genes en condición homocigota como por ejemplo fused (*fu*), que interviene en la segmentación durante el desarrollo del

embrión o flare (*flr³*), que alterna la organización de estructuras quitinosas y modifica la formación de tricomas en las alas (Lindsley & Zimm, 1992).

Se han diseñado varios cromosomas con inversiones múltiples que sirven para evitar la condición homocigota de los genes letales en el cromosoma tres, como *TM3* (third multiple third version); el cromosoma dos, como *SM5* (second multiple, fifth version); el cromosoma X, como *Basc* que es derivado del balanceador *Müller 5* generado por primera vez por Müller y el cromosoma *FM7c* (First Multiple seventh version) (Cuadro 1) (Lindsley & Zimm, 1992).

Cuadro 1. Cromosoma balanceador First Multiple Seventh **FM7c (1):** y^{31d} , sc^8 , w^a , B , sn^{x2} , v^{of} , g^4

| Alelo | Referencia | Origen | Característica que confiere |
|--------------|-------------------|---------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| y^{31d} | Patterson | Rayos X | Gen recesivo que produce color de cuerpo amarillo y alas grises. |
| sc^8 | Sidorov, 1929 | Rayos X | Es un arreglo del cromosoma X que abarca de la región 1B2- 3; 20B-D1 y confiere efecto letal en machos X/0. |
| w^a | Huestis, 1923 | Espontáneo | Alelo recesivo del gen white (w) que produce ojos de color durazno (apricot). |
| B | Tice, 1914 | Espontáneo | Gen dominante ubicado sobre cromosomas X, en condición homocigota confiere la forma de ojos en barra para machos y en hembras en condición heterocigota produce forma de los ojos en muesca. |
| sn^{x2} | Mohr | Espontáneo | Gen recesivo que provoca que la cerdas del cuerpo sean rizadas. Las hembras homocigóticas para este alelo fallan en la vitelogenesis y los huevos no se desarrollan. |
| v^{of} | Offerman | Rayos X | Gen recesivo para el color de ojo escarlata brillante por la ausencia del pigmento café en los omocrómeros. |
| g^4 | Bridges, 1916 | Rayos X | Gen recesivo que codifica para una proteína que provoca que el color del ojo se intensifique con la edad hasta alcanzar un color café. |

1.3.3 Genes deficientes en reparación

Se conocen más de 30 mutantes deficientes en reparación de daño a DNA en la mosca de la fruta (Boyd & Setlow 1976), como las cepas $mei9^a$ y $mei41^{D5}$ que son deficientes en recombinación meiótica. Fueron identificados por Baker y Carpenter en 1972 y deben su nombre por presentar deficiencia en mecanismos de

reparación y en la recombinación meiótica. Las hembras homocigotas para estos genes tienen un fenotipo silvestre y son viables aunque poco prolíficas (Lindsley & Zimm, 1992; Baker *et.al*, 1976; Smith & Huang, 1997).

1.3.3.1 Gen *mei9^a*

Es un gen autosómico recesivo que incrementa la sensibilidad de las larvas a la radiación y a compuestos mutagénicos como metil-metano sulfonato (MMS) (Baker *et.al*, 1976; Lindsley & Zimm, 1992), incrementa el rompimiento cromosómico y eventos de no disyunción (Boyd *et.al*, 1976; Hari *et.al*, 1995) dando inestabilidad a las células somáticas (Baker & Carpenter, 1972; Baker *et.al*, 1976; Banga *et.al*, 1995; Yildiz *et.al*, 2004). Incrementa la frecuencia de eventos de no disyunción entre cromosomas sexuales de hembras y machos (Baker & Carpenter, 1972; Baker *et.al*, 1976; Boyd *et.al*, 1976; Sibon, 1999). Hay pérdida de la progenie de machos provenientes de hembras homocigotas progenitoras *mei9^a/mei9^a* (efecto materno) por la pérdida parcial o total de cromosomas sexuales (Baker *et.al*, 1976; Zimmering & Cooper, 1980; Zimmering *et.al*, 1980; Zimmering & Deitemeyer, 1981) y afecta la fertilidad (Baker *et.al*, 1976; Zimmering & Cooper, 1980; Zimmering *et.al*, 1980; Zimmering & Deitemeyer, 1981).

El gen *mei9^a* en *Drosophila* codifica para la proteína *Dm- endonucleasa* involucrada en la escisión deficiente de bases dimerizadas (Sekelsky *et.al*, 1995; Dusenbery & Smith, 1996). En humanos es homólogo del gen *XP* relacionado con Xeroderma pigmentosum, desorden congénito que genera manchas y úlceras en la piel, daña ojos, sistema nervioso, mala coordinación, genera convulsiones y predispone a los individuos a adquirir melanomas (Mishra *et.al*, 2014) y cáncer de mama (Spring *et.al*, 2002) a causa de la deficiencia celular para llevar a cabo la reparación del DNA por la exposición a los rayos UV de la luz solar y/o agentes metilantes.

La deficiencia en la proteína que lleva a cabo la escisión del daño puede deberse a los dominios con ácido aspártico que conforman a la endonucleasa, esto para la

actividad regular pero en los mutantes *mei9^a* hay dominios con asparagina; lo que se ha reportado puede ser la diferencia entre escindir o no las bases dimerizadas (Hari *et.al*, 1995).

1.3.3.2 Gen *mei41^{D5}*

Es un gen autosómico recesivo (Lindsay & Zimm, 1992; Baker *et.al*, 1976) que produce rompimientos cromosómicos (Hari *et.al*, 1995; James *et.al*, 1989) lo que da inestabilidad a células somáticas (Baker & Carpenter, 1972; Baker *et.al*, 1976; Banga *et.al*, 1995). Incrementa la frecuencia de eventos de no disyunción entre cromosomas sexuales de hembras y machos (Baker & Carpenter, 1972; Baker *et.al*, 1976; Boyd *et.al*, 1976). Está asociado al efecto materno por la pérdida parcial o total de cromosomas sexuales (Zimmering & Cooper, 1980; Zimmering *et.al*, 1980; Zimmering & Deitemeyer, 1981) y la disminución de la cantidad de progenie aunque no tanto como en los mutantes *mei9^a/mei9^a* (Baker *et.al*, 1976; Zimmering & Cooper, 1980; Zimmering *et.al*, 1980; Zimmering & Deitemeyer, 1981). También presentan deficiencia en el reconocimiento del daño al DNA durante la división celular de la blástula (Sibon *et.al*, 1999). Los organismos *mei41^{D5}* son altamente sensibles a los agentes metilantes como metil- metano-sulfonato (MMS), etil- metano sulfonato (EMS), y a mutágenos como mostaza de nitrógeno (HN₂) y/o 2-acetilaminofluoreno (AAF), naranja de acridina (AO), bromuro de etidio (EB) y a algunos promutágenos (Graf U. *et.al*, 1984; Graf *et.al*, 1990; Graf & Singer, 1992) con posible efecto clastogénico como azida de sodio (González, 1997).

La proteína *Dm*- kinasa (Dusenbery & Smith, 1995) relacionada con la reparación del daño al DNA codificada por el gen *mei41^{D5}* en *Drosophila* es homóloga de la proteína mutada *AT*- kinasa en humanos que está relacionada con Ataxia telangiectasia, enfermedad que produce leucemias, linfomas, tumores y deficiencia en la reparación del daño al DNA causado por la radiación ionizante y agentes metilantes, predisponiendo a los individuos a adquirir melanomas (Mishra *et.al*, 2014) y cáncer de mama (Spring *et.al*, 2002); ésta pertenece a la familia de

las kinasas con mayor número de residuos de serina y tirosina importantes para las señales de transducción hormonal, controlar la actividad de receptores membranales, diferenciación celular y detección del daño por ruptura a DNA (Rendón & Robles, 2000). La actividad irregular de dicha proteína puede deberse a la menor cantidad de elementos *P* que ayudan por ejemplo, a la transformación de la resistencia a metil metano sulfonato (MMS) y elevar la fertilidad de las hembras *mei41* (Banga *et.al*, 1995). Por lo que la baja cantidad de elementos transponibles permite que la transcripción del gen produzca una proteína con un dominio deficiente y pocos residuos de serina y tirosina esenciales para el reconocimiento de daño a DNA (Banga *et.al*, 1995; Gatei *et.al*, 2001; Majumdar *et.al*, 2013).

1.3.3.3 Doble mutante *mei9^a-mei41^{D5}*

En *Drosophila*, los mutantes dobles *mei9^a mei41^{D5}/FM7c*, son altamente sensibles a la luz UV y a los agentes alquilantes, incrementan la frecuencia de no disyunción y de rompimientos cromosómicos, pero la frecuencia de no disyunción es similar a la de las moscas silvestres cuando se encuentra en condición heterocigota con el cromosoma balanceador FM7c, no obstante, se ha observado que moscas heterocigas parecen mostrar una sensibilidad diferente ante ciertos mutágenos y mezclas complejas (Ramírez, 2003) que pueden estar involucrando otras rutas de metabolización de genotóxicos y no únicamente como mutantes en recombinación meiótica.

Los mutantes homocigotos de genes recesivos como *mei9^a mei41^{D5}* (Boyd *et.al*, 1976; Baker *et.al*, 1976) son manejados con inversiones cromosómicas para balancear la cepa, o sea que al implementar cromosomas balanceadores como el *FM7c* se puede identificar el fenotipo del organismo portador por la expresión de marcadores morfológicos para color y/o forma de ojos, tricomas del cuerpo, sedas y color del cuerpo (Lindsley & Zimm, 1992; Ralph, 2004) debido a que los organismos *mei9^a mei41^{D5}* tienen un fenotipo silvestre (Fig 5).

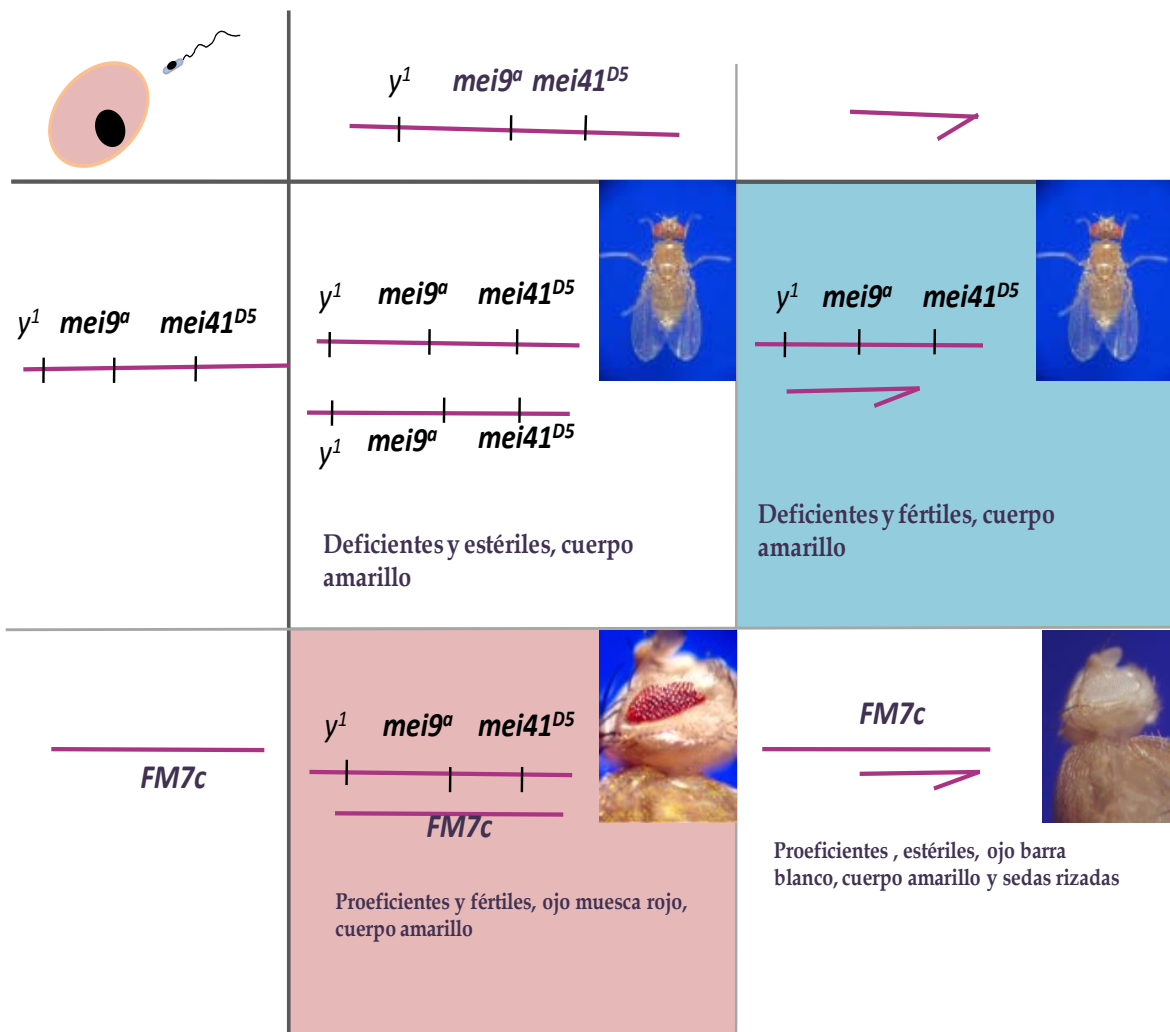


Figura 5. Cepas deficientes en recombinación meiótica balanceadas con el cromosoma *FM7c*. Para balancear la cepa se cruzan hembras eficientes y fértiles ($y^1 \text{ mei9}^a \text{ mei41}^{D5} / FM7c$) con machos deficientes y fértiles ($y^1 \text{ mei9}^a \text{ mei41}^{D5} / Y$)

1.4 Azida de Sodio

1.4.1 Mecanismo de acción de la azida de sodio (NaN_3)

La NaN_3 se obtiene combinando sodamida con óxido nitroso (Arenaz *et.al*, 1989) es un promutágeno (Owais & Kleinhofs, 1988) que induce recombinación en

células somáticas por su potencial clastogénico (González, 1997) y pertenece a las azidas inorgánicas. Es un atrapador de oxígeno excitado [$^1\text{O}_2$], razón por lo que interfiere con la transferencia de electrones en la cadena respiratoria (Owais & Kleinhofs, 1988; González, 1997) generando a su vez, especies reactivas de oxígeno. Es un promutágeno que requiere de ser modificado por la O- acetil- L-serina- sulfidrilasa para producir el metabolito secundario β - azidoalanina, que tiene actividad mutagénica (Owais et.al, 1981; Owais et.al, 1983).

1.4.2 Usos de la azida de sodio

Se ha implementado en la agricultura como herbicida, nematicida, fungicida (Kamra & Gollapudi, 1979) y para inhibir la germinación de semillas (Owais et.al, 1979; Arenaz et.al, 1989). En la industria se usa como conservador de medicamentos (González, 1997; Enciclopedias de Salud y Seguridad para el Trabajo como Guía de Productos Químicos, 2010). En medicina se usa como vasodilatador para la hipertensión arterial (Sander et.al, 1978; Arenaz et.al, 1989) y en la investigación con varios modelos biológicos como mutágeno de referencia (Kleinhofs et.al, 1975; Owais & Kleinhofs, 1988) por ejemplo en cultivos celulares de plantas como *Pisum sativum*, *Zea mays*, *Vicia faba* (Kleinhofs, 1978; Rosichan et.al, 1983) como también en cultivos bacterianos de *S. typhimurium* [TA1530] (Owais et.al, 1981 c; Owais et.al, 1983) y *E. coli* (Kleinhofs et.al, 1975), como mutágeno débil en cultivos celulares de ratón *Mesocricetus auratus* y leucocitos de humano (Sander et.al, 1978), *A. thaliana* y *N. crassa* (Rosichan et.al, 1983). Y en la investigación con *Drosophila*, como clastógeno y recombinógeno (González, 1997; Arroyo, 2014).

Justificación

La formación de un nuevo individuo requiere de la fusión del genoma del óvulo y el espermatozoide. Cada progenitor es igualmente importante y a pesar que el espermatozoide es de menor tamaño contribuye con la mitad de la información genética al igual que el óvulo pero éste, además contribuye con el contenido citoplasmático (organelos y nutrientes para el desarrollo, metabolismo y reparación de daño al DNA) (Kalthoff, 1996; Russell, 1998).

Cuando alguno de los progenitores ha estado en presencia de sustancias que dañan el material genético es posible que el daño pueda alcanzar a la siguiente generación o derivar en un fallo en la formación del nuevo individuo. El contenido del óvulo resulta fundamental ya que aporta los elementos necesarios para hacer compatible al DNA paterno (reemplazando proteínas tipo protaminas) y en su caso, para reparar algún posible daño en el DNA.

La participación de organelos y demás componentes citoplasmáticos del óvulo son esenciales para la sobrevivencia de nuevos individuos, sin embargo, esta respuesta ha sido poco explorada en modelos *in vivo* y menos aún a nivel poblacional, principalmente por el tiempo de duración y costo del estudio para darle seguimiento a varias generaciones y a un número suficiente de individuos para obtener efectos significativos.

Objetivos

General

- Determinar la modulación por efecto materno del daño reprotóxico inducido por la azida de sodio en machos de *D. melanogaster*.

Particulares

- Evaluar el efecto tóxico de la azida de sodio en el progenitor masculino.
- Estimar el efecto reprotóxico de la azida de sodio en la progenie de machos tratados y hembras no tratadas.
- Comparar la proporción de los diferentes fenotipos recobrados de las cruzas de machos *w/Y* tratados con hembras no tratadas:

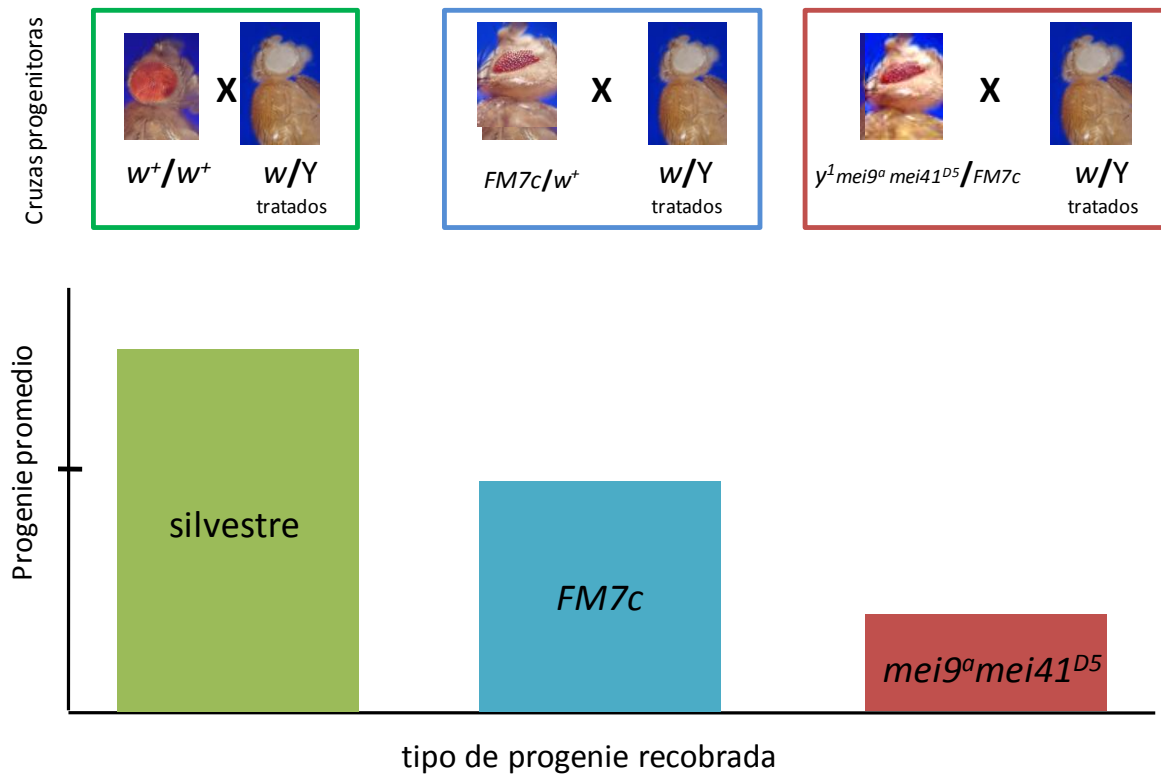
w⁺/w⁺, mei9^a mei41^{D5}/FM7c, FM7c/w⁺.

- Comparar a progenie con el mismo genotipo que es producida por hembras progenitoras con diferente genotipo.
- Comparar a la progenie portadora de los genes *mei9^a* y *mei41^{D5}* con la progenie silvestre y con la progenie portadora del cromosoma balanceador *FM7c*.
- Determinar qué implicaciones tiene la presencia de los genes *mei9^a* y *mei41^{D5}* en conjunto con cromosomas balanceadores en la progenie recobrada.

Hipótesis

El daño inducido al macho tratado con azida de sodio durante la formación de sus espermatozoides (Kalthoff, 1996) será modulado dependiendo de la constitución genética del citoplasma del óvulo (Schupbach, 1986).

Sistema de cruzas



Se espera obtener mayor proporción de la progenie silvestre (w^+/w^+), que progenie $FM7c$ y a su vez que la progenie $mei9^a\ mei41^{D5}$.

II MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales

2.1.1 Líneas de moscas

Se utilizaron tres diferentes cepas de *Drosophila melanogaster*:

- a) silvestres (Canton- S),
- b) white (*w*), alelo recesivo del gen w^+ localizado en el cromosoma X a 1.5 *um*, las moscas con este fenotipo presentan ojos de color blanco (Lindsley & Zimm, 1992).
- c) $y^1mei9^a mei41^{D5}/FM7c$.

2.1.2 Compuesto

La azida de sodio (NaN_3) de proveedor Sigma-Aldrich [CAS26628- 22-8].

2.2 Tratamiento con azida de sodio.

2.2.1 Obtención de larvas para el tratamiento

Un cultivo maduro de hembras y machos de la cepa *w* se transfirió a medio fresco por 8 horas para coleccionar huevos. Se esperó a que las larvas alcanzaran el tercer estadio (72 ± 4 hr) para extraerlas del medio de cultivo mediante un gradiente de sacarosa al 20% (Nöthinger, 1970).

2.2.2 *Tratamiento*

A partir de una concentración stock de 0.3 mM se realizaron diluciones sucesivas a diferentes molaridades: 0.125, 0.00049, $3.05E^{-05}$, $3.81E^{-06}$, $2.38E^{-07}$, $1.86E^{-09}$, $1.46E^{-11}$, $1.82E^{-12}$ y como disolvente y testigo negativo se utilizó H₂O destilada.

Aproximadamente entre 100 larvas de la cepa *w* se colocaron en tubos homeopáticos con 1g de medio instantáneo (Carolina Biological Supply) hidratado con 4.5 mL de las disoluciones con azida de sodio previamente realizadas [0.125 a $1.82E^{-12}$ mM] ó con agua destilada. En total se realizaron cuatro tratamientos y en cada uno dos réplicas (series) de cada concentración (Fig. 6)

Tratamiento con NaN_3

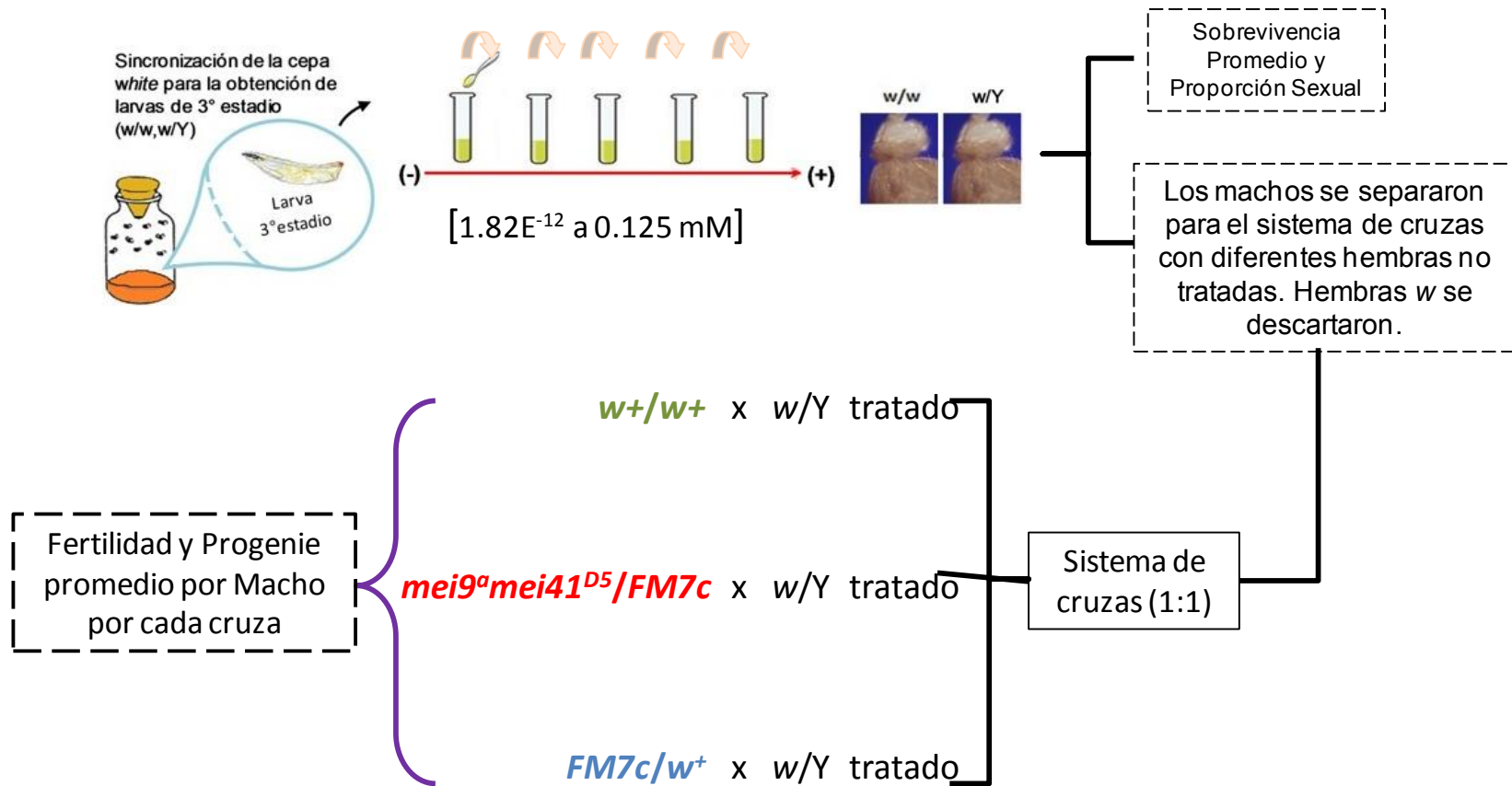


Figura 6. Tratamiento subcrónico con azida de sodio (NaN_3) en la cepa de moscas white. Los machos w/Y se usaron para el Sistema de cruzas.

2.3 Sistema de cruzas

Para determinar si la constitución genética de las hembras modula el daño inducido por la NaN_3 en los machos expuestos, se realizaron cruzas en una proporción 1:1, es decir, se tomó a un macho w/Y tratado y una hembra virgen no tratada por tubo. Las hembras fueron: w^+/w^+ , $mei9^a mei41^{D5}/FM7c$, ó $FM7c/w^+$ (Fig.7)

El número de familias generadas varió dependiendo de la disponibilidad de las hembras al momento de hacer las cruzas: con las hembras w^+/w^+ fueron 60, con las hembras $mei9^a mei41^{D5}/FM7c$ fueron 50 y para las hembras $FM7c/w^+$ se generaron 30 familias.

Después de esperar cinco días a que los progenitores copulen se descartaron para evitar que las hembras sigan poniendo huevos y evitar que se mezclen con la F_1 , la cual emergió alrededor de 10 a 12 días después de iniciada la crusa.

Se recobró a la F_1 de cada crusa progenitora para cada concentración y se contabilizó el número de hembras y machos de cada fenotipo.

SISTEMA DE CRUZAS

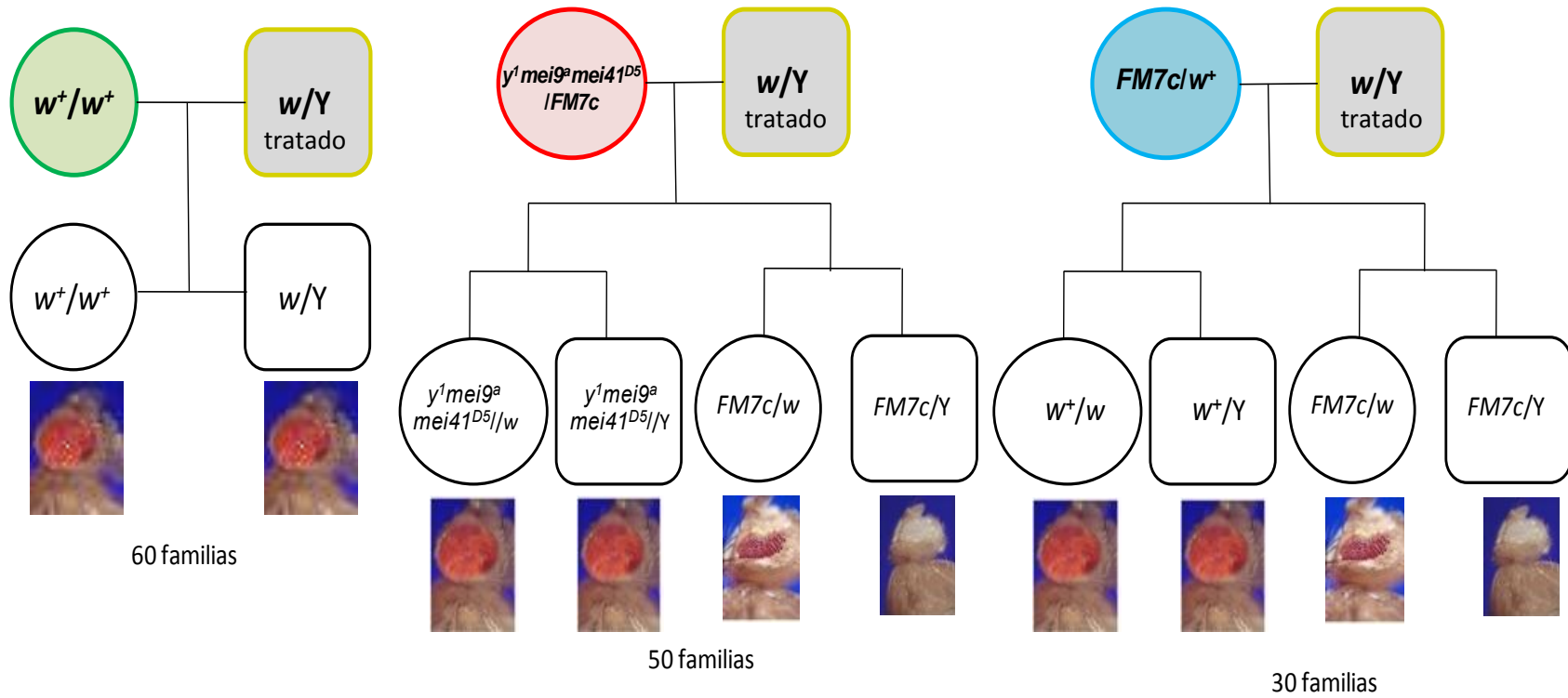


Figura 7. Sistema de cruzas donde se utiliza a los machos white tratados x hembras: w^+/w^+ , $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/IFM7c$, $FM7c/w^+$ no tratadas.

2.4 Análisis de Resultados

2.4.1 Toxicidad: Sobrevivencia promedio (SP) y Proporción sexual (Psx).

Los adultos recobrados se clasificaron por sexo y se cuantificaron. Para determinar la toxicidad del tratamiento en los organismos expuestos y si éste afecta a alguno de los sexos preferentemente se calculó la Sobrevivencia Promedio (SP) y la Proporción de Sexos (Psx) como:

$$\text{Sobrevivencia Promedio} = \frac{\text{Promedio total de organismos recobrados por concentración}}{\text{Promedio total de organismos en el lote testigo}}$$

$$\text{Proporción sexual} = \frac{\text{\# total de hembras o machos recobrados de cada concentración}}{\text{\# total de organismo recobrados de cada concentración.}}$$

La sobrevivencia promedio por tubo de los lotes testigo y experimentales se comparó mediante un ANOVA de un criterio con un $\alpha = 0.05$. En caso de encontrar diferencias significativas se calculó la prueba de Tukey con un $\alpha = 0.05$.

2.4.2 Efecto reprotóxico: Fertilidad (F), Progenie Promedio por Macho (PPM).

Mediante los estimadores de la Fertilidad (F) y la Progenie Promedio por Macho (PPM) se evalúa cuánto afectó el tratamiento con la azida de sodio en las capacidades reproductoras de los machos w/Y y cómo se modifica la cantidad de hijos obtenidos de las tres diferentes cruas.

$$\text{Fertilidad} = \frac{\text{\# de machos con progenie para cada concentración y en el lote testigo}}{\text{\# total de machos que fueron cruzados en cada concentración y en el lote testigo.}}$$

$$\text{Progenie Promedio por Macho} = \frac{\text{\# de machos que tuvieron progenie para cada concentración y en el lote testigo}}{\text{\# total de machos cruzados en cada concentración o en el lote testigo}}$$

Se comparó la fertilidad entre testigo y experimentales con una prueba de Z para proporciones con un $\alpha = 0.05$. La progenie promedio por macho de los lotes testigo y experimentales se comparó mediante un ANOVA de un criterio con un $\alpha = 0.05$. En caso de encontrar diferencias significativas se calculó la prueba de Tukey con un $\alpha = 0.05$.

2.4.3 Efecto Materno: Progenie Promedio Corregida (PPC).

Para cada cruce, se obtiene una proporción genotípica de acuerdo a la constitución genética de las hembras progenitoras, según sea el caso para las hembras no tratadas (w^+/w^+ , $y^1\ mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$, $FM7c/w^+$) por machos w/Y tratados. A pesar que el sistema de cruces está conformado por tres diferentes hembras pero que presentan un gen o un arreglo cromosómico en común es posible comparar las proporciones genotípicas similares entre hembras y machos obtenidos para cada cruce.

Para comparar la variación entre genotipos similares de hembras y machos obtenidos del sistema de cruces formado por hembras de diferente constitución genética (w^+/w^+ , $y^1\ mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$, $FM7c/w^+$) se obtiene la Progenie Promedio Corregida (PPC). Este estimador permite evaluar la variación entre las progenies con genotipos similares a pesar que se produce de diferentes genotipos maternos. Como la progenie de cada concentración (testigo y experimentales) se divide entre la recobrada en el testigo, el testigo tendrá un valor de progenie igual a 1 y la obtenida en las series experimentales fluctuará alrededor de este valor.

| | | |
|--------------------------------|---|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Progenie Promedio Corregida | = | $\frac{\text{Promedio total de organismos de cada concentración y del lote testigo}}{\text{Promedio total de organismos del lote testigo.}}$ |
|--------------------------------|---|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

III RESULTADOS

3.1 Toxicidad:

3.1.2 Sobrevivencia Promedio y Proporción Sexual.

La sobrevivencia promedio se determinó con los organismos recobrados del tratamiento con la NaN_3 ; primeramente para evaluar la toxicidad del compuesto que se administró a los organismos en etapa larval y posteriormente determinar si afectó a uno de los sexos en particular (Fig. 8a y 8b), respectivamente.

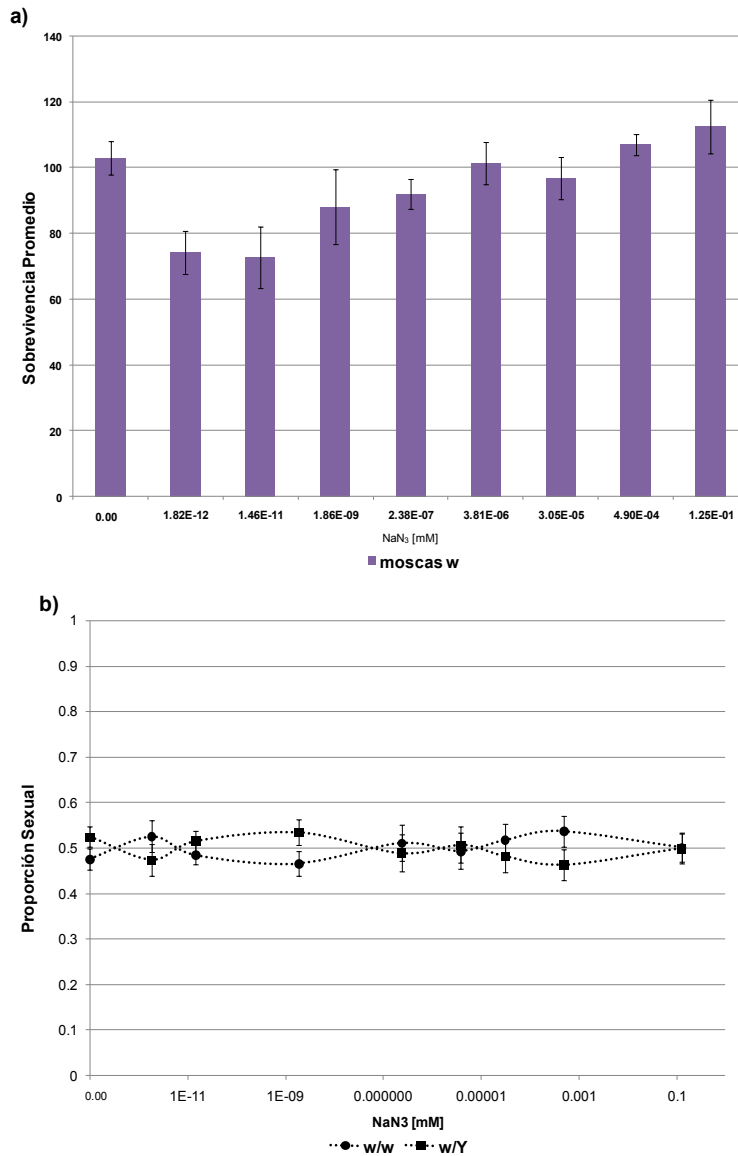


Figura 8: a) Sobrevivencia Promedio y b) Proporción Sexual de moscas *white* tratadas con azida de sodio.

Tabla 1 a). Sobrevivencia Promedio y Proporción Sexual de moscas *white* tratadas con azida de sodio.

| [NaN ₃] | N | w/Y | SP | ± ee | PSx h | ± ee | PSx m | ± ee |
|---------------------|-----|-----|--------|--------|-------|--------|-------|--------|
| testigo | 412 | 215 | 103.00 | ± 0.00 | 0.48 | ± 0.02 | 0.52 | ± 0.02 |
| 1.82E-12 | 297 | 148 | 74.25 | ± 0.03 | 0.53 | ± 0.03 | 0.47 | ± 0.03 |
| 1.46E-11 | 291 | 156 | 72.75 | ± 0.07 | 0.48 | ± 0.02 | 0.52 | ± 0.02 |
| 1.86E-09 | 352 | 181 | 88.00 | ± 0.10 | 0.47 | ± 0.03 | 0.53 | ± 0.03 |
| 2.38E-07 | 368 | 186 | 92.00 | ± 0.03 | 0.51 | ± 0.04 | 0.49 | ± 0.04 |
| 3.81E-06 | 405 | 211 | 101.25 | ± 0.07 | 0.49 | ± 0.04 | 0.51 | ± 0.04 |
| 3.05E-05 | 387 | 184 | 96.75 | ± 0.06 | 0.52 | ± 0.04 | 0.48 | ± 0.04 |
| 4.90E-04 | 428 | 205 | 107.00 | ± 0.04 | 0.54 | ± 0.03 | 0.46 | ± 0.03 |
| 1.25E-01 | 450 | 227 | 112.50 | ± 0.11 | 0.50 | ± 0.03 | 0.50 | ± 0.03 |

N, número de organismos; w/Y, número total de machos *white* tratados; SP, Sobrevivencia Promedio; ee, error

De acuerdo con el análisis de varianza aplicado, la sobrevivencia promedio (SP) de las moscas *white* tratadas es diferente (Tabla 1b) dependiendo de la concentración probada ($F_{9, 99} = 1.975$; $p < 0.05$), sin embargo, no se logró establecer en qué concentración estuvo la diferencia de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Tabla 1b). Resumen del Análisis de Varianza

| Fuente de Varianza | ss | gl | MS | F |
|--------------------|----------|-----|--------|-------|
| Entre muestras | 2045 | 9 | 255.63 | 1.975 |
| Dentro de muestras | 1248.67 | 99 | 126.09 | |
| Total | 14527.67 | 108 | | |

$Z_{0.05} = 1.96$; $p < 0.05$

El tratamiento con la azida de sodio no afectó la Proporción sexual ($F_{9, 99} = 0.002$; $p > 0.05$) en los organismo tratados (Tabla 1a).

3.2 Efecto Reprotóxico: Fertilidad (F), Progenie promedio por macho (PPM), Progenie promedio corregida (PPC).

3.2.1 Fertilidad (F).

La fertilidad se cuantificó a partir del número de machos w/Y tratados que tuvieron descendencia al cruzarlos con hembras: w^+/w^+ , $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$ y $FM7c/w^+$ no tratadas para evaluar la capacidad reproductora de los machos expuestos a la azida de sodio (Fig. 8)

La fertilidad de los machos w en el lote testigo (H_2O destilada) fue diferente cuando se cruzaron con hembras $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$ ($Z_{0.025}= 1.64$; $p<0.05$) y con hembras $FM7c/w^+$ ($Z_{0.025}= 1.64$; $p<0.05$) donde la frecuencia de la fertilidad aumentó respecto de la cruce con las hembras silvestres w^+/w^+ respectivamente y como se describe en la siguiente relación para el lote testigo: $FM7c/w^+ > y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c > w^+/w^+$. Por su parte, la fertilidad de los machos w tratados con azida de sodio también fue diferente significativamente dependiendo del tipo de hembra con la que se cruzó, como se muestra en la siguiente relación: $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c > FM7c/w^+ > w^+/w^+$.

Con base en la relación antes descrita, la diferencia significativa ($Z_{0.05}= 1.96$; $p<0.05$) en la fertilidad de los machos w/Y tratados y cruzados con hembras $FM7c/w^+$ en la concentración de $1.82E^{-12}$ mM disminuyó respecto de su testigo correspondiente. En cuanto a la fertilidad de los machos w/Y tratados y cruzados con hembras $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$ que aumentó en las concentraciones $1.86E^{-09}$ y $2.38E^{-07}$ mM respecto de su testigo correspondiente la variación fue diferente significativamente ($Z_{0.05}= 1.96$; $p<0.05$). Por último, la fertilidad de los machos w/Y tratados y cruzados con hembras w^+/w^+ fue diferente significativamente ($Z_{0.05}= 1.96$; $p<0.05$) aumentando en la concentración $3.81E^{-06}$ mM respecto de su testigo (Tabla 2).

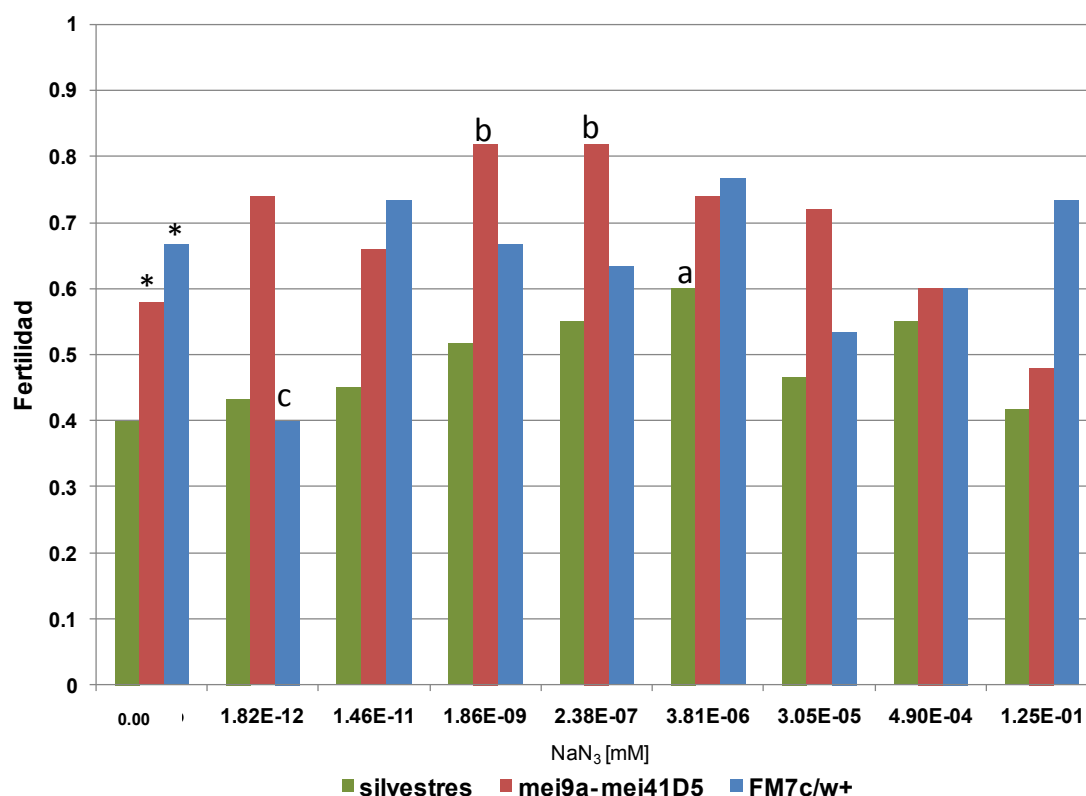


Figura 9. Fertilidad de machos *white* tratados y cruzados con hembras: w^+/w^+ , $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$ y $FM7c/w^+$ no tratadas. El * señala diferencia significativa entre cepas experimentales: $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$ y $FM7c/w^+$ no tratadas con respecto a la cepa w^+/w^+ . La letras a, b, c, señala la diferencia significativa entre concentraciones respecto de su testigo correspondiente con base a Z para proporciones.

Tabla 2. Fertilidad de machos *white* tratados y cruzados con hembras: w^+/w^+ , $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$, y $FM7c/w^+$ no tratadas

| [NaN ₃] | hembras: w^+/w^+ | | | | hembras: $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$ | | | | | hembras: $FM7c/w^+$ | | | | | |
|---------------------|--------------------|----|------|------|---------------------------------------|------|----|------|------|---------------------|------|----|------|------|--------------|
| | N | n | F | ee | d | N | n | F | ee | d | N | n | F | ee | d |
| testigo | 1516 | 60 | 0.40 | 0.21 | | 1302 | 50 | 0.58 | 0.09 | * | 1401 | 30 | 0.67 | 0.09 | * |
| 1.82E-12 | 1801 | 60 | 0.43 | 0.22 | | 1544 | 50 | 0.74 | 0.07 | | 877 | 30 | 0.40 | 0.06 | ^c |
| 1.46E-11 | 1924 | 60 | 0.45 | 0.24 | | 1832 | 50 | 0.66 | 0.14 | | 947 | 30 | 0.73 | 0.15 | |
| 1.86E-09 | 2388 | 60 | 0.52 | 0.17 | | 2062 | 50 | 0.82 | 0.07 | ^b | 1163 | 30 | 0.67 | 0.13 | |
| 2.38E-07 | 2446 | 60 | 0.55 | 0.15 | | 1716 | 50 | 0.82 | 0.09 | | 998 | 30 | 0.63 | 0.22 | |
| 3.81E-06 | 2988 | 60 | 0.60 | 0.18 | ^a | 1713 | 50 | 0.74 | 0.10 | ^b | 997 | 30 | 0.77 | 0.15 | |
| 3.05E-05 | 2197 | 60 | 0.47 | 0.17 | | 1671 | 50 | 0.72 | 0.15 | | 1542 | 30 | 0.53 | 0.27 | |
| 4.90E-04 | 2224 | 60 | 0.55 | 0.15 | | 1148 | 50 | 0.60 | 0.14 | | 1060 | 30 | 0.60 | 0.31 | |
| 1.25E-01 | 1632 | 60 | 0.42 | 0.17 | | 1114 | 50 | 0.48 | 0.16 | | 1211 | 30 | 0.73 | 0.18 | |

N, número total de progenie; n, número de cruces; F, fertilidad; ee, error estándar; d diagnóstico que señala la diferencia significativa con base a Z para proporciones, $p < 0.05$

3.2.2 Progenie promedio por macho (PPM) total del Sistema de cruzas.

Con la progenie promedio no solo se evalúa la fertilidad de los machos expuestos a la azida de sodio si no también su prolificidad. Este atributo también depende del tipo de hembra con la que se cruzó al macho (Fig 10), como se muestra en la siguiente relación: $w^+/w^+ = FM7c/w^+ > y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$.

En el grupo de la progenie promedio recobrada del lote testigo (H₂O destilada) no hubo diferencia significativas. Para el otro grupo de la progenie promedio obtenida cuando los machos w/Y se trataron y se cruzaron con los tres tipos de hembras: w^+/w^+ , $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$, y $FM7c/w^+$ no hubo diferencia significativa ($F_{8,26} = 0.39$; $p > 0.05$, $F_{8,18} = 0.96$; $p > 0.05$ y $F_{8,16} = 0.54$; $p > 0.05$) con relación a sus testigos respectivos (Tabla 3.)

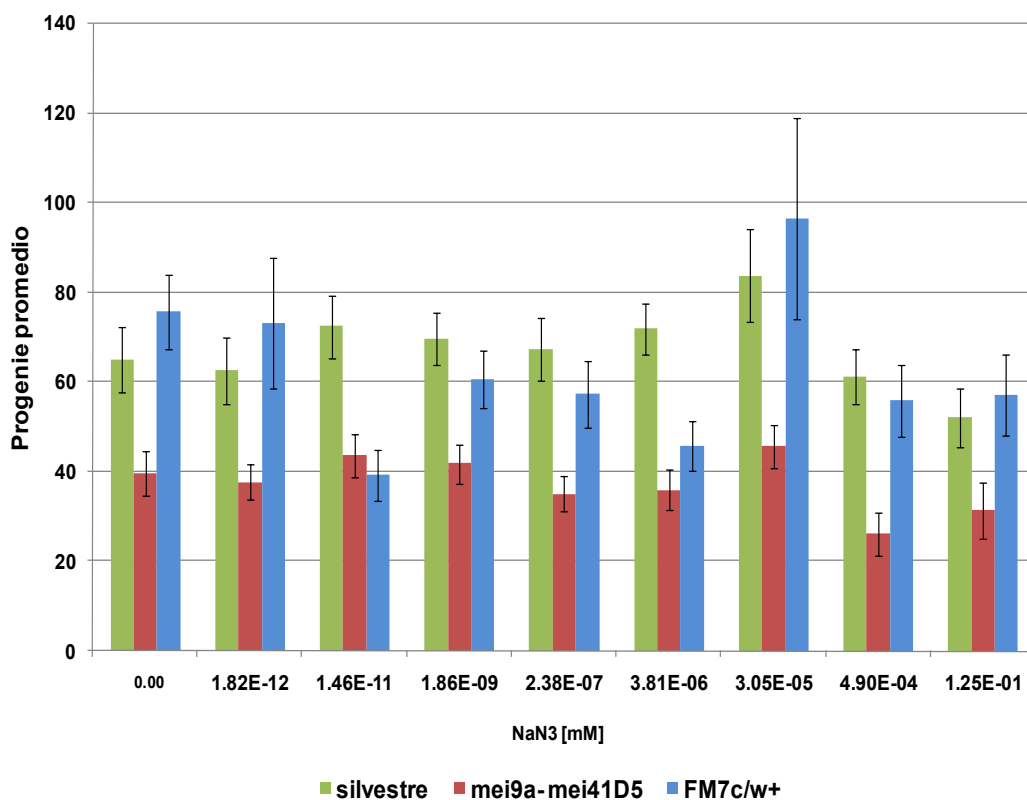


Figura 10. Progenie promedio (PPM) recobrada de la cruce de machos *white* tratados y cruzados con hembras: w^+/w^+ , $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$, y $FM7c/w^+$ no tratadas.

Tabla 3. Progenie promedio (PPM) recobrada de la cruce de machos *white* tratados x hembras: w^+/w^+ , $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$, y $FM7c/w^+$ no tratadas

| [NaN ₃] | hembras: w^+/w^+ | | | | | hembras: $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$ | | | | | hembras: $FM7c/w^+$ | | | | |
|---------------------|--------------------|----|-------|---------|---|---------------------------------------|----|-------|--------|---|---------------------|----|-------|---------|---|
| | N | n | PPM | ± ee | d | N | n | PPM | ± ee | d | N | n | PPM | ± ee | d |
| testigo | 1516 | 60 | 64.85 | ± 7.29 | | 1302 | 50 | 39.71 | ± 4.99 | | 1401 | 30 | 75.60 | ± 8.37 | |
| 1.82E-12 | 1801 | 60 | 62.52 | ± 7.39 | | 1544 | 50 | 37.63 | ± 3.93 | | 877 | 30 | 73.08 | ± 14.56 | |
| 1.46E-11 | 1924 | 60 | 72.34 | ± 7.02 | | 1832 | 50 | 43.54 | ± 4.83 | | 947 | 30 | 39.24 | ± 5.66 | |
| 1.86E-09 | 2388 | 60 | 69.56 | ± 5.91 | | 2062 | 50 | 41.79 | ± 4.37 | | 1163 | 30 | 60.63 | ± 6.31 | |
| 2.38E-07 | 2446 | 60 | 67.25 | ± 7.04 | | 1716 | 50 | 35.07 | ± 3.84 | | 998 | 30 | 57.23 | ± 7.47 | |
| 3.81E-06 | 2988 | 60 | 71.85 | ± 5.62 | | 1713 | 50 | 35.92 | ± 4.59 | | 997 | 30 | 45.77 | ± 5.45 | |
| 3.05E-05 | 2197 | 60 | 83.67 | ± 10.36 | | 1671 | 50 | 45.61 | ± 4.75 | | 1542 | 30 | 96.38 | ± 22.48 | |
| 4.90E-04 | 2224 | 60 | 61.07 | ± 6.14 | | 1148 | 50 | 26.20 | ± 4.80 | | 1060 | 30 | 55.84 | ± 7.97 | |
| 1.25E-01 | 1632 | 60 | 52.03 | ± 6.53 | | 1114 | 50 | 31.32 | ± 6.26 | | 1211 | 30 | 57.08 | ± 8.96 | |

N, número total de organismos para cada concentración; n, número total de cruces; PPP, progenie promedio por macho; ee, error estándar; d, prueba de diagnóstico de ANOVA, $p < 0.05$

3.2.2.i Progenie promedio (PPM) de la cepa silvestre(w^+/w^+).

Se recobró similar proporción ($F_{8,26}= 0.97$; $p> 0.05$, $F_{8,26}= 0.61$; $p> 0.05$) entre la progenie de hembras y machos silvestres (w^+/w ; w^+/Y) obtenida de la cruce de machos w/Y tratados y cruzados con hembras w^+/w^+ no tratadas, respectivamente (Fig 11) para todas las concentraciones y respecto de su testigo correspondiente (Tabla 5).

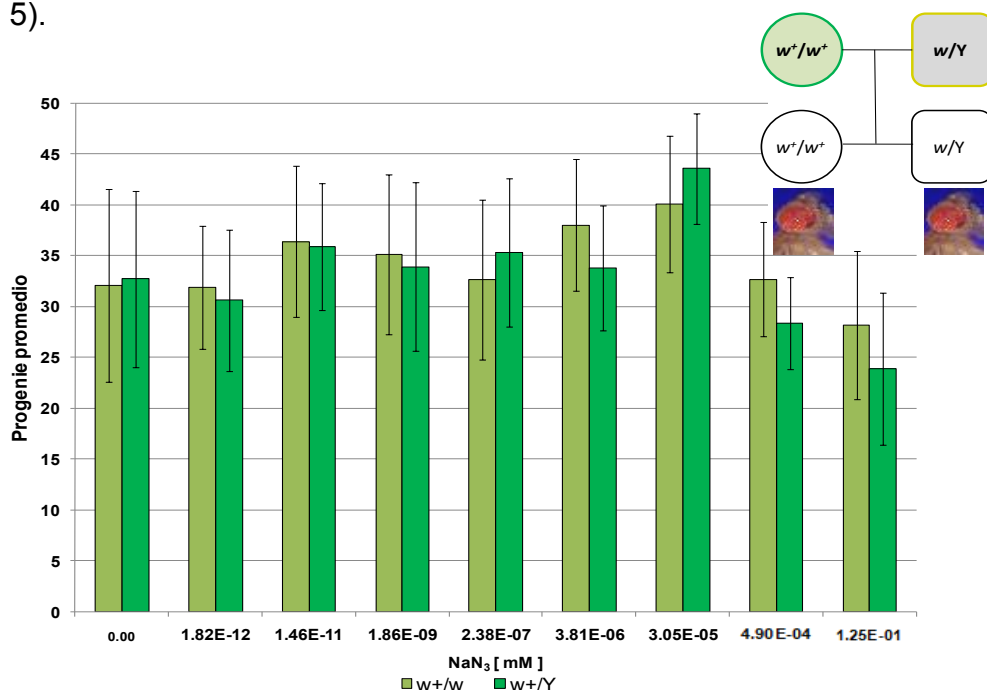


Figura 11. Progenie promedio (PPM) recobrada de hembras y machos silvestres (w^+/w ; w^+/Y). Cruza de hembras: w^+/w^+ no tratadas por machos w/Y tratados con azida de sodio.

Tabla 5. Progenie promedio (PPM) recobrada de hembras y machos silvestres (w^+/w ; w^+/Y). Cruza de hembras: w^+/w^+ no tratadas por machos w/Y tratados con NaN₃

| [NaN ₃] | progenie de hembras w+/w | | | | | progenie de machos w+/Y | | | | |
|---------------------|--------------------------|----|-------|--------|---|-------------------------|----|-------|--------|---|
| | N | n | PPM | ± ee | d | N | n | PPM | ± ee | d |
| testigo | 763 | 60 | 32.13 | ± 9.49 | | 753 | 60 | 32.72 | ± 8.70 | |
| 1.82E-12 | 906 | 60 | 31.88 | ± 6.03 | | 895 | 60 | 30.64 | ± 6.94 | |
| 1.46E-11 | 968 | 60 | 36.43 | ± 7.43 | | 956 | 60 | 35.91 | ± 6.25 | |
| 1.86E-09 | 1220 | 60 | 35.13 | ± 7.88 | | 1168 | 60 | 33.94 | ± 8.28 | |
| 2.38E-07 | 1204 | 60 | 32.66 | ± 7.86 | | 1242 | 60 | 35.35 | ± 7.27 | |
| 3.81E-06 | 1577 | 60 | 38.04 | ± 6.51 | | 1411 | 60 | 33.81 | ± 6.15 | |
| 3.05E-05 | 1032 | 60 | 40.08 | ± 6.72 | | 1165 | 60 | 43.59 | ± 5.45 | |
| 4.90E-04 | 1169 | 60 | 32.70 | ± 5.60 | | 1055 | 60 | 28.37 | ± 4.52 | |
| 1.25E-01 | 874 | 60 | 28.19 | ± 7.26 | | 758 | 60 | 23.91 | ± 7.52 | |

N, número de familias; n, número de organismos; PPM, progenie promedio por macho; ee, error estándar; d, prueba diagnóstico de ANOVA $p<0.05$

3.2.2.ii Progenie promedio (PPM) de la cepa *mei* ($y^1 mei9^a mei41^{D5}/FM7c$).

En la cruce de hembras $y^1 mei9^a mei41^{D5}/FM7c$ no tratadas por machos w/Y tratados con NaN_3 , se obtuvieron cuatro genotipos en proporciones diferentes: hembras heterocigas para los genes $y^1 mei9^a mei41^{D5}/FM7c/w^+$ y machos hemécigos $y^1 mei9^a mei41^{D5}/Y$; hembras heterocigotas para el cromosoma balanceador $FM7c/w^+$ y machos hemécigos con un cromosomas balanceador $FM7c/Y$ (Fig. 12).

Como puede apreciarse en la progenie del lote testigo, la proporción de los fenotipos de la progenie no es equivalente en cuanto al valor promedio de organismos obtenidos, ya que la categoría que varió obteniendo menor número promedio de organismos fue la de los machos hemécigos $FM7c/Y$ con respecto al resto de las otras categorías de moscas de ese mismo lote.

Sin embargo, al comparar la progenie promedio con su respectivo testigo no se detectaron diferencias significativas para ninguna concentración con relación a su propio testigo en lo que se refiere a los fenotipos de hembras ($y^1 mei9^a mei41^{D5}/w$; $FM7c/w$) ($F_{8,18} = 0.98$; $p > 0.05$, $F_{8,18} = 0.27$; $p > 0.05$) y de machos ($y^1 mei9^a mei41^{D5}/Y$; $FM7c/Y$) ($F_{8,18} = 0.41$; $p > 0.05$, $F_{8,17} = 0.27$; $p > 0.05$) (Tabla 6).

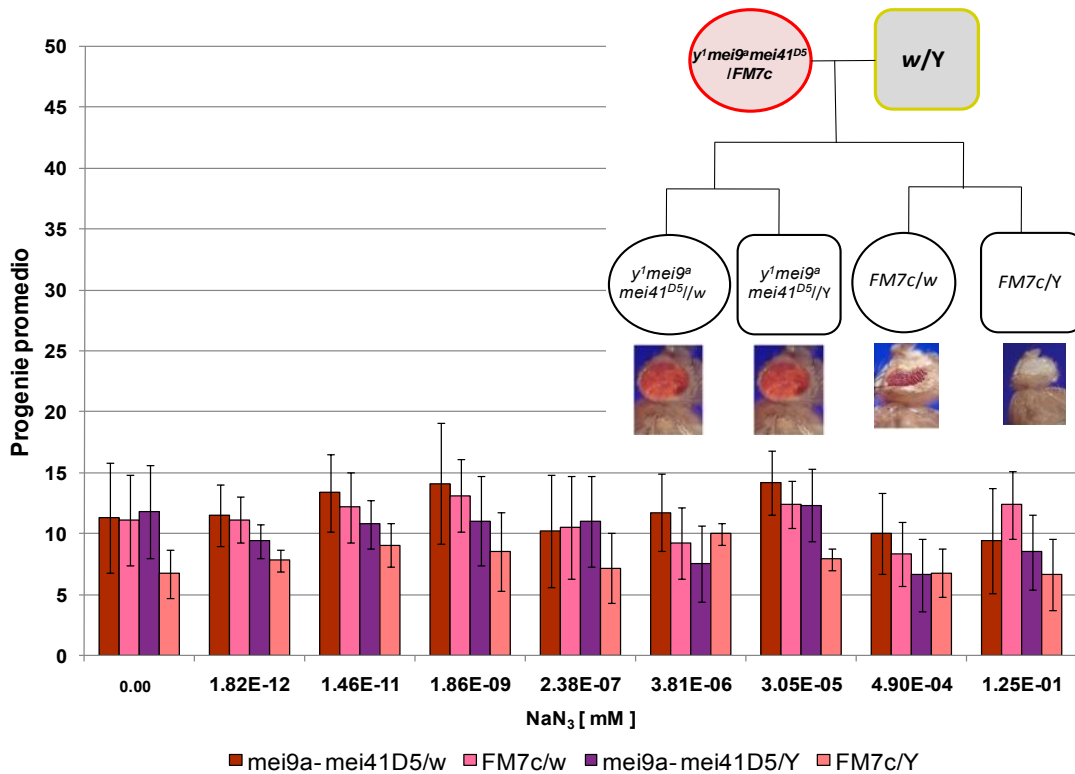


Fig 12. Progenie promedio (PPM) de hembras ($y^1mei9^a\ mei41^{D5}/w$; $FM7c/w$) y machos ($y^1mei9^a\ mei41^{D5}/Y$; F) tratados con NaN_3 o machos w/Y

Tabla 6. Progenie promedio (PPM) recobrada de la cruce $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$ no tratada x machos w/Y tratados con NaN_3

| [NaN ₃] | $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/w$ | | | | | $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/Y$ | | | | |
|---------------------|---------------------------|----|-------|--------|---|---------------------------|----|-------|--------|---|
| | N | n | PPM | ± ee | d | N | n | PPM | ± ee | d |
| testigo | 363 | 50 | 11.30 | ± 4.53 | | 370 | 50 | 11.79 | ± 3.80 | |
| 1.82E-12 | 461 | 50 | 11.54 | ± 2.55 | | 373 | 50 | 9.40 | ± 1.39 | |
| 1.46E-11 | 542 | 50 | 13.35 | ± 3.18 | | 429 | 50 | 10.77 | ± 2.00 | |
| 1.86E-09 | 638 | 50 | 14.12 | ± 4.95 | | 539 | 50 | 11.05 | ± 3.71 | |
| 2.38E-07 | 512 | 50 | 10.18 | ± 4.61 | | 417 | 50 | 11.05 | ± 3.72 | |
| 3.81E-06 | 546 | 50 | 11.75 | ± 3.16 | | 375 | 50 | 7.53 | ± 3.14 | |
| 3.05E-05 | 526 | 50 | 14.20 | ± 2.61 | | 457 | 50 | 12.33 | ± 3.00 | |
| 4.90E-04 | 349 | 50 | 9.98 | ± 3.33 | | 281 | 50 | 6.59 | ± 3.00 | |
| 1.25E-01 | 329 | 50 | 9.40 | ± 4.30 | | 271 | 50 | 8.48 | ± 3.11 | |
| | $FM7c/w$ | | | | | $FM7c/Y$ | | | | |
| testigo | 343 | 50 | 11.07 | ± 3.73 | | 226 | 50 | 6.70 | ± 2.02 | |
| 1.82E-12 | 446 | 50 | 11.15 | ± 1.91 | | 264 | 50 | 7.82 | ± 0.89 | |
| 1.46E-11 | 503 | 50 | 12.17 | ± 2.89 | | 358 | 50 | 9.04 | ± 1.78 | |
| 1.86E-09 | 533 | 50 | 13.12 | ± 2.99 | | 352 | 50 | 8.49 | ± 3.21 | |
| 2.38E-07 | 496 | 50 | 10.50 | ± 4.26 | | 291 | 50 | 7.18 | ± 2.88 | |
| 3.81E-06 | 438 | 50 | 9.21 | ± 2.90 | | 354 | 50 | 9.97 | ± 0.93 | |
| 3.05E-05 | 448 | 50 | 12.41 | ± 1.97 | | 240 | 50 | 7.88 | ± 0.93 | |
| 4.90E-04 | 323 | 50 | 8.33 | ± 2.60 | | 195 | 50 | 6.76 | ± 1.97 | |
| 1.25E-01 | 301 | 50 | 12.36 | ± 2.74 | | 213 | 50 | 6.63 | ± 2.94 | |

ⁱ N, número de familias; n, número de organismos; PPM, progenie promedio por macho; ee, error estándar; d, prueba diagnóstico de ANOVA $p < 0.05$

3.2.2.iii Progenie promedio (PPM) de la cepa portadora de inversiones ($FM7c/w^+$).

En la cruce de hembras $FM7c/w^+$ no tratadas por machos w/Y tratados con NaN_3 , se recuperan cuatro genotipos diferentes: hembras $FM7c/w$, machos $FM7c/Y$, hembras w^+/w y machos w^+/Y .

Como se puede observar, al igual que en la cruce anterior se presenta un déficit en los machos $FM7c/Y$ y con una tendencia similar para los cuatro genotipos de la progenie. La proporción de los fenotipos de la progenie obtenida en esta cruce no es equiparable en cuanto al valor promedio de organismos obtenidos, ya que la categoría que varió fue la de los machos hemécigos, obteniendo menor número promedio respecto que el resto de las otras categorías de moscas; haciendo referencia al lote testigo (Fig 14).

Sin embargo, al comparar las cuatro categorías fenotípicas de la progenie obtenida entre hembras y machos para cada concentración no se encontraron diferencias significativas ($FM7c/w$; w^+/w) ($F_{8,16} = 0.60$; $p > 0.05$, $F_{8,16} = 0.76$; $p > 0.05$); ($FM7c/Y$; w^+/Y) ($F_{8,16} = 0.96$; $p > 0.05$, $F_{8,16} = 0.91$; $p > 0.05$) respectivamente y con relación a su testigo (Tabla 7).

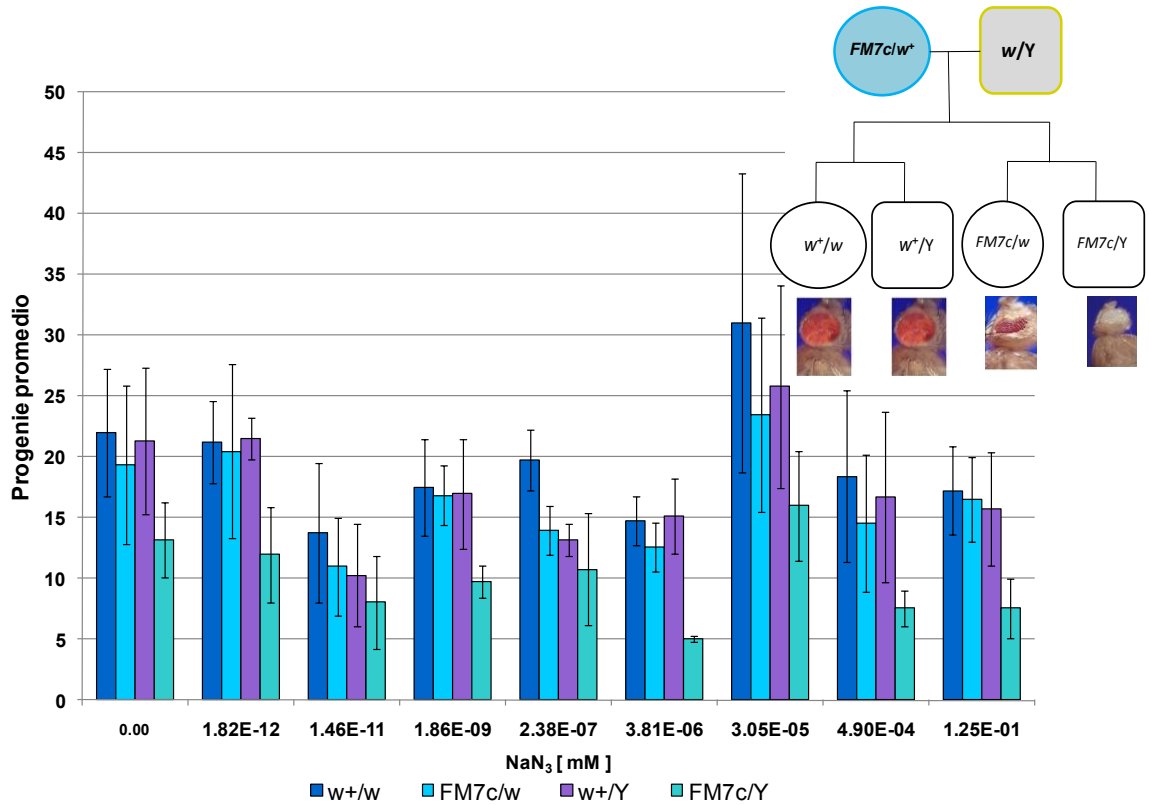


Figura 14. Progenie promedio (PPM) de hembras ($FM7c/w$; w^+/w) y machos ($FM7c/Y$; w^+/Y). Cruza de hembras: $M7c/w^+$ no tratadas por machos w/Y tratados con azida de sodio.

Tabla 7. Progenie promedio (PPM) recobrada de hembras ($FM7c/w$; w^+/w) y machos ($FM7c/Y$; w^+/Y) de la cruce de hembras: $FM7c/w^+$ no tratadas por machos w/Y tratados con azida de sodio.

| [NaN ₃] | w^+/w | | | | | w^+/Y | | | | |
|---------------------|----------|----|-------|---------|---|----------|----|-------|--------|---|
| | N | n | PPM | ± ee | d | N | n | PPM | ± ee | d |
| testigo | 413 | 30 | 22.04 | ± 5.26 | | 395 | 30 | 21.35 | ± 6.05 | |
| 1.82E-12 | 256 | 30 | 21.24 | ± 3.39 | | 240 | 30 | 21.53 | ± 1.72 | |
| 1.46E-11 | 319 | 30 | 13.75 | ± 5.76 | | 198 | 30 | 10.27 | ± 4.23 | |
| 1.86E-09 | 334 | 30 | 17.50 | ± 4.00 | | 320 | 30 | 17.00 | ± 4.51 | |
| 2.38E-07 | 351 | 30 | 19.79 | ± 2.49 | | 254 | 30 | 13.19 | ± 1.32 | |
| 3.81E-06 | 311 | 30 | 14.74 | ± 2.04 | | 309 | 30 | 15.15 | ± 3.08 | |
| 3.05E-05 | 497 | 30 | 31.06 | ± 12.30 | | 413 | 30 | 25.81 | ± 8.32 | |
| 4.90E-04 | 349 | 30 | 18.43 | ± 7.08 | | 318 | 30 | 16.71 | ± 7.01 | |
| 1.25E-01 | 364 | 30 | 17.23 | ± 3.63 | | 347 | 30 | 15.73 | ± 4.64 | |
| | $FM7c/w$ | | | | | $FM7c/Y$ | | | | |
| testigo | 354 | 30 | 19.41 | ± 6.51 | | 239 | 30 | 13.23 | ± 3.09 | |
| 1.82E-12 | 246 | 30 | 20.45 | ± 7.15 | | 135 | 30 | 11.97 | ± 3.90 | |
| 1.46E-11 | 260 | 30 | 11.00 | ± 4.04 | | 170 | 30 | 8.04 | ± 3.85 | |
| 1.86E-09 | 330 | 30 | 16.83 | ± 2.46 | | 179 | 30 | 9.76 | ± 1.32 | |
| 2.38E-07 | 255 | 30 | 13.96 | ± 1.98 | | 138 | 30 | 10.78 | ± 4.63 | |
| 3.81E-06 | 273 | 30 | 12.60 | ± 2.01 | | 104 | 30 | 5.06 | ± 0.27 | |
| 3.05E-05 | 376 | 30 | 23.50 | ± 7.96 | | 256 | 30 | 16.00 | ± 4.49 | |
| 4.90E-04 | 276 | 30 | 14.56 | ± 5.66 | | 117 | 30 | 7.58 | ± 1.49 | |
| 1.25E-01 | 351 | 30 | 16.55 | ± 3.49 | | 149 | 30 | 7.57 | ± 2.45 | |

N, número de familias; n, número de organismos; PPM, progenie promedio por macho; ee, error estándar; d, prueba diagnóstico de ANOVA $p < 0.05$

3.3 Efecto Materno: comparación del genotipo de la progenie *silvestre*, *mei* y *FM7C* con base al Promedio Corregido (PPC).

Para obtener elementos acerca del impacto del contenido citoplasmático, se realizaron comparaciones entre organismos de la progenie con genotipo similar pero diferente progenitora, según el siguiente cuadro:

| Genotipo de la progenie y genotipo de la hembra progenitora. | | comparaciones | | | | | |
|--------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|---------------|---|---|---|---|---|
| Genotipo materno | Genotipo progenie | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| [w ⁺ /w ⁺] | w ⁺ /w | + | | + | | | |
| | w ⁺ /Y | | + | | + | | |
| [y ¹ mei9 ^a mei41 ^{D5} /FM7c] | y ¹ mei9 ^a mei41 ^{D5} /w | | | + | | | |
| | y ¹ mei9 ^a mei41 ^{D5} /Y | | | | + | | |
| | FM7c/w | | | | | + | |
| | FM7c/Y | | | | | | + |
| [FM7c/w ⁺] | w ⁺ /w | + | | | | | |
| | w ⁺ /Y | | + | | | | |
| | FM7c/w | | | | | + | |
| | FM7c/Y | | | | | | + |

Para analizar si las variaciones en la respuesta de la progenie se deben a la hembra progenitora por su constitución genética, se obtuvo la progenie corregida; para lo cual se calculó el cociente de la cantidad de progenie recobrada en las series testigo y experimentales de cada criza entre la cantidad de la progenie en el testigo correspondiente. De esta manera, en todos los casos, la progenie toma valores de 1 y las series experimentales valores alrededor de éste.

En las figuras 15 a 20 se muestra el genotipo de la progenie a comparar, el cual proviene de diferentes genotipos maternos que están entre corchetes como se señaló en el cuadro anterior.

3.3.1 Genotipo: silvestre

La figura 15 muestra el valor promedio de la progenie corregida de hembras w^+/w provenientes de las hembras w^+/w^+ y $FM7c/w^+$ cruzadas con machos w/Y tratados con azida de sodio.

Se encontraron diferencias significativas entre concentraciones, específicamente en 1.46 E^{-11} y 3.81E^{-06} mM ($p < 0.05$, t de student) donde se recuperó menor número de hembras silvestres provenientes de hembras progenitoras con el balanceador y, en general; se encontró una respuesta más variable en el resto de las concentraciones. Para los machos w^+/Y fue aún mayor la variación, pues se recobró menor número de machos silvestres sobretodo de los machos provenientes de las hembras progenitoras antes señaladas, donde se encontraron diferencias significativas en la concentración 1.46 E^{-11} , 2.38E^{-07} , 3.81E^{-06} mM ($p < 0.05$, t de student) (Fig. 16).

3.3.2 Genotipo silvestre & $y^1\text{mei9}^a \text{mei41}^{D5}$

No se encontraron diferencias entre la progenie de hembras w^+/w con las hembras $y^1\text{mei9}^a \text{mei41}^{D5}/w$, en las cuales se comparte un cromosoma con el gen w y en el otro cromosoma llevan el alelo silvestre (w^+) o los genes recesivos $\text{mei9}^a \text{mei41}^{D5}$, sin embargo, en la progenie de machos de las mismas cruza, sí se encontró diferencias significativa en las concentraciones 3.81E^{-06} y 4.90E^{-04} mM ($p < 0.05$, t de Student) donde disminuyó el número de machos $y^1\text{mei9}^a \text{mei41}^{D5}/Y$ específicamente (Figs. 17 y 18).

3.3.3 Genotipo con cromosoma balanceador $FM7c$

Las hembras $FM7c/w$ se recobraron tanto de hembras $y^1\text{mei9}^a \text{mei41}^{D5}/FM7c$ como de hembras $FM7c/w^+$ que fueron cruzadas con machos w/Y tratados con azida de sodio. Como muestra la figura 19, se encontró diferencias significativas en el promedio de la progenie obtenida en la concentración 1.46E^{-11} mM donde disminuyó la cantidad de hembras $FM7c/w$. En el caso de los machos $FM7c/Y$ (Fig. 20), nuevamente la variación fue mayor y se confirmaron diferencias significativas en las concentraciones de 1.46E^{-11} y 3.81E^{-06} mM ($p < 0.05$, t de student) donde se encontró que el número de machos disminuyó.

Genotipo: silvestre

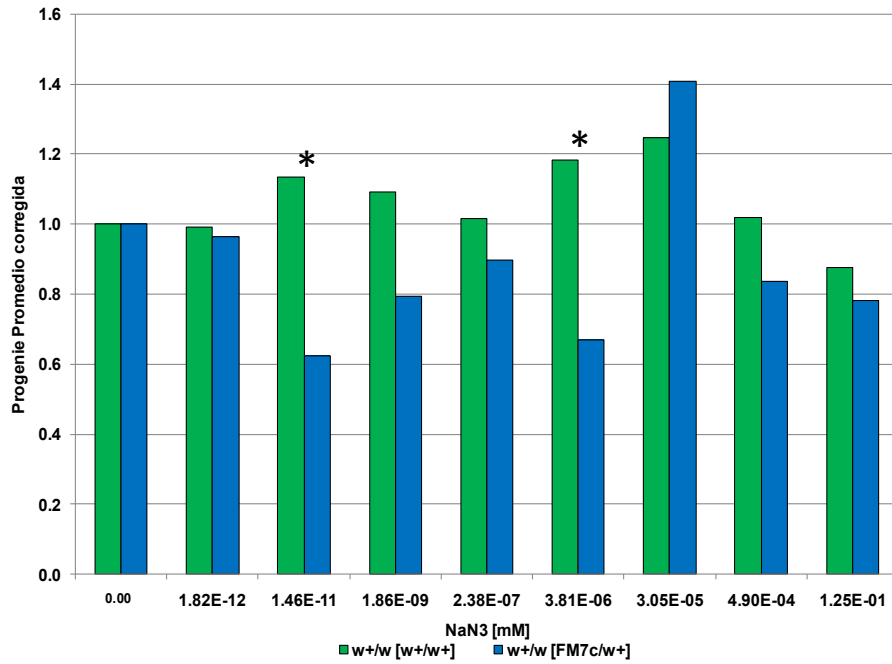


Figura 15. Progenie corregida: hembras w^+/w^+ provenientes de la cruce de machos w/Y tratados con NaN_3 por hembras no tratadas: w^+/w^+ , $\text{FM7c}/w^+$. El *, indica diferencia significativa $p < 0.05$ *t*-

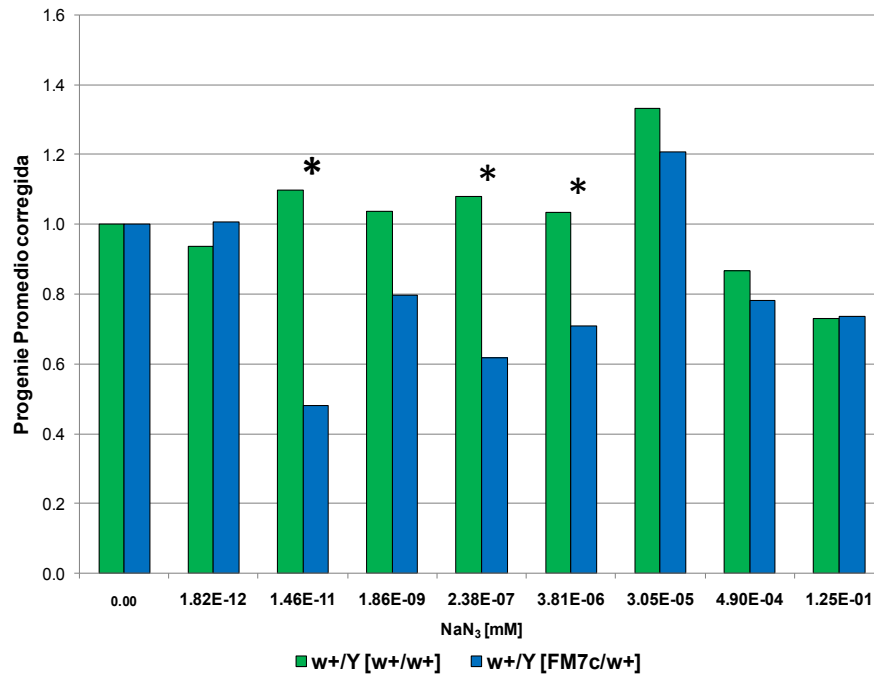


Figura 16. Progenie corregida: machos w^+/Y provenientes de la cruce de machos w/Y tratados con NaN_3 por hembras no tratadas: w^+/w^+ , $\text{FM7c}/w^+$. El *, diferencia significativa $p < 0.05$ *t*-student.

Genotipo silvestre & $y^1 mei9^a mei41^{D5}$

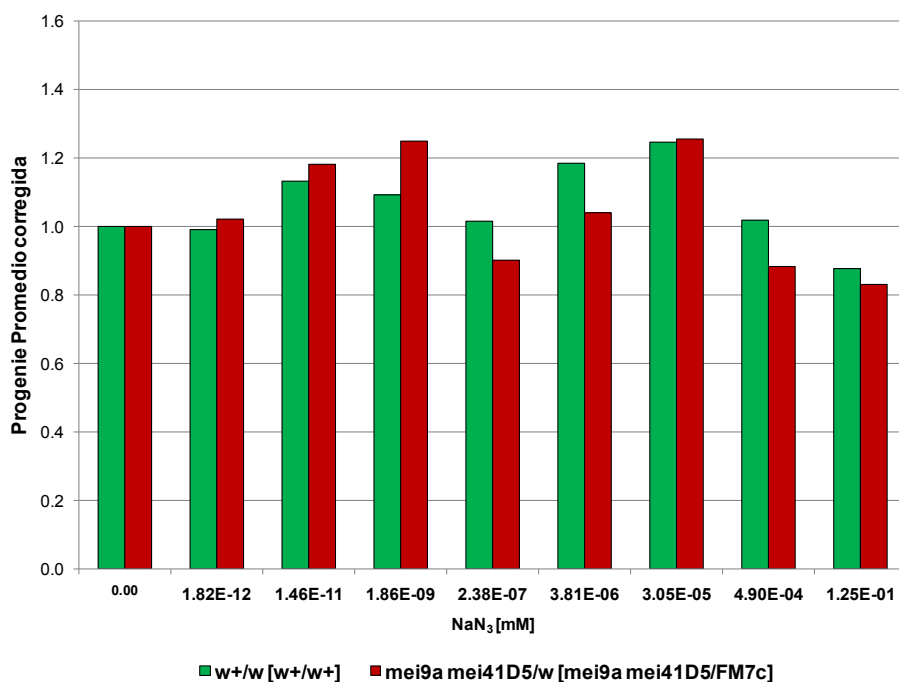


Figura 17. Progenie corregida: hembras w^+/w^+ y hembras $y^1 mei9^a mei41^{D5}/w$ provenientes de la cruce de hembras no tratadas: w^+/w^+ ; $y^1 mei9^a mei41^{D5}/FM7c$ por machos w/Y tratados con NaN_3 respectivamente. Prueba diagnóstico con $p < 0.05$ *t-student*.

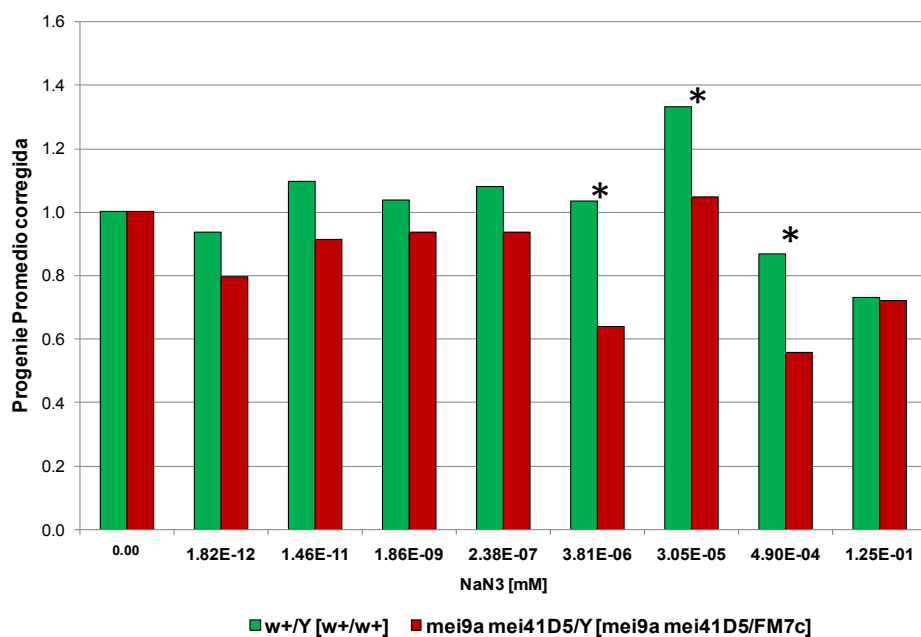


Figura 18. Progenie corregida: machos w^+/Y y machos $y^1 mei9^a mei41^{D5}/Y$ provenientes de la cruce de hembras no tratadas: w^+/w^+ ; $y^1 mei9^a mei41^{D5}/FM7c$ por machos w/Y tratados con NaN_3 respectivamente. El *, indica diferencias significativas $p < 0.05$ *t-student*.

Genotipo con cromosoma balanceador FM7c

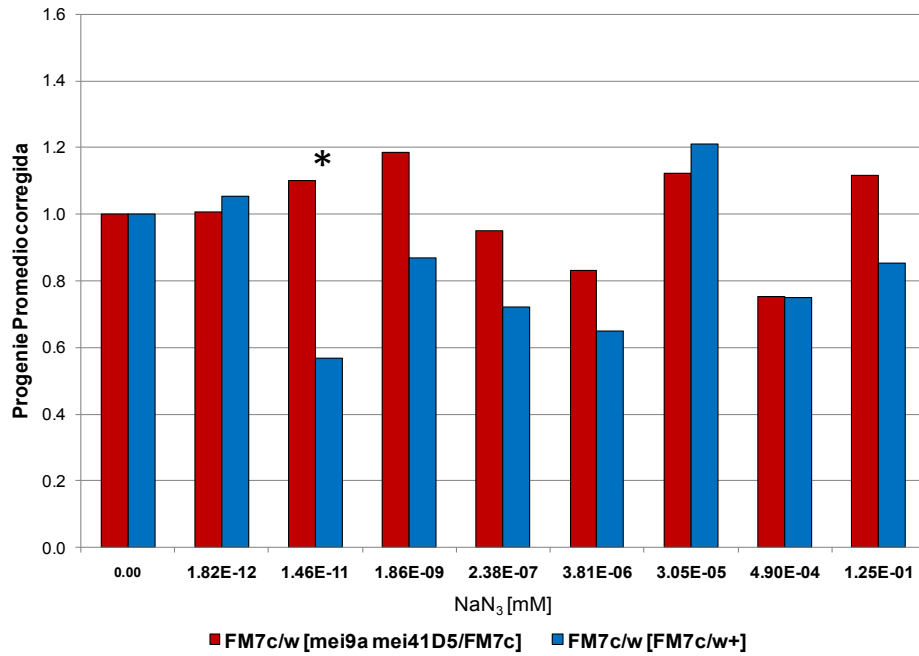


Figura 19. Progenie corregida: hembras *FM7c/w* provenientes de la cruce de hembras no tratadas: $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$; *FM7c/w⁺* por machos *w/Y* tratados con NaN_3 respectivamente. El * indica diferencia significativa $p < 0.05$ *t-student*.

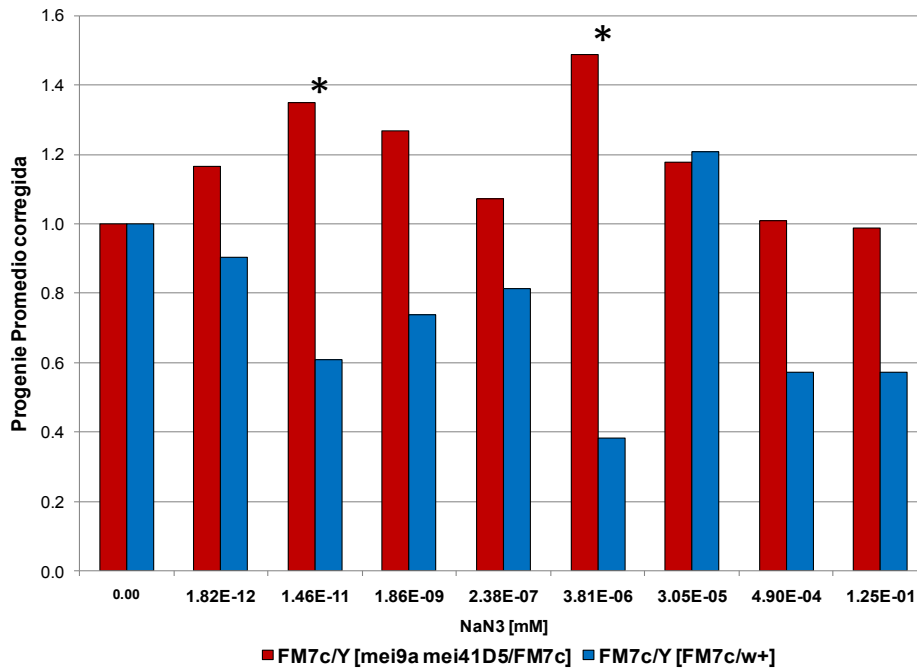


Figura 20. Progenie corregida: machos *FM7c/Y* provenientes de la cruce de hembras no tratadas: $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$; *FM7c/w⁺* por machos *w/Y* tratados con NaN_3 respectivamente. El * indica diferencia significativa $p < 0.05$ *t-student*.

IV DISCUSION

Para comparar la participación de la parte materna en el efecto de la exposición del progenitor masculino al genotóxico azida de sodio, machos de la cepa *w* fueron alimentados subcrónicamente durante el período larvario, de manera que la maduración de las células germinales (espermatogénesis y espermiogénesis) del macho (Demerec, 1994; Rathke *et.al*, 2014) se realizó en presencia de azida de sodio, por lo que cabe la posibilidad de que algunos de los espermatozoides de los machos tratados puedan ser dañados.

Se ha mostrado que en varios modelos biológicos como *P. sativum*, *Z. mays*, *V. faba*, así como también en cultivos bacterianos de *S. typhimurium* y *E. coli* que la azida sódica actúa como mutágeno (Kleinhofs *et.al*, 1975; Kleinhofs, 1978; Owais *et.al*, 1981; Owais *et.al*, 1983c; Rosichan *et.al*, 1983) pero también es un clastógeno en *Drosophila melanogaster* (González y Ramos, 1997). Además, la azida de sodio es un atrapador de oxígeno singulete 1O_2 , por lo que se considera un veneno metabólico que puede llegar a afectar la transferencia de electrones en las mitocondrias (Ishii *et. al*, 2014) que en el caso de los espermatozoides son esenciales para su movilidad.

4.1 Toxicidad, Efecto Reprotóxico y Efecto Materno.

4.1.1 Toxicidad: Sobrevivencia Promedio (SP) y Proporción Sexual (PSx).

La sobrevivencia promedio (SP) se redujo solo en las concentraciones más bajas de azida de sodio ($1.82E^{-12}$ y $1.46E^{-11}$ mM) y no afectó a alguno de los sexos en particular. Se ha reportado que para inducir mutaciones no es necesario la exposición de genotóxicos en concentraciones elevadas sino que basta con dosis bajas para inducir el daño al DNA, afectar la modulación de señales de transducción y la expresión de genes (Lutz & Lutz, 2009) debido a que los umbrales de respuesta son diferentes para todos los organismos de la población y en una minoría el efecto del estrés suele ser más contundente y desventajoso. Es posible que en algunos organismos, las bajas concentraciones no logren inducir la

respuesta de desintoxicación, sino hasta que el estímulo alcanza mayor intensidad, lo anterior podría causar que en aquellos organismos con umbrales altos para disparar esta respuesta, la azida de sodio podría resultar más dañina e incluso letal. No obstante, cuando la concentración de la NaN_3 es mayor se activaría la respuesta de desintoxicación y los organismos podrían sobrevivir, de esta manera, cada vez se recobrarían más organismos vivos, hasta que la toxicidad del tratamiento sature la capacidad de ese nivel de desintoxicación (Lovell, 2000).

Posteriormente machos tratados fueron cruzados con tres tipos de hembras: silvestres (w^+/w^+), hembras en condición heterocigota de genes recesivos asociados con deficiencias en reparación del DNA y de un cromosoma balanceador ($y^1\text{mei9}^a \text{mei41}^{D5}/\text{FM7c}$) y hembras portadoras del cromosoma balanceador y un cromosoma regular con el alelo silvestre w^+ ($\text{FM7c}/w^+$) para evaluar como afectó la exposición de estos a la azida de sodio en los aspectos reproductivos como la fertilidad (F) y la cantidad de hijos obtenidos (prolificidad).

4.2. Efecto Reprotóxico

4.2.1 Fertilidad (F)

La fertilidad se mide por la capacidad de reproducción de los organismos y se considera un buen indicador de la salud biológica y fisiológica de los organismos (Martínez & Sterart, 2002). Se contó el número de machos w/Y tratados con la azida de sodio que tuvieron hijos con los tres tipos de hembras, sin importar la cantidad de progenie recobrada. La fertilidad entre estas cepas de hembras fue distinta aun cuando se cruzaron con machos no tratados (lote testigo). Al comparar el efecto de las diferentes concentraciones del tratamiento en los machos progenitores pudo apreciarse que, independientemente del tipo de hembra, la fertilidad fue un poco mayor que la del lote testigo en las concentraciones intermedias probadas. Dentro de cada cepa se localizaron diferencias en varias concentraciones con respecto a su testigo correspondiente, lo que indica que el tratamiento a los machos sí tuvo efecto en su fertilidad. Se ha

mostrado que durante la cópula, el macho transfiere sustancias químicas a través del fluido seminal que aceleran la ovoposición de las hembras (Brommer *et.al*, 2012; Sánchez, 2014) pero también sustancias proteicas para llevar a cabo los cambios en el comportamiento (disminución de la receptividad a posteriores apareamientos), fisiológicos con elevada actividad de reparación de daño al DNA (Sánchez, 2014), durante la formación de los espermatozoides, las histonas asociadas al DNA son sustituidas por proteínas tipo protaminas para contribuir con la compactación del contenido nuclear, proteger al genoma paterno de daño físico y químico desde su formación hasta que se fecunde el óvulo (Rathke *et.al*, 2014).

Al evaluar la fertilidad de los machos *w/Y* tratados con azida de sodio y cruzados con tres diferentes hembras (w^+/w^+ , $y^1mei9^a mei41^{D5}/FM7c$, $FM7c/w^+$) se observó un incremento más claro con las hembras $y^1mei9^a mei41^{D5}/FM7c$ en las concentraciones $1.82E^{-12}$, $1.86E^{-06}$ y $2.38E^{-07}$ mM que cuando fueron cruzados con hembras en condición heterocigota para un cromosoma balanceador $FM7c/w^+$ donde el efecto se vio más acentuado en las concentraciones $1.82E^{-12}$, $1.86E^{-09}$, $2.38E^{-07}$ y $3.05E^{-05}$ mM.

La variación de la fertilidad de los machos *w/Y* tratados con la azida de sodio se debe a varios factores como la concentración de azida de sodio administrada (Mughal SK *et.al*, 2012), la etapa larval en la cual se administró el compuesto, el blanco de acción de la azida sódica sobre el material hereditario (Rathke *et.al*, 2014) como también los umbrales de respuesta al estrés (Lovell, 2000) pero sobre todo por el tipo de hembra con la cual fue cruzado.

El efecto en la tendencia de la fertilidad a disminuir en los machos tratados y cruzados con hembras $FM7c/w^+$ respecto de los valores de fertilidad cuando se cruzaron con hembras $y^1mei9^a mei41^{D5}/FM7c$ sugiere que los genes presentes en el cromosoma no invertido en cada caso (w^+ y $y^1mei9^a mei41^{D5}$, respectivamente) podrían estar interactuando en algún aspecto asociado con la fertilidad.

Lo anterior, aunado a que se ha mostrado que las inversiones cromosómicas modifican la expresión de los genes incluidos en la inversión (Jin W, *et.al*, 2001).

4.2.2 Progenie promedio por macho (PPM)

La prolificidad de un sistema biológico permite medir cuántos hijos produjo un organismo. Para evaluar este aspecto en las moscas se calculó el valor promedio de la progenie por macho (PPM).

A partir del número de machos que tuvieron descendencia, se obtuvo el promedio por tubo de la progenie recobrada de los machos w/Y tratados con la azida de sodio, es decir; importó la cantidad de progenie recuperada de acuerdo con el sistema de cruza con los tres diferentes tipos de hembras: w^+/w^+ , $y^1mei9^a mei41^{D5}/FM7c$, $FM7c/w^+$ no tratadas.

Para la progenie de los machos w/Y tratados con azida de sodio no hubo diferencias significativas cuando se les cruzó con los tres tipos de hembras ni entre cepas, pero biológicamente sí hubo diferencia cuando se comparó el promedio de la progenie total: silvestre, $y^1mei9^a mei41^{D5}$ y $FM7c$ recobrada, de tal manera que, con base en las hembras progenitoras utilizadas se obtuvo mayor número promedio de hembras de acuerdo a la siguiente relación:

$$w^+/w^+ = FM7c/w^+ > y^1mei9^a mei41^{D5} / FM7c$$

Aunque el tratamiento no modificó la progenie recobrada de manera significativa en ninguna de las tres cepas, este resultado sugiere que la presencia del cromosoma balanceador en las hembras $FM7c/w^+$ no tiene efecto en cuanto a la cantidad de hijos producidos ya que si la comparamos con la cepa silvestre muestra una tendencia similar, sin embargo; es evidente la variación entre estas dos cepas. Con respecto a la cantidad de progenie producida de las hembras $y^1mei9^a mei41^{D5}/FM7c$ se encontró que fueron menos prolíficas que las otras cepas, de hecho la baja cantidad de progenie en las cepas *mei* es una de las

razones por las que se utiliza el cromosoma balanceador *FM7c* para su mantenimiento (Zimmering & Cooper, 1980; Lindsley & Zimm, 1992), por lo que la menor cantidad de progenie en las hembras $y^1 mei9^a mei41^{D5}/FM7c$ se asociaría a la presencia de los genes *mei9^a mei41^{D5}* como Baker y colaboradores en 1976 demostraron con organismos homocigos $mei9^a mei41^{D5}/mei9^a mei41^{D5}$ diferentemente a los organismos heterocigos $y^1 mei9^a mei41^{D5}/FM7$.

Por el contrario, al ser recesivos, se puede considerar que son eficientes en reparación del DNA, sin embargo el otro cromosoma con inversiones carece de homología para poder llevar a cabo eventos de recombinación como proceso regular de un cromosoma sin inversiones (Greenspan, 2004; Klug *et al*, 2008; Carlson, 2009). Lo anterior, no podría explicar la menor cantidad de progenie producida; sin embargo no se puede descartar la posibilidad que el cromosoma con los genes *mei9^a mei41^{D5}* estén implicados en otra actividad relacionada con el desarrollo temprano de la progenie (Nguyen & Boyd, 1977; Graf *et.al*, 1979; Yoo *et.al*, 1985), aspecto importante que no ha sido estudiado.

Como se ha demostrado en otros trabajos de desarrollo embrionario, existe una cascada de genes implicados en el desarrollo del embrión que regulan la segmentación dorso- ventral del organismo como también los estadios tempranos de la segmentación de la blástula y la transición de ésta a la mórula como el gene *mbt* y, otros implicados en el arresto celular como el gen *grp* y *mei41* (Sibon, 1999) *tefu* o *mre11* (Bi *et.al*, 2005), *vasa*, *valois*, *staufer* y *tudor*, por referirnos a más ejemplos que son importantes de considerar para entender mejor la respuesta en la disminución de la cantidad de hijos recobrados de organismos como las hembras $y^1 mei9^a mei41^{D5}$ (Schupbach & Wieschaus, 1986). Se ha reportado que el gen *mei41^{D5}* es esencial en la transición de la blástula (Theurkauf, 1999).

La progenie promedio proveniente de las hembras $FM7c/w^+$ se recobró en proporción similar a la cepa silvestre aunque presentó mayor variación biológica que ésta y la cepa $y^1 mei9^a mei41^{D5}/FM7c$. Dicha variación se acentuó en las concentraciones $1.82E^{-11}$ mM y en una de las más alta con $3.05E^{-05}$ mM,

concentración en la cual trabajos anteriores han cuantificado mayor número de organismos (Trujillo, 2015) y elevada frecuencia de recombinación (Arroyo, 2014). Los machos w/Y tratados sobrevivieron en esas concentraciones pero puede ser que su material genético haya quedado vulnerable lo que puede ocasionar una baja en las capacidades reproductivas (fertilidad y fecundidad) porque el fluido seminal del macho puede llevar contenido proteico y receptores alterados (Lutz & Lutz, 2009; Sánchez, 2014).

4.2.2. i Progenie promedio (PPM) de la cepa silvestre(w^+/w^+).

Al desglosar por sexos la progenie de las hembras w^+/w^+ , no se observaron diferencias significativas para alguno de los sexos, pero aunque no hay diferencias significativas por concentración, se confirmó que en las concentraciones intermedias, la cantidad de progenie recuperada es ligeramente mayor que en el lote testigo, especialmente en $3.05E^{-05}$ mM. Esta concentración puede clasificarse entre las que estimulan a los organismos para tener umbrales de respuesta a clastógenos como la azida de sodio que induce otro nivel de estrés (Lovell 200).

4.2.2. ii Progenie promedio (PPM) de la cepa mei ($y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$).

Al analizar el efecto del tratamiento en la progenie recobrada de las hembras $y^1mei9^a\ mei41^{D5}/FM7c$, no se encontraron diferencias significativas dentro y entre cada fenotipo, con excepción de los machos $FM7c/Y$ que están subrepresentados en la progenie por recobrar menor número promedio de ellos. No obstante, en las concentraciones $1.46E^{-11}$, $1.86E^{-09}$ y $3.05E^{-05}$ mM se recuperó ligeramente más progenie aunque no de manera significativa. Nuevamente se obtuvo mayor número de organismos en concentraciones que pueden ser cruciales para que los organismos activen más rápido los mecanismos de desintoxicación.

4.2.2. iii Progenie promedio (PPM) de la cepa portadora de inversiones ($FM7c/w^+$).

El desglose por fenotipos de la progenie a partir de hembras $FM7c/w^+$, mostró mayor variabilidad entre ellos. En contraste, con la proporción de la progenie de moscas w^+/w , la proporción de hembras y machos portadores del cromosoma balanceador se recobraron en menor número para las concentraciones intermedias; contrariamente a la concentración $3.05E^{-05}$ mM, donde la cantidad de progenie recobrada fue mayor a la del lote testigo. Lo cual puede deberse a la capacidad metabólica de los machos progenitores para activar los umbrales de desintoxicación de la azida de sodio en el tiempo que estuvieron expuestos, sin embargo; en todas las concentraciones, la categoría de machos $FM7c/Y$ fue la menos abundante.

El resultado obtenido en las dos últimas cruzas sugiere que el cromosoma balanceador sí interfiere en la viabilidad de los organismos portadores, particularmente en los machos, ya que las hembras heterocigotas para el balanceador ($FM7c$, en ambas cruzas) tienen otro cromosoma no invertido que podría contrarrestar el efecto de las inversiones que porta el $FM7c$ (Jin W, *et.al*, 2001).

La fertilidad evalúa la capacidad de tener descendencia pero la fecundidad es también un buen indicador de la prolificidad de los organismos. Aunque estos sean fértiles pueden ser poco prolíficos y viceversa dependiendo de la alteración de su entorno. Las señales químicas y activación metabólica en respuesta al cambio en el medio ambiente dependen del tipo de compuesto, duración e intensidad de la exposición y son determinantes de la eficiencia reproductora de los organismos expuestos (Marsall & Uller, 2007).

4.3 Efecto Materno: comparación del genotipo de la progenie *silvestre*, *mei* y *FM7c*

La comparación del efecto de la concentración en la progenie promedio con respecto a su testigo correspondiente se hizo mediante la progenie corregida para cada tipo de cepa.

4.3.1 *Genotipo silvestre*

La progenie de hembras w^+/w y machos w^+/Y , que proviene de hembras w^+/w^+ y hembras $FM7c/w^+$ mostró una gran similitud en la concentración más baja probada y en las tres concentraciones más elevadas de $4.9E^{-04}$, $3.05E^{-05}$ y $1.25E^{-03}$ mM, pero en las concentraciones intermedias: $1.46E^{-11}$ a $3.81E^{-06}$ mM se observó un comportamiento diferente y significativo (excepto en $1.86E^{-09}$ mM).

Debido a que el genotipo materno es similar en cuanto a la presencia de un cromosoma sin inversiones y con el gen silvestre (w^+) se esperaba que la progenie recobrada con igual genotipo respondiera con tendencia similar por su condición pero recobramos en la concentración $3.05E^{-05}$ mM mayor número de hembras y machos respecto de su testigo correspondiente, como también ha sucedido en otros trabajos donde se ha estudiado a la azida de sodio y el efecto de diversos cromosomas balanceadores (García, 2006; Arroyo, 2014; Trujillo, 2015).

El cambio en la posición de los genes a lo largo de los cromosomas modifica la interacción que hay de un gen para la regulación de su expresión. Como en el caso del gen barra (*B*) en *Drosophila* (Lindsley & Zimm, 1992) que reduce el número de omatidias que forman el ojo de la mosca (Demerec 1994). El efecto de este gen se determina por el número de copias de secuencias del gen y de la posición sobre el mismo o diferente cromosoma.

4.3.2 Genotipo silvestre & $mei9^a mei41^{D5}$

Los genes $mei9^a$ y $mei41^{D5}$, son recesivos, por lo que no se espera que confieran desventaja a las hembras heterocigotas y efectivamente, este resultado se confirmó al comparar la progenie w^+/w y $mei9^a mei41^{D5} /w$, es decir, la presencia de estos genes no afecta a las hembras heterocigotas. En contraste, cuando se hizo la comparación correspondiente entre machos, sí se observaron diferencias significativas y se confirmaron en las concentraciones $3.81E^{-6}$ y $4.90E^{-04}$ mM a las que estuvieron expuestos los machos progenitores. Debido a que en este caso el macho sólo tiene un cromosoma X con estas mutaciones, se espera que se vea más afectado por su condición hemicigota.

4.3.3 Genotipo con cromosoma balanceador FM7c

Finalmente, en la progenie FM7c/w, se observó un comportamiento comparable en cuanto a la progenie recobrada para la primer concentración y en las tres últimas, así como una mayor diferencia en las concentraciones intermedias, aunque sólo se confirmaron diferencias significativas cuando los machos progenitores se expusieron a $1.46E^{-11}$ mM de azida de sodio. El efecto fue aún más evidente cuando se analizó por su origen a los machos FM7c/Y. Sólo se encontró una respuesta similar en $3.05E^{-05}$ Mm. En el resto de las concentraciones, se recobró menos progenie cuando estos machos provenían de hembras FM7c/w⁺ y se recobró más progenie cuando las hembras progenitoras fueron $y^1 mei9^a mei41^{D5} / FM7c$. Independientemente de que estos machos estén subrepresentados en sus respectivas progenies, lo cual se relaciona directamente con la presencia del cromosoma FM7c, la mayor cantidad de progenie se asociaría con la presencia de los genes $mei9^a mei41^{D5}$ en la hembra progenitora. Este resultado es muy interesante porque se ha descrito un efecto materno asociado a estos genes, que corroboramos cuando se comparó la progenie $y^1 mei9^a mei41^{D5} / Y$ vs la silvestre w^+ / Y .

Las hembras progenitoras comparten el cromosoma *FM7c* pero difieren en el segundo X, sea *mei9^a mei41^{D5}* ó *w⁺*, lo cual nuevamente sugiere que la diferencia en los resultados se asocia a los genes *mei9^a mei41^{D5}*, no se ha encontrado información acerca de este tipo de efecto.

Durante millones de años, los procesos evolutivos han dotado a los organismos de estrategias a nivel molecular para la reparación del daño al DNA, así como conductuales para sobrevivir y reproducirse. La transmisión de estos genes es la evidencia de la evolución para que los organismos adquieran la capacidad de adaptación a su entorno y a posibles barreras que se originen por la alteración de su ambiente.

Por tanto, la exposición de la azida de sodio en los machos *white* fue modulado de distinta manera dependiendo de la constitución genética de las hembras con las que se les cruzó (Mendelson & Sobel, 1974).

Los organismos silvestres pueden ser más eficientes para a la excreción de xenobióticos por los túbulos de Malpighi (Yang, *et.al*, 2007; Chahine *et.al*, 2012) o los cuerpos grasos de las larvas de tercer estadio con mayor actividad excretora (Baars, *et.al*, 1980; Hålmström & Grafstrom, 1981; Clarck, 1982; Burn *et.al*, 1996; Yang, *et.al*, 2007) de promutágenos como la azida de sodio (Owais *et.al*, 1979), por lo que constituyen la referencia natural acerca del efecto del progenitor macho en la progenie producida. Resalta después el efecto detrimental de múltiples inversiones en un cromosoma de la hembra, lo cual puede explicarse porqué éstas pueden tener consecuencias a nivel de la expresión y regulación de genes (efecto *cis*) (Baker *et.al*, 1976). Adicionalmente, se pueden recobrar diferencias por genes que, como los *mei9^a mei41^{D5}* pueden conferir sensibilidad al daño inducido en los organismos hemicingóticos y homocingóticos, pero de los que se desconoce con qué otras funciones podrían estar asociados (Baker & Carpenter, 1972; Carpenter & Sandler, 1974; Baker *et.al*, 1976; Osgood & Zimmering, 1979), aunque se ha establecido que participa en el complejo proteico que censa la integridad del DNA en la blástula (Hari *et.al*, 1995; Sibon *et.al*, 1999).

V CONCLUSIONES

- El tratamiento con azida de sodio sólo afectó la sobrevivencia de los machos progenitores en las concentraciones bajas.
- La fertilidad de los machos progenitores tratados aumentó cuando se cruzaron con hembras: *mei9^amei41^{D5}/FM7c* y *FM7c/w⁺*
- La cantidad de la progenie recobra de las hembras progenitoras *mei9^amei41^{D5}/FM7c* disminuyó.
- Los machos *FM7c/Y* que se recobran de las hembras *mei9^amei41^{D5}/FM7c* y *FM7c/w⁺* tienen menor viabilidad que el resto de los genotipos.
- La viabilidad de los machos *FM7c/Y* es mayor cuando la hembra progenitora lleva los genes *mei9^amei41^{D5}* en el otro cromosoma.

VI REFERENCIAS

- Arenaz P, Halberg L, and Mancillas F, 1989. Sodium Azide mutagenesis in mammals: inability of mammalian cells to convert Azide to a mutagenic intermediate. *Mutation Research*. 63- 67.
- Arenaz P & Nilan RA, 1981. Effect of sodium azide on sister chromatid exchanges in human lymphocytes and chinas hamster cells. *Mutation Research*. 217- 221.
- Arroyo JE, & Ramos MP, 2014. Efecto recombinogénico de la azida de sodio en células germinales de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, U.N.A.M. México. 86 pp.
- Baars AJ, Blijleven WG, Mohn GR, Natarajan AT, Breimer DD, 1980. Preliminary studies on the ability of *Drosophila melanogaster* preparations to active mutagens and carcinogens. *Mutation Research* 257- 264.
- Baker BS, Boyd JB, Carpenter AT, Green MM, Nguyen TD, Ripoll P, and Smith PD, 1976. Genetic controls of meiotic recombination and somatic DNA metabolism in *Drosophila melanogaster*, *Genetics* 73(11): 4140–4144.
- Baker BS, & Carpenter AT, 1972. Genetic analysis of sex chromosomal meiotic mutants in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 71(2):453- 475.
- Baker AM, & Lambdin PL, 1985. Fecundity, Fertility and Longevity of mated and unmated spined soldier bug females. *J. Agric. Entomol.* 2(4): 378-382.
- Banga SS, Yamamoto A, Mason JM, and Boyd JB, 1995. Molecular cloning of *mei-41*, a gen that influences both somatic and germline chromosome metabolism of *Drosophila melanogaster*. *Mol. Gen. Genet.* 20; 246(2): 148-155.
- Bauman A, Barry J, Wang S, Fujiwara Y and Wilson TG, 2010. Paralogous genes involved in juvenile hormone action in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 185: 1327–1336.
- Bi Xiaolin, Gong Min, Srikanta Deepa and Rong YS, 2005. *Drosophila* ATM and Mre11 Are Essential for the G₂/M Checkpoint Induced by Low-Dose Irradiation. *Genetics*; 171(2): 845–847
- Boyd JB, Golino MD, and Setlow RB, 1976. The *mei-9^a* mutant of *Drosophila melanogaster* increases mutagen sensitivity and decreases excision repair. *Genetics*. Vol 84 (3): 527- 544.

- Boyd JB, & Setlow RB, 1976. Characterization of post replication repair in Mutagen- sensitive strains of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. 83:507-526.
- Brommer, Jon E, Fricke C, Edward D, and 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.
- Brun A, Cuany A, Mouel L, Berge J, and Amichot M, 1996. Inducibility of the *Drosophila melanogaster* Cytochrome P- 450 gene, *CYPGA2*, by Phenobarbital in Insecticide Susceptible or resistant strains. *Insect Biochem Molec Biol*. Vol 26(7): 697- 703.
- Brusca R, & Brusca G, 2003. *Invertebrados*. Segunda edición. McGraw Hill. Editorial Interamericana. España. 651 pp.
- Campbell & Reece, 2008. *Biology*. Eighth edition, Benjamin Cummings, California, 1245 pp.
- Características de azida de sodio. Establecido para Enciclopedias de Salud y Seguridad para el Trabajo como Guía de Productos Químicos (tomado y modificado del resumen de datos de seguridad y factores de riesgo en el manejo de sustancias químicas. Universidad de Sonora, México. PDF, 2010.
- Carlson EA, 2009. Herman Joseph Müller 1890- 1967, *A Biographical Memoir*. National Academy of Science. Washington, 1-30 .pdf
- Carpenter ATC & Sandler, 1974. On recombination- defective meiotic mutants in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 76(3): 255- 286.
- Casso D, Ramírez- Weber FA, and Kornberg TB, 2000. GFP-tagged balancer chromosomes for *Drosophila melanogaster*. *Mechanisms of Development* 91: 451- 454
- Cassaret & Dull, 2001. *Manual de Toxicología*. McGraw Hill Interamericana. Quinta edición. 996 pp
- Chahine S, Campos A, and O'Donnell MJ, 2012. Genetic knockdown of a single organic anion transporter alters the expression of functionally related genes in Malpighian tubules of *Drosophila melanogaster*. *The Journal of Experimental Biology* 215, 2601-2610.

- Chajine S, & O'Donnell M J, 2011. Interactions between detoxification mechanisms and excretion in Malpighian tubules of *Drosophila melanogaster*. The Journal of Experimental Biology. Vol 214: 462-468.
- Clarck AM, 1982. The use of larval stage of *Drosophila* in screening for some naturally occurring mutagens. Mutation Research. Vol 2059(1):89- 97.
- Demerec M, 1994. Biology of *Drosophila*. Wiley and Sons New York. 632 pp.
- Dusenbery RL, & Smith PD, 1996. Cellular responses to DNA damage in *Drosophila melanogaster*. Mutation Research. Vol 364(3): 133- 145.
- Ferrus A, 1975. Parameters of Mitotic recombination in minute mutants of *Drosophila melanogaster*. Institute de Genética y Antropología, Centro de Investigaciones Biológicas, C.S.I.C.; Madrid, Spain. Genetics 79: 589-599
- García MV, Ramos MP, 2006. Participación de múltiples inversiones en la regulación de la respuesta genotóxica de *Drosophila melanogaster*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, U.N.A.M. México. 49 pp.
- Gatei M, Zhou BB, Hobson K, Scott S, Young D and Khanna KK, 2001. Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM) Kinase and ATM and Rad3 Related Kinase Mediate Phosphorylation of Brca1 at Distinct and Overlapping Sites. *IN VIVO ASSESSMENT USING PHOSPHO-SPECIFIC ANTIBODIES*. Vol. 276, No. 20, 17276–17280 , pp.
- González CE & Ramos MP, 1997. Sodium azide Induces mitotic recombination in *Drosophila melanogaster*. Mutation Research. 157- 165.
- Graf U, Hall CB, and Schaik N, 1990. On the use of excision repair defective cells in the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. Environmental and molecular mutagenesis Vol 16(4): 225-237.
- Graf U & Singer D, 1992. Genotoxicity testing of promutagens in the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. Rev. Int. Contam. Ambient. Vol 8 (1): 15- 27.
- Graf U, Vogel E, Biber UP, Würigler FE, 1978. Genetic control of mutagen sensitivity in *Drosophila melanogaster*. A new allele at the *mei9* locus on the X- chromosome. Mutation Research Vol 59(1): 129- 133.
- Graf U, Würigler FE, Katz J, Frei H, Juon H, and Hall CB, 1984. Somatic Mutation and Recombination Test in *Drosophila melanogaster*. Enviro. Mutagen. Vol 6(2): 153- 188.

- Greenspan RJ, 2004. Fly Pushig: The Theory and practice of *Drosophila* Genetics. Second Edition. New York, 23 pp.
- Hålmström IA, & Grafstrom R, 1981. The metabolism of drug and carcinogens in isolated subcellular fractions of *Drosophila melanogaster*. Enzyme induction and metabolism of benzo (a) pyrene. Chem Biol. Internations. 145- 159.
- Hari KL, Santerre A, Sekelsky JJ, McKim KS, Boyd JB, and Hawley RS, 1995. The *mei-41* gene of *Drosophila melanogaster* is a structural and functional homologue of the human Ataxia telangiectasia gene. Cell. Vol (8)82:815- 821.
- Hartl DL & Jones EW, 2009. Genetics: Analysis of Genes and Genomes. Seventh edition, USA. 763pp.
- Huynh JR, 2006. Fusome as a cell- cell communication channel of *Drosophila* ovarian cyst. Landes Bioscience. France, 217- 235 pp.
- Ishii H, Shirai T, Makino Ch, and Nishikata T, 2014. Mitochondrial inhibitor sodium azide inhibits the reorganization of mitochondria-rich cytoplasm and the establishment of the anteroposterior axis in ascidian embryo. Develop. Growth Differ. Vol 56: 175–188.
- James M, Mason J, Scobie NN, and Yamamoto AH, 1989. Genetic characterization of the *mei-41* locus in *Drosophila melanogaster*. Molec. Gen. Genet. 215(2): 190- 199pp.
- Jin W, Riley RM, Wolfinger RD, White KP, Passador-Gurgel G, and Gibson G, 2001. The contributions of sex, genotype and age to transcriptional variance in *Drosophila melanogaster*. *Nature Genetics* 29, 389 – 395.
- Kalthoff K, 1996. Analysis of Biological Development. First edition. McGraw Hill, U.S.A. 738 pp.
- Kamra OMP, & Gollapudi B, 1979. Mutagenic effects of sodium azide in *Drosophila melanogaster*. Mutation Research. Vol 66(4): 381- 348.
- Kleinhofs A, Kleinschmidt M, Sciaky D, and Broembsen SV, 1975. Azide mutagenesis *in vitro*. Mutation Research. Vol 29(3): 497- 500.
- Klug SW, Cummings RM and Spencer AC, 2008. Conceptos de Genética. Octava edición, Prentice Hall. Madrid, España. 884 pp.
- Lewin B, 2008. GENES IX. Novena edición, McGrawHill; México. 892 pp.

- Lindsley DL, & Zimm G, 1992. The genome of *Drosophila melanogaster*. Academic Press, Inc U.S.A., 1133 pp.
- Lovell DP, 2000. Dose- response and threshold- mediated mechanisms in mutagenesis: statistical models and study design. *Mutation Research*. 463, 87- 95.
- Loppin B, Frédéric B, and Pierre C, 2001. The Maternal effect Mutation *sesame* affect the formation of the male pronucleus in *Drosophila melanogaster*. *Developmental Biology* 231, 383–396.
- Lushchak OV, Gospodaryov DV, Rovenko BM, Yurkevych IS, Perkhulyn NV, and Lushchak VI, 2013. Specific dietary carbohydrates differentially Influence the life span and Fecundity of *Drosophila melanogaster*. *Journals of Gerontology: Biological Sciences*. 3–12.
- Lutz WK and Lutz RW, 2009. Statistical model to estimate a threshold dose and its confidence limits for the analysis of sublinear dose- response relationships, exemplified for mutagenicity data. *Mutation Research* 678: 118- 122.
- Mishra M, Sharma A, Shukla AK and Kumar R, 2004. Genotoxicity of dichlorvos in strains of *Drosophila melanogaster* defective in DNA repair. *Mutation research*. Volume 766, 35–41
- Majumdar S, Singh A and Rio DC, 2013. The Human THAP9 Gene Encodes an ActiveP-Element DNA Transposase. *Science (New York, NY)*. 339 (6118):446-448.
- Martínez AA, & Sterart A, 2002. Molecular principles of animal Development. First edition. Oxford; New York.410 pp.
- Marshall DJ & Uller T, 2007. When is a maternal effect adaptative? *Journal compilation*. 1957- 1963.
- Mendelson D, & Sobels FH, 1974. The inhibiting effect of caffeine on the maternal repair of radiation chromosome breaks in *Drosophila*. *Mutation Research*. Vol. 26(2): 123-128.
- Moreno MME & Álvarez NA, 2012. Disruptores endocrinos, un posible riesgo tóxico en productos de consumo habitual.ISSN-e 2254-7169, N°. 1, 2012 , págs. 35-43.
- Mughal SK, Myazin AE, Zhavoronkov LP, Rubanovich AV, and Dubrova YE, 2012. The dose and Dose- rate effects of paternal irradiation on

transgenerational instability in mice: A radiotherapy connection. Plos one. Volume 7, Issue 7, 1- 7.

- Nelson D, & Cox MM, 2006. Lehninger: Principios de Bioquímica. Cuarta edición. Omega ediciones, Barcelona, 1191 pp.
- Newman MC & Unger MA, 2003. Fundamentals of Ecotoxicology. Second edition. Lewis Publisher USA, 458 pp.
- Nguyen TD, & Boyd JB, 1977. The meiotic-9 (*mei-9^a*) mutants of *Drosophila melanogaster* are deficient in repair replication of DNA. Molec. Gen. Genet. 158(2): 141- 147.
- Nöttinger, 1970. Sucrose density separation: A method for collecting large number of *Drosophila* larvae. Dros Inf Serv (DIS 45:177).
- Orr WC, & Sohal RSS, 1994. Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. Science 263: 1128–1130.
- Osgood C, & Zimmerign S, 1979. Effects of caffeine on maternal repair systems in *Drosophila melanogaster*. Concentration-dependent reversals of the effects of caffeine on chromosome loss and autosome-autosome translocations induced by x-rays in the paternal genome. Mutation Research. Vol. 63(1): 79- 86.
- Owais WM, Kleinhofs A, and Nilan RA, 1979. In vivo conversion of sodium azide to a stable mutagenic metabolite in *Salmonella typhimurium*. Mutation Research. Vol 66(1): 15- 22.
- Owais WM, Kleinhofs A, & Nilan RA, 1981. Effects of L-cysteine and O-acetyl-L-serine synthesized and mutagenicity azide metabolite. Mutation Research. Vol 29(3):99- 104.
- Owais WM, Kleinhofs A, Ronald RC and Nilan RA, (1981 c). Isolation of an azide mutagenic metabolite in *Salmonella typhimurium*. Mutation Research, 91,155- 161.
- Owais WM, & Kleinhofs A, 1988. Metabolic activation of the mutagen azide in biological systems. Mutation Research. Vol. 197 (2): 313- 323.
- Pandey UB, & Nichols DC, 2011. Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. Pharmacological Reviews. 411- 436.
- Peña C, Carter D, y Ayala F, 2001. TOXICOLOGÍA AMBIENTAL. Evaluación de riesgos y restauración ambiental. The University of Arizona, 204 p. (Tomado de: <http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/4>).

- Perrimon N, 1988. The maternal effect of *lethal (1) discs-large-1*: A recessive oncogene of *Drosophila melanogaster*. 92–407.
- Raja SJ & Renkawitz-Pohl R, 2005. Replacement by *Drosophila melanogaster* protamines and *Mst77F* of histones during chromatin condensation in late spermatids and role of *sesame* in the removal of these proteins from the male pronucleus. *Molecular and Cellular Biology*, Vol. 25(14): 6165–6177.
- Ralph JG, 2004. Fly Pushing. The theory and practice of *Drosophila* Genetics. Second edition. Printed in China by Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York. 13- 18 pp.
- Ramírez A, & Ramos P, 2003. Detección de lesiones al DNA en *Drosophila melanogaster* por muestras de agua contaminada. Tesis de maestría; Facultad de Ciencias-UNAM. 86 pp.
- Rathke Ch, Baarends WM, Awe S, and Renkawitz-Pohl R, 2014. Chromatin dynamics during spermiogenesis. *Biochemica et Biophysica Acta* 1839: 155–168.
- Reilly JG & Thomas CA, 1980. Length polymorphisms, restriction site variation, and Maternal inheritance of mitochondrial DNA of *Drosophila melanogaster*. 109 –115.
- Rendon HEP, Robles MF, 2000. Activación DE la familia de proteínas cinasas C: avances y perspectivas. Facultad de medicina –UNAM. 20(1): 19- 29.
- Rivas MH, Ramos MP, 1999. Participación de la reparación en el daño inducido por mutágenos por diferente actividad química: N-Nitrosodimetilamina (DMN), Metil- metano- Sulfonato (MMS), Colchicina, azida de sodio y Cloruro de Plomo. Tesis de Licenciatura, Iztacala, U.N.A.M. México. 61 pp.
- Rosichan JL, Owais WM, Ronald RC, Kleinhofs A, and Nilan RA, 1983. A mutagenic metabolite synthesized by *Salmonella typhimurium* grown in the presence of azide is azidoalanine. *Mutation Research*. Vol. 118(4): 229–239.
- Russell PJ, 1998. GENETICS, Fifth Edition, Benjamin Cummings. Publishing Company, Inc. 805 pp.
- Sander C, Nilan RA, Kleinhofs A, 1978. Mutagenic and Chromosome-breaking effects of azide in barley and human leukocytes. *Mutation Research*. Vol 50(1):67-75.

- Sánchez RL, 2014. El locus *male-female steril (1)* de la región 6E1-2 de *Drosophila melanogaster*. MORElab Research Group (Tomado de: <http://apps.morelab.deusto.es/teseo/page/thesis/el-locus-male-female-sterile-1-de-la-region-6e1-2-de-drosophila-melanogaster>, 2015)
- Schupbach T, AND Wieschaus E, 1986. Germline autonomy of maternal-effect mutations altering the embryonic body pattern of *Drosophila*. *Developmental Biology*, 113, 443- 448.
- Sekelsky JJ, Mackim KS, Chin GM, and Hawley RS, 1995. The *Drosophila* meiotic recombination gen *mei-9* encodes a homologue of the yeast excision repair protein *RAD1*. *Genetics*, 619- 627.
- Sibon OC, Laurençon A, Hawley R, Theurkauf WE, 1999. The *Drosophila* ATM homologue *mei- 41* has an essential checkpoint at the midblastula transition. *Current Biology* 9(6): 302- 3012.
- Spring K, Ahangari F, Scott SP, Purdie DM, Chen PC, McKinnon PJ, Swift M, and Lavin MF, 2002. Mice heterozygous for mutation in *Atm*, the gene involved in ataxia-telangiectasia, have heightened susceptibility to cancer. *Nature Genetics* 32, 185 – 190.
- Smith PD, & Huang W, 1997. The *mus206* gene of *Drosophila melanogaster* is required in the excision repair of alkylation- induced DNA lesions. *DNA repair*. 384(2) 81- 88.
- Sobels FH, 1974. The advantages of *Drosophila* for mutation studies. *Mutation Research*. Vol. 26 (4): 277- 284.
- Orr WC & Sohal R S (1994) Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*, *Science* 263(5150): 1128 – 1130.
- Trujillo VY, Ramos MP, 2015. Evaluación del desempeño reproductivo de *Drosophila melanogaster* en relación con el daño genético. Tesis de maestría; Facultad de Ciencias-UNAM., 59 pp.
- Vogel EW, 1975. Some aspects of the detection of potential mutagenic agents in *Drosophila*. *Mutation research*. Vol 29(2):241- 250.
- Vogel EW & Natarajan AT, 1995. DNA damage and repair in somatic and germ cells in vivo. *Mutation Research*. 330, 183- 208.
- Yang J, McCart C, Woods DJ, Terhzaz S, Greenwood KG, Constant R, and Dow JA, 2007. A *Drosophila* systems approach to xenobiotic metabolism. *Comparative genomics*. Vol. 30(3): 223- 231.

- Yildiz Ö, Kearney H, Kramer BC and Sekelsky JJ, 2004. Mutational Analysis of the *Drosophila* DNA Repair and Recombination gene *mei-9*. *Genetics* 167: 263–273
- Yoo MA, Ryo H, and Kondo S, 1985. Differential hypersensitivities of *Drosophila melanogaster* strains with *mei9^a*, *mei41*, and *mei9^a mei41* alleles to somatic chromosome mutations after larval x- irradiation. *Mutation Research* Vol.146 (3): 257- 264.
- Zimmering S, & Cooper SF, 1980. A maternal effect in homozygous *mei-9^a mei-41^{D5}* repair deficient *Drosophila melanogaster* Females influencing the recovery rate of progeny bearing a Y chromosome. *Environmental Mutagenesis*. Vol. 2(4): 543- 545.
- Zimmering S, Hartmann AW, and Cooper SF, 1980. Evidence that the repair deficient *mei9^a* female in *Drosophila melanogaster* is a strong potentiator of chromosome loss induced in the paternal genome by dimethylnitrosamine. *Environmental Mutagenesis*. Vol 2(2): 187- 190.
- Zimmering S, & Deitemeyer N, 1981. A further note on the utility of the excision repair- deficient *mei9^a* females of *Drosophila melanogaster* detecting chromosome breaking induced by procarbazine in male germ cells. *Environmental Mutagenesis*. Vol. 3(3): 293- 295.