

“OJO BLANCO” (*obl*), UN GENE MARCADOR DEL GRUPO DE LIGAMIENTO IV EN *Tribolium castaneum* Herbst.

Fernando Núñez(1)

RESUMEN

Se estudiaron algunos aspectos genéticos de una mutación espontánea en *T. castaneum*, descubierta en el Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia (Bogotá).

El gene mutante llamado “ojo blanco” (*obl*) es autosómico recesivo, de excelente viabilidad, penetrancia completa y expresividad variable. Fenotípicamente se caracteriza por una depigmentación de los ojos compuestos; Puede observarse desde el estado de larva. Se le hicieron pruebas de ligamiento con marcadores para diferentes grupos. Se obtuvieron resultados positivos con el marcador “sooty” del grupo de ligamiento IV. La distancia se calculó a partir de 2.843 descendientes de retrocruzas en posición de repulsión y 1.630 descendientes de retrocruzas en posición de acoplamiento. Esta distancia fue de 15.64 ± 0.92 unidades entre *obl* y *s*. No se pudo determinar si *obl* está a la izquierda o a la derecha de *s*. No se hallaron discrepancias entre los sexos ni entre las fases en la frecuencia de recombinación para la región del cromosoma IV comprendida entre los loci. *obl* y *s*.

SUMMARY

Some genetic aspects of a spontaneous mutation in *T. castaneum*, discovered in the Department of Biology of National University of Colombia (Bogotá), were studied.

(1) Profesor Asociado, Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Biología A.A. No. 23227 Bogotá, D.E. - Colombia.

The mutant gene christened "ojo blanco" (*obl*), is recessive autosomic, of excellent viability, complete penetrance and variable expression. The gene is phenotypically characterized by a depigmentation of the compound eyes and can be observed from the larval stage. Linkage tests with marker mutants for different groups, were carried out.

The marker "sooty", of the linkage group IV, gave positive results. The distance was estimated from 2843 descendants obtained from backcrosses in repulsion phase and 1630 in coupling phase. This distance was worked out as 15.64 ± 0.92 units between *obl* and *s*. It was not possible to determine if *obl* is on the left or the right hand side of *s*. Nor discrepancies between sexes, neither between phases were found in the recombination frequencies for the region between the two loci of chromosome IV.

Palabras claves: Genética insectos; Genética *Tribolium*; ligamiento genético; mapeo cromosómico; Coleóptera, Tenebrionidae, *Tribolium*.

INTRODUCCION

Según A. Sokoloff (1966, 1977), en el grupo de ligamiento IV de *T. castaneum* se han ubicado con certeza un total de 12 genes mutantes, de los cuales se hace, a continuación, una descripción muy sumaria, designándolos con nombres en Español, que son traducciones de los nombres originales dados en Inglés:

Esternitos incompletos (*sti*): Recesivo, buena viabilidad y expresividad variable. Se caracteriza porque algunos pares de escleritos abdominales adyacentes presentan áreas esclerotizadas en sus márgenes limítrofes, por lo cual no pueden inbricarse, ya que tales sitios están ocupados por una amplia zona carnosa que se extiende de lado a lado del abdomen.

Mesosterno incompleto (*ims*): Recesivo, penetrancia incompleta; el epinasterno falla para contactar y fusionarse con la proyección medial-anterior del metasterno.

Cuerpo fuliginoso (*s*): Se describirá en detalle más adelante, en la sección de materiales y métodos.

Ojos avellanas (*h*): Autosómico recesivo; el color negro del ojo compuesto se transforma en pardo-rojizo, que varía su tonalidad, desde muy clara hasta muy oscura.

Ojo en barra (*Be*): Dominante con efectos letales recesivos; diámetro antero-posterior del ojo, reducido.

Protorax cortado (*ctp*): Recesivo, buena penetrancia y viabilidad; expresividad variable. Se caracteriza por poseer una pequeña área no esclerotizada en la línea media del protorax.

Urogonfi juvenil (ju): Recessivo, de buena penetrancia y viabilidad; expresividad variable. Es un caso de pedomorfosis (caracteres pupales en el adulto). Los urogonfi tienen aspecto carnosos, con esclerotización deficiente.

Urogonfi juvenil reducido (rju): Incompletamente recesivo; los urogonfi del adulto se convierten en un par de cerdas lisas colocadas a ambos lados de la abertura anal.

Urogonfi juvenil alargado (eju): Recessivo, expresividad variable. Los urogonfi son más largos y aguzados que en *ju*.

Antena espatulada (Spa): Autosómico dominante con efectos letales recesivos. Los segmentos antenales exhiben diversos grados de fusión, tanto en el funículo como en la clava. En algunos casos puede identificarse desde el estado de pupa.

Patas defectuosas (dfl): autosómico recesivo, penetrancia incompleta y expresividad variable. Podómeros faltantes, rudimentarios o retorcidos. El segmento afectado con más frecuencia es la tibia.

Segmentos antenales fusionados (fas-2): Recessivo, buena penetrancia y viabilidad. Expresividad variable. Antenómeros del funículo fusionados en distinto grado.

Los primeros 7 loci referidos se hallan ubicados a lo largo del cromosoma en el mismo orden en que han sido descritos. La posición exacta del resto de genes mutantes nombrados no ha sido bien establecida. Muy reciente, Sokoloff y Brownlee (1985) han ubicado en el cromosoma IV al gene dominante Giant (*Gi*), cuyo efecto es doblar el peso corporal, tanto de los heterocigotos $Gi/+$, como de los homocigotos Gi/Gi , en comparación con el silvestre $+/+$.

El presente trabajo se propone: Dilucidar el mecanismo de herencia, y estimar viabilidad, penetrancia y expresividad del gene "ojo blanco", *obl*. Demostrar que este locus está ubicado en el grupo de ligamiento IV. Calcular la distancia (porcentaje de recombinación) entre el locus *obl* y el locus marcador *s* (sooty o fuliginoso).

MATERIALES Y METODOS

MUTANTES

OJO BLANCO (*obl*), *mutante problema*: Mutación espontánea, descubierta por el autor en un cultivo mixto de cepas silvestres en 1982. Distinguido en estados de larva, pupa y adulto; en larva y pupa, el área usualmente ocupada por los ojos compuestos es indistinguible del resto del cuerpo, ya que no muestra una pigmentación conspicua. En estos estados, los mutantes dan la impresión de carecer por completo de ojos.

Según Arrieta (1986), en los adultos, el tono cromático de los ojos varía desde un blanco brillante indiferenciable de "perla", hasta pardo claro (2.5 YR 5/8, según la tabla Munsell).

CUERPO FULIGINOSO (s.), mutante marcador: Los ejemplares vivos fueron gentilmente suministrados en abril de 1984 por el doctor Alexander Sokoloff (Universidad de California, San Bernardino).

Este mutante es el clásico marcador del grupo de ligamiento IV. Según Sokoloff (1986), fue descubierto por Bartlett y Bell en 1960. Ellos lo habían descrito en principio como recesivo, aunque en realidad parece ser semi-dominante. Sin embargo, se requiere considerable entrenamiento para poder distinguir al heterocigoto $s/+$ con certeza. El fenotipo s/s es casi idéntico al bronce, producido por una sola dosis de black, $b/+$; en cambio, se describe como un poco más claro que el pardo-rojizo del fenotipo silvestre. s muestra una baja viabilidad cercana al 20%. Si se considera a s como recesivo, y se hace una cruce de ss con bb para obtener F-2, se observa una segregación fenotípica de 4 negros (black): 2 fuliginoso-oscuro (dark-sooty): 7 fuliginosos: 3 silvestres. Una dosis de b produce tanto pigmento como 2 dosis de s ; los 2 loci actúan aditivamente en el genotipo b^+bss para producir más pigmento que un alelo de uno cualquiera de los dos loci en presencia de doble dosis del alelo silvestre del otro (Bartlett, Bell y Schideler, 1962); i.e., $b^+bss > b^+b^+ss$ y $b^+bss > b^+bs^+s^+$

PROCEDIMIENTO

Todos los apareamientos fueron masivos: 15 x 15, hechos en frascos de vidrio de 120 cc., 30-32°C y 80-90% H.R.; se usó medio de cultivo "standard": Harina de trigo y levadura de cerveza pulverizada (19: 1 P/p).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados de los apareamientos consignados en la tabla 1, demuestran que el gene *obl* es autosómico recesivo y tiene penetrancia del 100% (apareamiento VI). La viabilidad estimada a partir de los resultados arrojados por los apareamientos III, IV y V, es comparable a la del silvestre; es decir, el mutante *obl* no sufre baja de viabilidad apreciable. En cuanto a la ubicación del gene problema, se hicieron pruebas con 6 marcadores distintos, aunque aquí sólo se consignan los resultados positivos que fueron obtenidos a partir de apareamientos con el mutante fuliginoso o sooty (*s*). Como se indica en la tabla 2, se registró y computó un total de 2.834 descendientes de retrocruzas en posición de repulsión (apareamientos VII y VIII) y un total de 1630 descendientes de retrocruzas en posición de acoplamiento (apareamiento IX).

En las descendencias de los apareamientos VII y VIII se registró baja de viabilidad para el mutante *s*, pero no para *obl*, razón por la cual la distancia se calculó aplicando la ecuación 4.4 de Bailey (pág. 51):

$$y = \frac{b + c}{n} \quad \hat{y} = 1 - y; \text{ var. } \hat{y} = \frac{y(1-y)}{n}$$

En la descendencia del apareamiento No. IX se detectó baja de viabilidad en ambos genes mutantes; por esta razón, para estimar la distancia en porcentaje de recombinación, se aplicó la ecuación:

$$\hat{y} = \frac{(bc)^{1/2}}{(ad)^{1/2} + (bc)^{1/2}} \quad \text{var } \hat{y} = \frac{y^2(1-y)^{1/2}}{h}$$

donde $4/h = 1/a + 1/b + 1/c + 1/d$

(Baley, 1961: 4.10 y 4.11, pg. 53)

El valor de \hat{y} , o distancia estimada entre *s* y *obl* a partir de los apareamientos VII y VIII es, sensiblemente la misma. Por esta razón se pueden englobar los resultados en un solo bloque y calcular una única distancia. Esta es igual a 15.64 ± 0.92 que, como puede fácilmente comprobarse, contiene todos los valores obtenidos en repulsión. Por tanto, el estimador más adecuado es este último.

TABLA I : Resultados de cruzas para determinar mecanismo de herencia, viabilidad y penetrancia del gene *obl*

	Tipo de apareamiento		+	obl	total	No. frascos
	macho	hembra				
I	obl obl	++	1382	00	1382	3
II	+ +	obl obl	785	00	785	2
III	+ +	+/obl	592	197	789	2
IV	obl obl	+/obl	1096	1087	2183	5
V	+/obl	obl obl	509	493	1002	3
VI	obl obl	obl obl	00	480	480	1
		Total	4364	2257	6621	16

En la tabla 2 puede observarse que en el apareamiento VII el sexo recombinante es el masculino, mientras que en el apareamiento VIII el sexo recombinante es el femenino; como la distancia calculada a partir de ambos apareamientos es la misma, se puede concluir que no hay diferencias en la frecuencia de recombinación entre los sexos en la región comprendida entre los genes *s* y *obl* en el cromosoma IV de *T. castaneum*. Estos resultados contradicen las conclusiones de Dawson (1972), quien afirma que en el grupo de ligamiento IV, y para distancias menores de 25 unidades mapa, se registran discrepancias de recombinación entre los dos sexos; dicha afirmación se ha-

bía apoyado parcialmente en los hallazgos de Johnson (1966), quien había establecido que entre los loci *s* y *Be* se registraba siempre, con independencia de las condiciones ambientales y fisiológicas, un mayor porcentaje de recombinación en machos que en hembras (25.5: 22.6).

TABLA 2 : Resultados de las pruebas de ligamiento entre el mutante problema *obl* y el marcador *s* del grupo IV.

	Tipo de apareamiento		+	Descendencia				N	y
	macho	hembra		<i>obl</i>	<i>s</i>	<i>sobl</i>			
VII	(+S)(<i>obl</i> +)	X (<i>sobl</i>)(<i>sobl</i>)	118	551	165	16	850	15.76	
VIII	(<i>sobl</i>)(<i>sobl</i>)	X (+s) (<i>obl</i> +)	167	933	746	147	1993	15.75	
IX	(<i>sobl</i>)(<i>sobl</i>)	X (++) (<i>sobl</i>)	845	141	110	534	1630	15.64	

Los resultados consignados en la tabla 2, también indican que no hubo discrepancias en la frecuencia de recombinación entre las fases de repulsión y acoplamiento.

Es posible que *obl* sea una recurrencia del mutante white (*w*), descrito por Eddlemann y Bell en 1963, ya que la descripción fenotípica, mecanismo de herencia, viabilidad y penetrancia coinciden; también, en forma preliminar, fue ubicado en el cromosoma IV, muy cerca a "ojos avellana" o hazel (Sokoloff, 1977), pero aparentemente no se determinó la distancia de "sooty", ni de ningún otro marcador. El mutante en cuestión parece hallarse extinto hoy.

obl es un buen marcador del grupo de ligamiento IV por su excelente viabilidad, penetrancia completa y relativa facilidad con que puede ser distinguido su fenotipo. Ahora habría que afinar su ubicación: fundamentalmente, determinar si se halla a la derecha o a la izquierda de "sooty".

CONCLUSIONES

El gene *obl* es autosómico recesivo de buena viabilidad, penetrancia completa y expresividad variable.

Está ubicado en el grupo de ligamiento IV a una distancia de 15.64 unidades mapa del locus *s*; esta distancia varía de 14.72 a 16.56.

Pudiera tratarse de una recurrencia de "white" (*w*), ya que coinciden en varios aspectos.

No se hallaron discrepancias entre sexos ni entre fases en la frecuencia de recombinación de los genes *obl* y *s*.

No se sabe si *obl* se ubica a la izquierda o a la derecha de *s*.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- ARRIETA, L. 1986: Relaciones de ligamiento en *Tribolium castaneum* (Herbst) I. Mutantes obl, or, pv, ap y oje. Tesis de grado. Dpto. Biología, U.N. Bogotá.
- BAILEY, N.J. 1961: Introduction to mathematical theory of genetics linkage. Clarendon press, Oxford. 291 p.
- BARTLETT, A., A., BELL y D. SCHIDELER. 1962. Two loci controlling body color in flour beetles. J. HEREDITY 53: 291- 295.
- DAWSON, P. 1972. Linkage Group IV of *Tribolium castaneum*. CAN J. Genet. Cytol. 14: 675-680.
- EDDLEMANN, H. y A. BELL. 1963. Four new eye color mutants in *Tribolium castaneum*. GENETICS 48: 888 (abstr.).
- JOHNSON, G. 1966: Recombination differences with reciprocal crosses in *Tribolium castaneum*. GENETICS 53: 111- 115.
- SOKOLOFF, A. 1966. The genetics of *Tribolium* and related species. ADV. GENET. Supl. 1; Academic Press, New York.
- _____. 1977. The biology of *Tribolium* with special emphasis on genetic aspects. Vol. 3: Clarendon Press, Oxford.
- _____ y A. BROWNLEE. 1985. Linkage identification of Giant. TRIB. INF. BULL. 25:81-83.