

20.591

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**DISTRIBUCIÓN DE EFECTOS DE MUTACIONES
ESPONTÁNEAS SOBRE COMPONENTES DE EFICACIA
BIOLÓGICA EN *DROSOPHILA MELANOGASTER***

MEMORIA
QUE PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
PRESENTA

JESÚS FERNÁNDEZ MARTÍN

VºBº

El director

**CARLOS LÓPEZ-FANJUL DE
ARGÜELLES**

El doctorando

JESÚS FERNÁNDEZ MARTÍN

MADRID 1995

A mi familia,
en el amplio sentido de la palabra

AGRADECIMIENTOS

- Al Dr. Carlos López-Fanjul de Argüelles, director de esta tesis, por haberla hecho posible y por depositar su confianza en mí.
- A la Dra. Araceli Gallego Cobos, por su inmensa paciencia con mis “*capciosas*” preguntas sobre estadística e informática.
- A los doctores Miguel Ángel Toro Ibáñez, Aurora García-Dorado García y Armando Caballero Rúa por los conocimientos que, con mucho esfuerzo, consiguieron meter en mi cabeza y por sus comentarios e ideas sobre esta tesis.
- A todos mis compañeros de laboratorio empezando por Nieves (que me enseñó el manejo de las moscas), siguiendo por los que ya se fueron y terminando por los que aún siguen “*al pie del tubo*” sin cuyo apoyo hubiera sido difícil en ocasiones seguir adelante.
- A mi familia por aguantar mis ausencias en fechas señaladas *por culpa de las moscas*, mis “*mosqueos*” cuando algo no salía bien y por respaldarme en todas las decisiones que tuve que tomar.

ÍNDICE

- INTRODUCCIÓN	1
VARIANZA DE MUTACIÓN	1
COVARIANZA DE MUTACIÓN	3
DISTRIBUCIÓN DE EFECTOS	4
MUTACIONES INDIVIDUALES	5
OBJETIVOS	5
- MATERIAL Y MÉTODOS	7
MATERIAL BIOLÓGICO	7
Organismo experimental y condiciones de cultivo	7
Población base	8
Caracteres evaluados	9
MÉTODOS ESTADÍSTICOS	10
Estimación de varianzas y covarianzas	10
Estimación de efectos y acción génica de las mutaciones	14
- RESULTADOS	17
DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA DE LAS LÍNEAS	17
VARIANZAS Y COVARIANZAS DE MUTACIÓN	23
ANÁLISIS DE LÍNEAS EXTREMAS	33
- DISCUSIÓN	39
HEREDABILIDADES DE MUTACIÓN	39
CORRELACIONES DE MUTACIÓN	42
MEDIOS EXTREMOS	45

ANÁLISIS DE LÍNEAS EXTREMAS	47
- RESUMEN	55
- BIBLIOGRAFÍA	57

FIGURAS

1.- Distribuciones de las desviaciones de las medias de las líneas para fecundidad ..	18
2.- Distribuciones de las desviaciones de las medias de las líneas para viabilidad huevo-pupa	19
3.- Distribuciones de las desviaciones de las medias de las líneas para viabilidad pupa-adulto	20

TABLAS

1.- Número de líneas, generaciones y hembras evaluadas en cada ambiente	10
2.- Líneas extremas evaluadas	15
3.- Parámetros de las distribuciones de medias para fecundidad	21
4.- Parámetros de las distribuciones de medias para viabilidad huevo-pupa	21
5.- Parámetros de las distribuciones de medias para viabilidad pupa-adulto	22
6.- Componentes de varianza de la fecundidad	23
7.- Componentes de varianza de la viabilidad huevo-pupa	24
8.- Componentes de varianza de la viabilidad pupa-adulto	24
9.- Componentes de covarianza entre fecundidad y viabilidad huevo-pupa	25
10.- Componentes de covarianza entre fecundidad y viabilidad pupa-adulto	25
11.- Componentes de covarianza entre viabilidad huevo-pupa y viabilidad pupa- adulto	26

12.- Estimaciones de los parámetros mutacionales de la fecundidad	27
13.- Estimaciones de los parámetros mutacionales de la viabilidad huevo-pupa	28
14.- Estimaciones de los parámetros mutacionales de la viabilidad pupa-adulto	28
15.- Estimaciones de las covarianzas y correlaciones de mutación entre fecundidad y viabilidad huevo-pupa	30
16.- Estimaciones de las covarianzas y correlaciones de mutación entre fecundidad y viabilidad pupa-adulto	30
17.- Estimaciones de las covarianzas y correlaciones de mutación entre viabilidad huevo- pupa y viabilidad pupa-adulto	31
18.- Correlaciones entre ambientes para fecundidad	32
19.- Correlaciones entre ambientes para viabilidad huevo-pupa	32
20.- Correlaciones entre ambientes para viabilidad pupa-adulto	33
21.- Efectos en homocigosis y heterocigosis de líneas extremas sobre fecundidad ..	34
22.- Efectos en homocigosis y heterocigosis de líneas extremas sobre viabilidad huevo-pupa	35
23.- Efectos en homocigosis y heterocigosis de líneas extremas sobre viabilidad pupa-adulto	36
24.- Estimaciones de la heredabilidad de mutación de caracteres morfológicos	40
25.- Efecto combinado de dos mutaciones en una misma línea	54

INTRODUCCIÓN

La importancia de la mutación en el mantenimiento de la variabilidad genética en poblaciones naturales sobre las que actúa la selección natural ha sido objeto de atención creciente en las dos últimas décadas desde el punto de vista teórico (revisiones en Bulmer 1989, Barton 1990, Hill 1990) y, sólo recientemente, desde el experimental (Lynch 1988, Mackay 1990).

En poblaciones de censo finito la magnitud de la varianza en el equilibrio mutación-selección-deriva depende en gran medida de la distribución conjunta de los efectos de las mutaciones sobre el carácter estudiado y la eficacia biológica (Keightley y Hill 1990). La forma de esta distribución depende a su vez de la correlación de los valores absolutos de los efectos sobre carácter y eficacia y de las varianzas de las distribuciones marginales, linealmente relacionadas con las varianzas (V_m) y covarianzas (cov_m) de mutación.

VARIANZA DE MUTACIÓN

Cuando los efectos génicos son aditivos la varianza de mutación expresa la aportación de nueva varianza genética por generación debida a mutación (Lynch 1988). Este parámetro depende del número de loci en los que pueden aparecer mutaciones con efecto sobre el carácter (n), la tasa de mutación por locus (λ , que se supone lo suficientemente pequeña para que no segreguen a la vez más de dos alelos por locus) y la media de los cuadrados de los efectos génicos de las mutaciones sobre el carácter [$E(a^2)$], según la expresión (Hill 1990)

$$V_m = n \frac{\lambda}{2} E(a^2)$$

Normalmente para favorecer la comparación entre estimas que corresponden a diferentes caracteres o especies se expresa la varianza de mutación en forma adimensional como heredabilidad de mutación (h_m^2) dividiéndola por la varianza ambiental. La información experimental que se posee es muy escasa y prácticamente se restringe a *Drosophila melanogaster* y dentro de esta especie a caracteres morfológicos. Para éstos últimos las estimas oscilan alrededor de 10^{-3} (Mackay y col 1992b, Santiago y col 1992, López y López-Fanjul 1993, Mackay y col. 1994). La información sobre heredabilidades de mutación de caracteres ligados a eficacia biológica es incluso más escasa. En *Drosophila melanogaster* se han propuesto valores entorno a 10^{-5} para viabilidad huevo-adulto al reanalizar datos de Mukai y col. y Onnishi (Lynch 1988). Recientemente Houle y col (1994) han comunicado estimas de la heredabilidad de mutación de caracteres ligados a eficacia biológica en el rango $(0,8 - 3,7) \times 10^{-3}$. Houle y col. (1992) obtuvieron estimas de la varianza de mutación de la propia eficacia entre 10^{-3} y 10^{-4} (en tanto por uno).

Otra forma de tipificar la varianza de mutación consiste en expresarla como coeficiente de variación mutacional [$CV(V_m)$] (Houle 1992). Las estimas de este parámetro en la literatura para caracteres morfológicos en *Drosophila melanogaster*, en porcentajes, se mueven en el rango 0,1 - 0,7 (Santiago y col. 1992, López y López-Fanjul 1993). Para caracteres ligados a eficacia los valores oscilan entre 1,32 y 4,45 (calculados a partir de los datos de Houle y col. 1994).

Hay que tener en cuenta que todos los valores expuestos suponen infraestimaciones del valor real ya que se basan en el modelo infinitesimal y no tienen en cuenta la pérdida de mutaciones con efecto deletéreo como describen Keightley y col. (1993). Dicha pérdida será mayor en los caracteres relacionados con la eficacia que en los morfológicos. Por otra parte la magnitud del sesgo también cambiará según el método experimental seguido. Así un menor censo efectivo hará que la importancia de la deriva sea mayor y la fijación de mutaciones deletéreas más probable (Keightley y col. 1993). La pérdida de mutantes deletéreos se puede minimizar acumulando las mutaciones frente a un cromosoma con una inversión con lo que quedan protegidas de la acción de la selección natural; en estos casos habrá que introducir factores de corrección ya que no se tiene en cuenta todo el genomio sino sólo un cromosoma. También hay que tener en cuenta el tipo de mutaciones que se acumulan porque algunos tipos de mutaciones inducidas, como pueden ser las producidas por elementos P, suelen presentar un efecto medio superior al de las mutaciones espontáneas (Mackay 1992a).

COVARIANZA DE MUTACIÓN

La pleyotropía es interesante a la hora de determinar el signo de las mutaciones en una población ya que si existe pleyotropía antagónica entre dos componentes de eficacia puede que se mantengan mutaciones con efectos deletéreos sobre uno de ellos compensándose con su efecto positivo sobre el otro (Lande 1980, Rose 1982). De forma análoga a lo visto en el apartado anterior para la varianza, la covarianza genética debida a nueva mutación se mide a través de la covarianza de mutación calculada según la expresión (Hill 1990)

$$\text{cov}_m = n \frac{\lambda}{2} E(\mathbf{ab})$$

donde $E(\mathbf{ab})$ es la media de los productos de los efectos de una mutación sobre dos caracteres determinados. La forma habitual en la literatura de expresar la covarianza de mutación es como correlación de mutación (ρ_m). Para caracteres morfológicos Santiago y col. (1992) encuentran correlaciones positivas o no significativas (0,35 - 0,88). En este caso hay que tener en cuenta que los caracteres medidos están todos relacionados con el tamaño corporal. Sin embargo las correlaciones de los caracteres morfológicos con la eficacia biológica parecen ser negativas (-0,39 , -0,37) y mutaciones de efecto grande sobre estos caracteres son deletéreas o incluso letales (Mackay y col. 1992a, Santiago y col. 1992, López y López-Fanjul 1993). Para caracteres ligados a eficacia los valores propuestos son muy dispares en signo y magnitud oscilando entre -0,92 y 0,82 (Mukai y Yamazaki 1971, Simmons y col. 1980, Houle y col. 1994).

Al igual que ocurre con las estimas de heredabilidades de mutación los valores calculados para la correlación de mutación estarán infraestimados por la pérdida de mutaciones incondicionalmente deletéreas. Por otra parte la acumulación de mutaciones que muestren pleyotropía antagonica tenderá a hacer negativo el valor de la correlación.

DISTRIBUCIÓN DE EFECTOS

Los experimentos realizados sugieren que la distribución de efectos de las mutaciones es leptocúrtica y asimétrica (de signo variable para caracteres morfológicos y negativa para viabilidad y eficacia biológica), con una correlación intermedia entre el valor absoluto del efecto del mutante para caracteres morfológicos y eficacia biológica (Mackay

1985, Mackay y col 1992a, Santiago y col 1992, Houle y col 1992, López y López-Fanjul 1993, Mackay y col. 1994). Keightley (1994) estimó parámetros de las distribuciones de efectos de mutaciones que afectan a viabilidad huevo-adulto aplicando métodos de máxima verosimilitud a los datos de Mukai y col. (1972) y Ohnishi (1974). Sugiere que dicha distribución debe ser muy leptocúrtica y que, aunque propone límites inferiores moderados para este parámetro, el mejor ajuste se consigue con valores de curtosis que tienden a infinito.

MUTACIONES INDIVIDUALES

Caballero y Keightley (1994) recopilan la información que sobre mutaciones individuales hay en la literatura (Simmons y Crow 1977, Mackay y col. 1992a, Santiago y col. 1992, López y López-Fanjul 1993). La conclusión que alcanzan es que las mutaciones con efecto grande (mayor de 0,6 desviaciones fenotípicas), tanto espontáneas como producidas por la inducción de inserciones de elementos P, tienden a ser recesivas, mientras que aquéllas con efecto mediano (entre 0,3 y 0,6 desviaciones) presentan todo tipo de acción génica aunque la aditiva es la más frecuente. Debe recordarse que los datos considerados corresponden a mutaciones con efecto sobre caracteres morfológicos y viabilidad huevo-adulto en *Drosophila melanogaster*.

OBJETIVOS

Nuestro propósito era obtener información sobre los parámetros mutacionales de tres caracteres ligados a eficacia biológica en *Drosophila melanogaster* que no habían sido estudiados hasta ahora (fecundidad, viabilidad huevo-pupa y viabilidad pupa-adulto). Trabajamos con un conjunto de líneas consanguíneas derivadas de la misma población

homocigota para todos los cromosomas y mantenidas durante más de 100 generaciones de tal manera que las diferencias estables entre líneas podemos atribuir las a mutaciones que se han fijado en cada una de ellas.

Los datos obtenidos pueden tratarse de dos maneras. Por una parte se pueden analizar conjuntamente para calcular estimas de varianzas de mutación (o covarianzas si consideramos parejas de caracteres a la vez). Por otra parte se pueden estudiar individualmente, línea a línea, con objeto de estimar el efecto y la acción génica de las mutaciones fijadas en cada una de ellas con respecto a los caracteres de interés.

Podría pensarse que el efecto negativo de las mutaciones deletéreas sobre los componentes de eficacia biológica se hace mayor a medida que se deteriora más el ambiente en el que dichos caracteres se expresan. Si esto fuera así encontraríamos mayores varianzas de mutación asociadas a medios de calidad decreciente. Esta posibilidad debe contrastarse frente a la hipótesis nula, esto es, el efecto de las mutaciones sobre los componentes de eficacia es independiente del medio.

Para verificar estas hipótesis se estimaron varianzas y covarianzas de mutación de los tres caracteres que abarca el estudio expresados en el medio estándar de cultivo y en otros tres restrictivos, caracterizados por el aumento de la temperatura, de la concentración de sal o de la dilución del medio para rebajar el contenido alimenticio.

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL BIOLÓGICO

Organismo experimental y condiciones de cultivo

El experimento se llevó a cabo utilizando la especie *Drosophila melanogaster*. Las condiciones estándar de cultivo incluían temperatura y humedad controladas ($25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y $40\% \pm 0,1\%$, respectivamente) e iluminación constante. De este modo el ciclo biológico (huevo-larva-pupa-adulto) se completaba en aproximadamente 10 días. La manipulación se realizó en el laboratorio a temperatura ambiente usando CO_2 como anestésico.

El medio estándar de cultivo se preparaba por cocción conteniendo, por litro de agua, 100 g de levadura de pan, 100 g de azúcar, 12 g de agar-agar, 2,5 g de sal y 5 cm^3 de ácido propiónico (que actúa como fungicida). Cuando la papilla se iba a utilizar para el conteo de huevos se le añadían, después de la cocción, 24 gotas de colorante alimenticio McCormick azul y otras tantas de rojo por litro para favorecer el contraste.

También se obtuvieron observaciones en otras tres condiciones de cultivo que diferían de la estándar únicamente en una de las modificaciones siguientes: **1)** una temperatura más elevada ($28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$), **2)** una mayor concentración de sal en el medio (20 g por litro de agua), **3)** un menor aporte alimenticio (40 g de azúcar, 12 g de levadura y 8 g de agar-agar por litro de agua). En cualquiera de estos casos los individuos examinados nacieron y se desarrollaron en las condiciones de interés.

Los individuos se mantenían en tubos de vidrio ($\varnothing = 20 \text{ mm}$ y 100 mm de altura)

cuando se trataba de una sola pareja reproductora o en botellas de boca ancha ($\varnothing = 35$ mm) de medio litro de capacidad en el caso de varias parejas. En ambos casos se disponía en el fondo una capa de medio de cultivo de unos 20 mm de espesor.

Población base

Se usó la cepa isogénica para todos los cromosomas obtenida por Caballero y col. (1991). A partir de ella se iniciaron 200 líneas consanguíneas (Santiago y col. 1992). La mitad (líneas B1 a B100) se ha mantenido desde entonces con un sólo apareamiento hermano x hermana por línea y generación. La otra mitad (líneas C1 a C100) se mantuvo inicialmente por apareamiento de dos parejas de dobles primos hermanos en cada generación y, a partir de la 47, por apareamiento hermano x hermana de modo idéntico al seguido en las líneas B.

De cada una de las líneas se mantenían además, en cada generación, dos tubos de repuesto para ser usados en caso de que la pareja titular no tuviera descendencia.

La población base se mantuvo paralelamente como línea control en ocho botellas con un esquema circular de apareamiento que aseguraba un censo suficientemente grande (aproximadamente 800 padres potenciales por generación). Sin embargo para su evaluación se tomaron individuos que habían nacido en tubos de una sola pareja de padres formada al azar; de esta manera se aseguró que el desarrollo de aquéllos había tenido lugar en las mismas condiciones de densidad de cultivo que los individuos de las líneas.

La población isogénica llevaba la mutación recesiva para color de ojos “*sepia*” (*se*)

en el cromosoma III, como indicador de una posible contaminación con moscas exógenas.

Caracteres evaluados

Se consideraron tres componentes de eficacia biológica: fecundidad (número de huevos puestos por una hembra durante el séptimo día de vida adulta), viabilidad huevo-pupa (porcentaje de pupas obtenidas a partir de la puesta anterior) y viabilidad pupa-adulto (porcentaje de adultos emergidos del total de pupas anterior).

La evaluación de los tres caracteres se realizó de la siguiente manera. Hembras vírgenes de cuatro días se apareaban individualmente y al azar con machos vírgenes de las mismas edad y línea. Dos días después se transfería cada pareja a uno de los 24 alvéolos ($\varnothing = 16$ mm) de una placa de cultivo celular de material plástico, conteniendo cada uno de ellos una capa de medio de cultivo coloreado. Se permitía la puesta durante 24 horas transcurridas las cuales se eliminaban los reproductores para realizar el conteo de los huevos. A continuación, con ayuda de una espátula, se pasaba el contenido de cada celdilla a un tubo de vidrio con el medio de cultivo fresco pertinente. El número de pupas y adultos se contaba a los nueve y doce días respectivamente. Por datos anteriores se sabe que, en estas líneas y bajo las condiciones estándar de cultivo, el porcentaje de moscas emergidas después del decimosegundo día era despreciable (menor del 1%). En alguna de las otras condiciones de cultivo consideradas la velocidad de desarrollo disminuyó, de manera que el conteo de pupas y adultos se realizó algunos días después de lo habitual (hasta los catorce y dieciocho días, respectivamente, en el caso de bajo aporte alimenticio).

MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Estimación de varianzas y covarianzas de mutación

Se evaluaron simultáneamente los tres caracteres en cada una de dos o tres generaciones consecutivas. El número de generaciones en que se llevaron a cabo los análisis (J), el de líneas estudiadas en cada generación (I) y el de hembras evaluadas por línea y generación (K) aparecen, para cada una de las condiciones de cultivo, en la Tabla 1.

TABLA 1

Número de líneas (I), generaciones (J) y hembras evaluadas por línea y generación (K) en cada una de las condiciones de cultivo consideradas

Condiciones de cultivo	I	J	K
Estándar	176	3 (104 - 106)	4
Alta temperatura	154	2 (145 - 146)	5
Alta concentración salina	130	3 (153 - 155)	5
Bajo contenido alimenticio	113	2 (160 - 161)	5

La reducción en el número de líneas evaluadas en los diferentes ambientes se debió a varias causas. Por una parte, a medida que pasaban las generaciones, eran menos las líneas supervivientes (aproximadamente se pierde una línea cada tres generaciones). Por otra parte hubo líneas que, a pesar de estar disponibles, no fue posible mantener en las condiciones concretas (hasta 16 líneas en el caso del medio diluido) o los datos obtenidos fueron muy pocos y no se incluyeron para no desequilibrar demasiado el modelo (hasta 28 en el mismo caso de antes).

Para cada carácter y tipo de cultivo los datos se analizaron según técnicas estándar de Análisis de Varianza. El modelo que se ajustó fue el siguiente:

$$y_{ijk} = l_i + g_j + (lg)_{ij} + e_{ijk}$$

donde l_i es el efecto de la línea i -ésima ($i = 1, I$), g_j el efecto de la generación j -ésima ($j = 1, J$), $(lg)_{ij}$ el efecto de la interacción entre los efectos de la línea i -ésima y la generación j -ésima y e_{ijk} el error correspondiente al individuo k -ésimo de la línea i -ésima en la generación j -ésima ($k = 1, K$). Los efectos de línea y generación en este análisis factorial se consideraron aleatorios. También se realizaron los Análisis de Covarianza correspondientes a todas las parejas posibles de caracteres.

Estos análisis permitían descomponer la varianza (covarianza) total en varianza (covarianza) entre líneas (V_L, cov_L), entre generaciones (V_G, cov_G), de la interacción ($V_{L \times G}, cov_{L \times G}$) y dentro de líneas y generaciones (V_w, cov_w).

Partiendo de una población completamente homocigota y suponiendo que todas las mutaciones son neutras y aditivas, la varianza de mutación (V_m) puede obtenerse de la fórmula

$$V_L = 2V_m \left[t - 2N \left(1 - e^{-\frac{t}{2N}} \right) \right]$$

(Lynch y Hill, 1986), donde t es el número de generaciones transcurrido hasta la evaluación

y N el censo efectivo de la línea. Se utilizó el mismo valor del censo efectivo para las líneas B y C ya que éstas últimas se mantuvieron por apareamiento entre hermanos durante al menos 57 generaciones antes de comenzar el experimento ($N = 2,5$; Falconer 1990). Para tener una medida adimensional se suele utilizar la heredabilidad de mutación (h_m^2), esto es, V_m expresada como fracción de la varianza ambiental estimada por V_w

$$h_m^2 = \frac{V_m}{V_w}$$

De la misma manera se pueden obtener las covarianzas de mutación (cov_m) a partir de la fórmula anterior, sustituyendo V_L y V_m por cov_L y cov_m respectivamente (Hill 1990). Así se calcularon correlaciones de mutación (ρ_m) entre caracteres (1 y 2) como

$$\rho_m = \frac{cov_m}{\sqrt{V_{m1} V_{m2}}}$$

Los errores típicos aproximados se calcularon a partir de las técnicas de Análisis de Varianza. Del propio análisis tenemos que

$$V_L = \frac{MCL - MCLG}{JK}$$

$$V_w = MCW$$

donde MCL, MCLG y MCW son las medias de cuadrados entre líneas, de la interacción y dentro de líneas. Tomando varianzas

$$V(V_L) = \frac{V(\text{MCL}) + V(\text{MCLG})}{(JK)^2}$$

$$V(V_w) = V(\text{MCW})$$

En un modelo equilibrado y suponiendo normalidad

$$V(\text{MCL}) = \frac{2(\text{MCL})^2}{I+1}$$

$$V(\text{MCLG}) = \frac{2(\text{MCLG})^2}{[(I-1)(J-1)+2]}$$

$$V(\text{MCW}) = \frac{2(\text{MCW})^2}{[I(K-1)+2]}$$

Según la fórmula aproximada de la varianza de un cociente

$$V\left(\frac{V_L}{V_w}\right) \approx \frac{V_w^2 V(V_L) + V_L^2 V(V_w)}{V_w^4}$$

Podemos así calcular la varianza de la heredabilidad de mutación como

$$V(h_m^2) = k^2 V\left(\frac{V_L}{V_w}\right), \text{ siendo } k = \frac{1}{2 \left[t - 2N \left(1 - e^{-t} \right) \right]}$$

Un procedimiento similar se usó para calcular los errores típicos de las covarianzas.

Los intervalos de confianza para las estimas de las correlaciones se calcularon según el

método de Fisher (Snedecor y Cochran 1967). Todos los cálculos se realizaron con los datos sin transformar y usando un error de tipo I de $\alpha = 0,05$.

En ocasiones también se expresa la varianza de mutación como coeficiente de variación mutacional $[CV(V_m)]$ (Houle 1992), esto es

$$CV(V_m) = \frac{\sqrt{V_m}}{\bar{x}}, \quad E.T.[CV(V_m)] = \frac{CV(V_m)}{\sqrt{2(I-1)}}$$

siendo I el número de líneas utilizado en el análisis.

Los datos correspondientes a hembras que no pusieron huevos se descartaron (y se sustituyeron por nuevas observaciones cuando las hubo) ya que no es posible discernir si los ceros se producen por nula fecundidad o por otros motivos.

Estimación de efectos y acción génica de las mutaciones

Las líneas que mostraron medias extremas para cada carácter en condiciones estándar fueron objeto de un análisis más detallado. Un total de 14 líneas (de dos a cuatro líneas de cada cola de las distribuciones de las medias de las líneas para los tres caracteres) fueron estudiadas entre las generaciones 109 y 116. Las líneas escogidas para cada carácter y sentido se especifican en la Tabla 2.

Aunque la elección se basó en un número muy pequeño de datos (12 por línea) obtenidos en generaciones diferentes, el procedimiento se reveló como eficaz para

determinar las líneas con mayor efecto sobre cada carácter, ya que sólo en el caso de la línea C70 para fecundidad el efecto detectado con posterioridad fue de sentido opuesto al obtenido en la primera evaluación.

TABLA 2

**Líneas en las que se estimaron los efectos de las mutaciones en
homocigosis y heterocigosis para los caracteres señalados**

Efecto	Fecundidad	Viabilidad huevo-pupa	Viabilidad pupa-adulto
Positivo	B78	C10	B32
	B86	C50	C60
	C 6	C52	
	C10		
Negativo	C59	B32	B42
	C70	B33	B78
		B52	C74

El análisis se desarrollaba de la siguiente manera. Se realizaban cruces recíprocos entre cada una de las líneas (P_1) y la línea control (P_0). A la siguiente generación se evaluaban simultáneamente los tres caracteres en las F_1 recíprocas (50 individuos por cada cruce recíproco) y en las líneas parentales correspondientes (100 individuos de la línea y 100 del control).

La fecundidad se consideró como una propiedad de la madre. Sin embargo se supuso que las viabilidades podrían estar influidas tanto por el genotipo de la madre como por el de los hijos; por ello la fecundidad de los heterocigotos se midió como el número de huevos puestos por hembras F_1 , mientras que las viabilidades correspondientes se refieren a la proporción de pupas o adultos que se desarrollan a partir de huevos o pupas F_1 .

Si consideramos que, en una línea, todas las mutaciones que afectan un determinado carácter están fijadas y que, por el contrario, no están presentes en el control, podemos calcular los efectos en homocigosis ($2a$) y en heterocigosis (d) promediados sobre el conjunto de todas las mutaciones pertinentes acumuladas en cada línea como

$$a = \frac{\bar{P}_1 - \bar{P}_0}{2}, \quad E.T.(a) = \frac{\sqrt{E.T.^2(\bar{P}_1) + E.T.^2(\bar{P}_0)}}{2}$$

$$d = \bar{F}_1 - \left[\frac{\bar{P}_1 + \bar{P}_0}{2} \right], \quad E.T.(d) = \sqrt{E.T.^2(\bar{F}_1) + \frac{E.T.^2(\bar{P}_1) + E.T.^2(\bar{P}_0)}{4}}$$

Se comprobó la significación ($P < 0,05$) de las estimas de a y d de forma separada para cada carácter según el método de comparación secuencial de Bonferroni (Rice 1989).

RESULTADOS

Todos los individuos evaluados fueron de fenotipo “*sepia*”, asegurando así que no se había producido contaminación por parte de fuentes externas en línea alguna. Esto no anula la posibilidad de que pudiera haberse dado contaminación entre líneas. Sin embargo el hecho de que las distintas líneas con medias extremas para caracteres morfológicos (Santiago y col. 1992; López y López-Fanjul 1993) o componentes de eficacia (este trabajo) se comporten de manera diferente con respecto a sus efectos sobre los distintos atributos considerados, hace pensar que tampoco este tipo de contaminación tuvo lugar.

DISTRIBUCIÓN DE LA MEDIA DE LAS LÍNEAS

La distribución de las desviaciones de las medias de las líneas, con respecto a la media general en cada generación, promediadas sobre las dos o tres generaciones consideradas, aparecen en las Figuras 1 - 3 para cada carácter y medio de cultivo. La media, varianza y coeficientes de asimetría y curtosis de cada distribución se muestran en las Tablas 3 - 5. La población control sólo se evaluó en el medio estándar pero estos datos no se obtuvieron contemporáneamente a los de las líneas y, por tanto, no son comparables con ellos dado que el efecto de generación resultó ser importante (Tablas 6 - 8).

En el medio estándar todas las distribuciones fueron significativamente asimétricas, en sentido positivo para fecundidad y negativo para las dos viabilidades. Esta observación concuerda con los resultados de un análisis posterior basado en un número grande de datos correspondientes a las líneas extremas, en los cuales se observa que los efectos significativos en homocigosis para las viabilidades fueron siempre negativos, mientras que resultaron

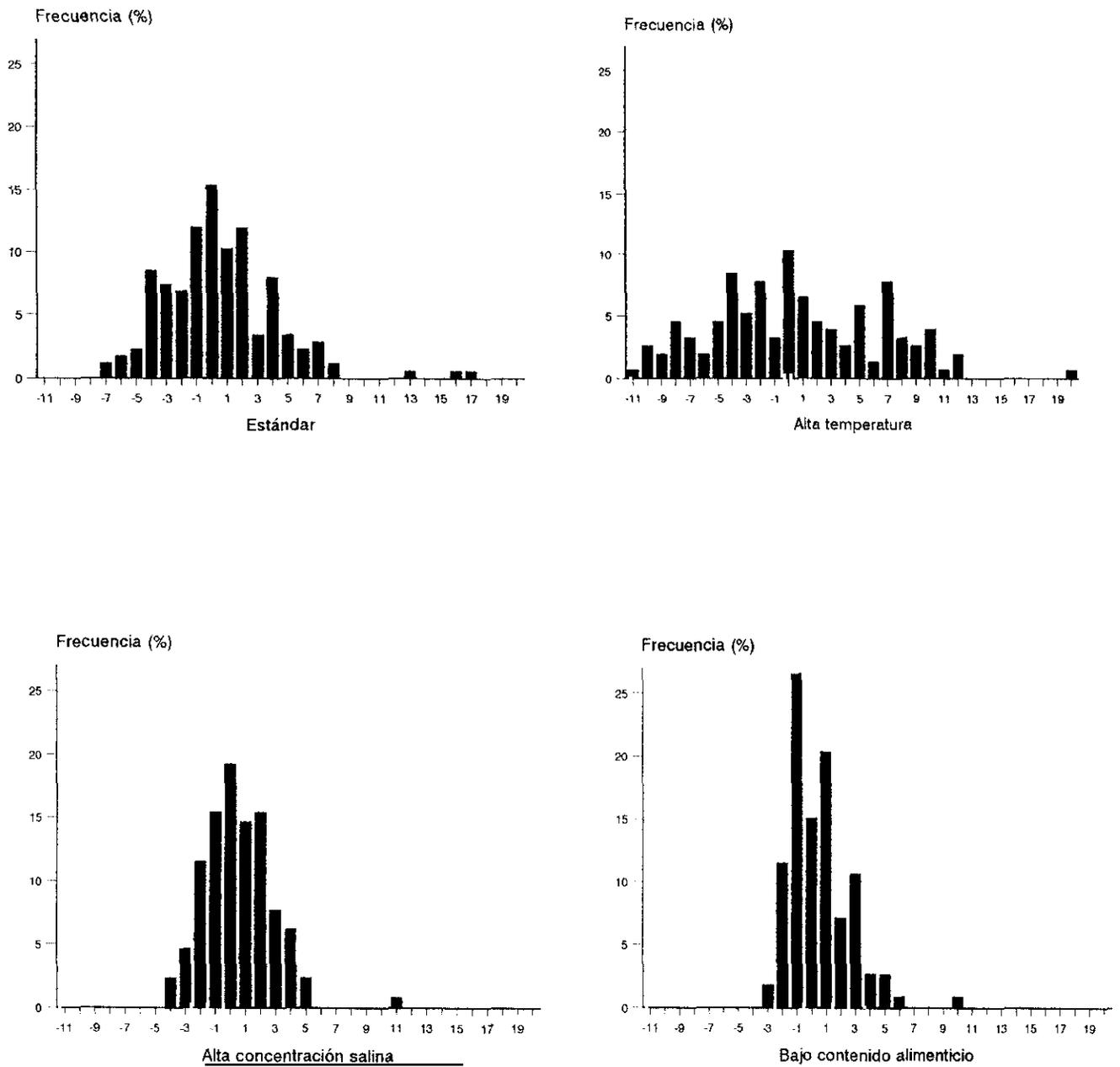


FIGURA 1.- Distribución de las desviaciones de las medias de las líneas respecto a la media general promediadas en las generaciones correspondientes para fecundidad.

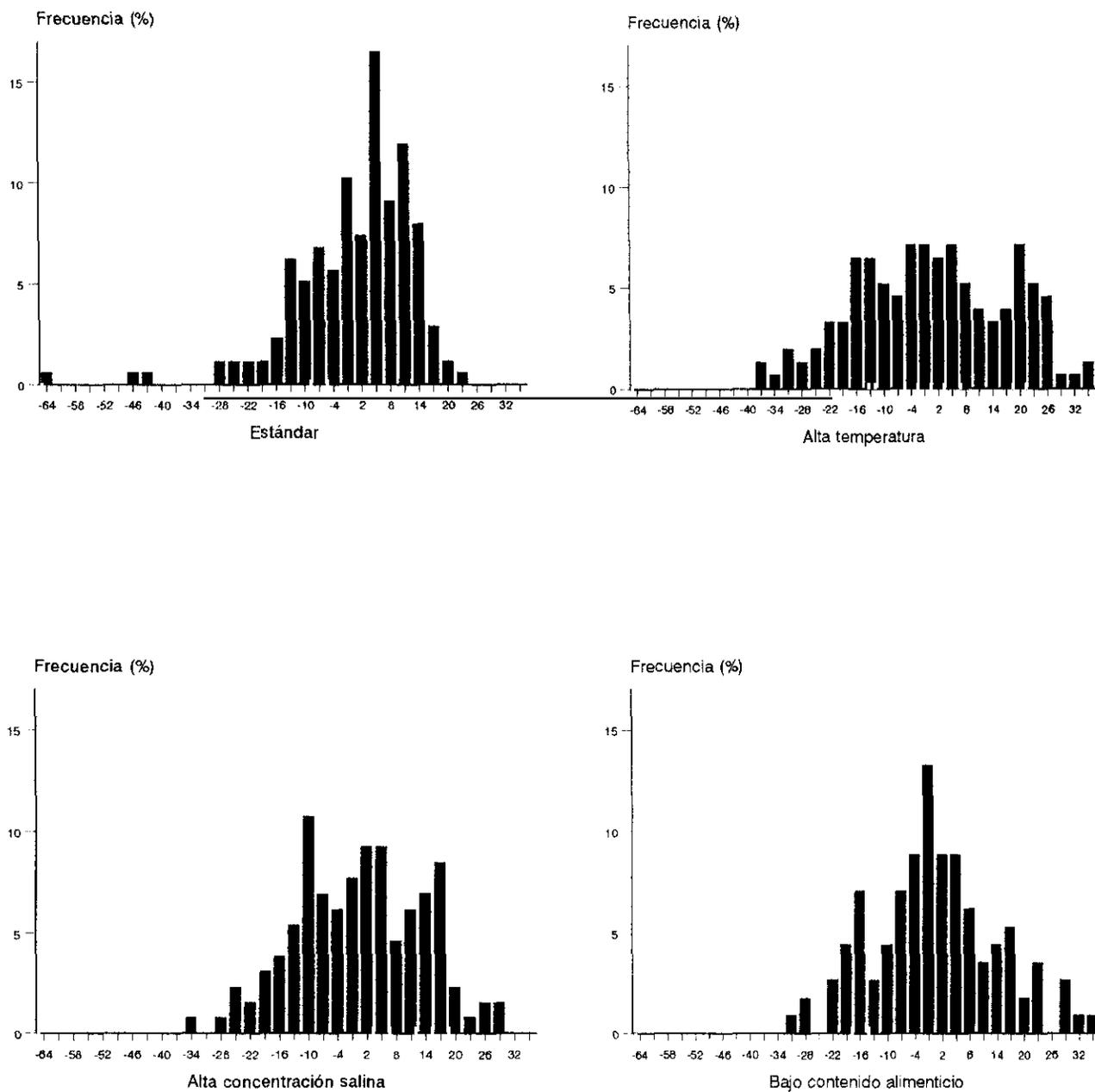


FIGURA 2.- Distribución de las desviaciones de las medias de las líneas respecto a la media general promediadas en las generaciones correspondientes para viabilidad huevo-pupa (%).

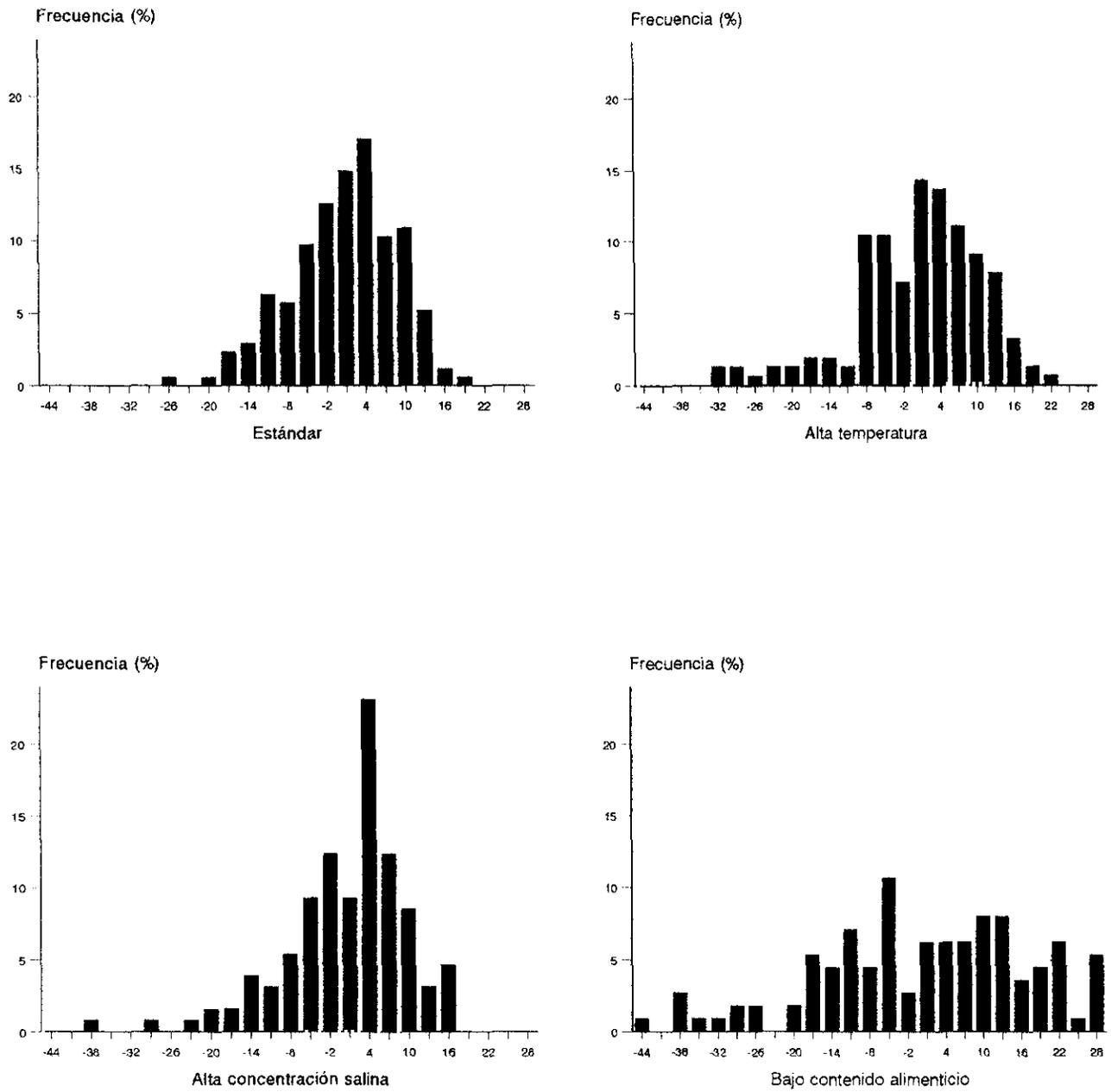


FIGURA 3.- Distribución de las desviaciones de las medias de las líneas respecto a la media general promediadas en las generaciones correspondientes para viabilidad pupa-adulto (%).

ser predominantemente positivos para fecundidad (Tablas 21 - 23). El coeficiente de curtosis fue significativamente mayor que cero para fecundidad y viabilidad huevo-pupa y no alcanzó significación para viabilidad pupa-adulto.

TABLA 3

**Media (\bar{x}), varianza (V), coeficientes de asimetría (g_1) y curtosis (g_2)
de la distribución de las medias de las líneas para fecundidad.**

Condiciones	\bar{x}	V	g_1	g_2
Estándar	17,01 \pm 0,22*	13,70	1,09*	3,02*
Alta temperatura	20,27 \pm 0,47*	34,14	0,29	-0,26
Alta concentración salina	7,08 \pm 0,20*	4,97	0,88*	3,21*
Bajo contenido alimenticio	5,51 \pm 0,19*	4,28	1,21*	2,79*

* $p < 0,05$

TABLA 4

**Media (\bar{x}), varianza (V), coeficientes de asimetría (g_1) y curtosis (g_2)
de la distribución de las medias de las líneas para viabilidad huevo-pupa (%).**

Condiciones	\bar{x}	V	g_1	g_2
Estándar	73,83 \pm 0,74*	155,92	-1,58*	4,83*
Alta temperatura	45,15 \pm 1,34*	277,15	-0,07	-0,72*
Alta concentración salina	57,65 \pm 1,13*	166,97	-0,07	-0,52
Bajo contenido alimenticio	47,96 \pm 1,29*	189,56	0,20	-0,12

* $p < 0,05$

TABLA 5

**Media (\bar{x}), varianza (V), coeficientes de asimetría (g_1) y curtosis (g_2)
de la distribución de las medias de las líneas para viabilidad pupa-adulto (%).**

Condiciones	\bar{x}	V	g_1	g_2
Estándar	76,27 \pm 0,46*	62,35	-0,39*	-0,07
Alta temperatura	79,25 \pm 0,84*	107,37	-0,88*	1,01*
Alta concentración salina	81,89 \pm 0,81*	85,65	-1,07*	2,22*
Bajo contenido alimenticio	72,85 \pm 1,58*	281,28	-0,45*	-0,23

* $p < 0,05$

La fecundidad media aumentó (alrededor de un 20%) al hacerlo la temperatura mientras que disminuyó drásticamente (entre un 60 y un 70%) en los otros dos medios considerados. En lo que respecta a la temperatura nuestros datos coinciden con los de David y Clavel (1969) que muestran el efecto de la misma sobre la fecundidad en *Drosophila melanogaster*, con un máximo en los 28° C y un fuerte descenso para temperaturas superiores (revisión en Ashburner y Thompson 1978). La viabilidad huevo-pupa descendió acusadamente en los tres medios extremos (en un 20 - 40%). Sin embargo la viabilidad pupa-adulto sólo sufrió ligeras variaciones respecto al valor en medio estándar (en torno al 5%). Estos resultados ponen de manifiesto que el efecto depresivo de cada uno de los medios extremos es diferente según el carácter considerado.

Por otra parte se observó una correlación positiva entre la varianza y la media en el caso de la fecundidad, sin que se manifieste claramente un comportamiento paralelo en los componentes de viabilidad.

El signo de las asimetrías no se modificó con el cambio de medio, circunstancia que se mantiene para todos los caracteres con la excepción de la viabilidad huevo-pupa en el medio con bajo contenido alimenticio (no significativamente diferente de cero). La curtosis experimentó variaciones moderadas en magnitud y signo en los diferentes medios, mostrando valores reducidos que oscilan entre 4,83 y -0,72.

VARIANZAS Y COVARIANZAS DE MUTACIÓN

Los componentes de varianza que se obtuvieron de los análisis pertinentes se muestran en las Tablas 6 - 8, para cada uno de los medios considerados. También se dan los componentes de covarianza que se obtuvieron en los análisis para todas las posibles parejas de caracteres (Tablas 9 - 11)

TABLA 6

Componentes de varianza^a de la fecundidad

Condiciones	V_L	V_G	V_{LG}	V_w
Estándar	7,86*	5,62*	5,43*	48,37
Alta temperatura	21,08*	35,48*	10,41*	78,46
Alta concentración salina	2,74*	4,37*	1,79*	21,74
Bajo aporte alimenticio	1,47*	8,96*	3,27*	10,05

^a V_L, V_G, V_{LG} y V_w son, respectivamente, varianza entre líneas, entre generaciones, de la interacción línea x generación y dentro de línea y generación. Los grados de libertad respectivos en las distintas condiciones son: (175, 153, 129, 112), (2, 1, 2, 1), (350, 153, 258, 112) y (1584, 1232, 1408, 778).

* p < 0,05

TABLA 7

Componentes de varianza^a de la viabilidad huevo-pupa

Condiciones	V _L	V _G	V _{LG}	V _W
Estándar	88,63*	-1,05	15,22	746,55
Alta temperatura	138,58*	23,99*	117,21*	799,61
Alta concentración salina	46,98*	21,43*	138,92*	969,35
Bajo aporte alimenticio	51,58*	155,28*	30,71	1062,63

^a V_L, V_G, V_{LG} y V_W son, respectivamente, varianza entre líneas, entre generaciones, de la interacción línea x generación y dentro de línea y generación. Los grados de libertad respectivos en las distintas condiciones son: (175, 153, 129, 112), (2, 1, 2, 1), (350, 153, 258, 112) y (1584, 1232, 1408, 778).

* p < 0,05

TABLA 8

Componentes de varianza^a de la viabilidad pupa-adulto

Condiciones	V _L	V _G	V _{LG}	V _W
Estándar	33,00*	27,21*	22,87*	226,62
Alta temperatura	44,22*	0,78	45,27*	320,05
Alta concentración salina	-8,30	6,31*	95,49*	506,87
Bajo aporte alimenticio	153,07*	67,15*	18,55	609,40

^a V_L, V_G, V_{LG} y V_W son, respectivamente, varianza entre líneas, entre generaciones, de la interacción línea x generación y dentro de línea y generación. Los grados de libertad respectivos en las distintas condiciones son: (175, 153, 129, 112), (2, 1, 2, 1), (350, 153, 258, 112) y (1416, 944, 1122, 515).

* p < 0,05

TABLA 9

Componentes de covarianza^a entre fecundidad y viabilidad huevo-pupa

Condiciones	cov _L	cov _G	cov _{LG}	cov _W
Estándar	6,48*	0,69*	-4,91	47,73
Alta temperatura	8,55*	30,20*	4,53*	71,62
Alta concentración salina	3,37*	0,19	7,42*	23,17
Bajo aporte alimenticio	1,08*	37,66*	0,69	11,78

^a cov_L, cov_G, cov_{LG} y cov_W son, respectivamente, covarianza entre líneas, entre generaciones, de la interacción línea x generación y dentro de línea y generación. Los grados de libertad respectivos en las distintas condiciones son: (175, 153, 129, 112), (2, 1, 2, 1), (350, 153, 258, 112) y (1584, 1232, 1408, 778).

* p < 0,05

TABLA 10

Componentes de covarianza^a entre fecundidad y viabilidad pupa-adulto

Condiciones	cov _L	cov _G	cov _{LG}	cov _W
Estándar	-1,77*	-11,08*	-0,82*	-10,56
Alta temperatura	0,60	7,79*	9,52*	-10,98
Alta concentración salina	0,39*	5,64*	-0,89*	-3,89
Bajo aporte alimenticio	-16,98*	-25,37*	-0,75	-21,13

^a cov_L, cov_G, cov_{LG} y cov_W son, respectivamente, covarianza entre líneas, entre generaciones, de la interacción línea x generación y dentro de línea y generación. Los grados de libertad respectivos en las distintas condiciones son: (175, 153, 129, 112), (2, 1, 2, 1), (350, 153, 258, 112) y (1416, 944, 1122, 515).

* p < 0,05

TABLA 11

Componentes de covarianza^a entre viabilidad huevo-pupa y viabilidad pupa-adulto

Condiciones	cov_L	cov_G	cov_{LG}	cov_w
Estándar	1,67*	1,83*	3,66	-14,40
Alta temperatura	2,46	4,54*	29,88*	-5,30
Alta concentración salina	-4,32*	-3,69*	-14,27*	21,00
Bajo aporte alimenticio	-12,35*	-96,75*	23,27*	-10,43

^a cov_L, cov_G, cov_{LG} y cov_w son, respectivamente, covarianza entre líneas, entre generaciones, de la interacción línea x generación y dentro de línea y generación. Los grados de libertad respectivos en las distintas condiciones son: (175, 153, 129, 112), (2, 1, 2, 1), (350, 153, 258, 112) y (1416, 944, 1122, 515).

* p < 0,05

Todos los componentes de varianza entre líneas resultaron significativos, a excepción del correspondiente a la viabilidad pupa-adulto en alta concentración salina en que una media de cuadrados de la interacción muy alta dio lugar a una estima de varianza negativa. Esto nos confirma que existen diferencias entre las líneas debido a la fijación de distintas mutaciones en algunas de ellas. La varianza entre generaciones fue generalmente significativa poniendo de manifiesto un efecto, a veces importante, de las circunstancias ambientales específicas de cada generación en la expresión de los caracteres.

El componente entre líneas en los análisis de covarianzas fue significativo, en medio estándar, para las tres parejas de caracteres posibles. La significación se mantuvo en los otros medios con la excepción de la alta temperatura, en que las covarianzas entre fecundidad y los dos componentes de la viabilidad no resultaron ser significativamente distintos de cero.

En los medios extremos los componentes de la interacción línea x generación (varianzas y covarianzas) fueron casi siempre significativos, situación que no se modificó al repetir los análisis con los datos de viabilidad transformados por el arcoseno.

A partir de las varianzas entre líneas se calcularon las estimas de las varianzas de mutación y sus errores típicos que aparecen en las Tablas 12 - 14 junto a las correspondientes heredabilidades de mutación y coeficientes de variación mutacional.

TABLA 12

Estimas de las varianzas (V_m), heredabilidades (h^2_m) y coeficientes de variación mutacionales [$CV(V_m)$] de la fecundidad (\pm error típico).

Condiciones	$V_m \times 10^{-3}$	$h^2_m \times 10^{-4}$	$CV(V_m)$ (%)
Estándar	39,68 \pm 7,73*	8,20 \pm 1,62*	1,17 \pm 0,06*
Alta temperatura	75,30 \pm 14,92*	9,60 \pm 1,94*	1,35 \pm 0,08*
Alta concentración salina	9,26 \pm 2,16*	4,26 \pm 1,01*	1,36 \pm 0,08*
Bajo contenido alimenticio	4,75 \pm 2,18	4,72 \pm 2,18*	1,25 \pm 0,08*

* Estimas de la varianza ambiental (V_w): estándar (48,37), alta temperatura (78,46) alta concentración salina (21,74) y bajo contenido alimenticio (10,05).

* $p < 0,05$.

TABLA 13

Estimas de las varianzas (V_m), heredabilidades (h^2_m) y coeficientes de variación mutacionales [$CV(V_m)$] de la viabilidad huevo-pupa (\pm error típico).

Condiciones	$V_m \times 10^{-3}$	$h^2_m \times 10^{-4}$	$CV(V_m)$ (%)
Estándar	447,63 \pm 88,02*	6,00 \pm 1,20*	0,91 \pm 0,05*
Alta temperatura	449,94 \pm 126,52*	6,19 \pm 1,60*	1,56 \pm 0,09*
Alta concentración salina	158,71 \pm 76,95*	1,64 \pm 0,80*	0,69 \pm 0,04*
Bajo contenido alimenticio	166,40 \pm 99,29*	1,57 \pm 0,94*	0,85 \pm 0,06*

* Estimas de la varianza ambiental (V_w): estándar (746,55), alta temperatura (799,61) alta concentración salina (969,35) y bajo contenido alimenticio (1062,63).

* $p < 0,05$.

TABLA 14

Estimas de las varianzas (V_m), heredabilidades (h^2_m) y coeficientes de variación mutacionales [$CV(V_m)$] de la viabilidad pupa-adulto (\pm error típico).

Condiciones	$V_m \times 10^{-3}$	$h^2_m \times 10^{-4}$	$CV(V_m)$ (%)
Estándar	166,66 \pm 34,72*	7,35 \pm 1,56*	0,54 \pm 0,03*
Alta temperatura	157,96 \pm 50,25*	4,94 \pm 1,59*	0,50 \pm 0,03*
Alta concentración salina	< 0	< 0	< 0
Bajo contenido alimenticio	493,76 \pm 118,51*	8,10 \pm 2,01*	0,96 \pm 0,06*

* Estimas de la varianza ambiental (V_w): estándar (226,62), alta temperatura (320,05) alta concentración salina (506,87) y bajo contenido alimenticio (609,40).

* $p < 0,05$.

El valor de la varianza de mutación de los tres caracteres considerados no se modificó, en general, al realizar el experimento en una temperatura superior, mientras que se redujo considerablemente para todos los caracteres en los restantes medios. La única excepción la constituye la estima de varianza de mutación de la viabilidad huevo-pupa en medio con bajo contenido alimenticio.

Al tipificar las varianzas de mutación observamos que las correspondientes heredabilidades de mutación presentan un comportamiento similar al referido anteriormente, aunque más atenuado. Las estimas (para todos los caracteres y medios) oscilan entre $4,3 \times 10^{-4}$ y $9,6 \times 10^{-4}$ (excepto para viabilidad huevo-pupa en alta concentración salina y bajo contenido alimenticio en que es $1,6 \times 10^{-4}$ en ambos casos).

La homogeneidad es aun mayor si expresamos las varianzas de mutación como coeficientes de variación mutacional, oscilando todas las estimas entre 0,5 y 1,6, de manera que el efecto del cambio de medio prácticamente desaparece. Esto es claro en el caso de fecundidad y solo encontramos discrepancias para viabilidad huevo-pupa en alta temperatura y para viabilidad pupa-adulto en medio diluido (debido a una varianza de mutación mucho mayor).

También se calcularon las covarianzas y correlaciones de mutación para todas las parejas de caracteres posibles que, junto a sus errores típicos o intervalos de confianza, aparecen en las Tablas 15 - 17.

TABLA 15

Estimas de las covarianzas (cov_m) y correlaciones (ρ_m) de mutación entre fecundidad y viabilidad huevo-pupa (\pm error típico o intervalo de confianza).

Condiciones	$cov_m \times 10^{-3}$	ρ_m
Estándar	$32,74 \pm 4,85^*$	0,25 (0,10 , 0,38)*
Alta temperatura	$30,91 \pm 8,33^*$	0,16 (0,00 , 0,31)*
Alta concentración salina	$11,39 \pm 3,40^*$	0,30 (0,13 , 0,45)*
Bajo contenido alimenticio	$3,48 \pm 1,39^*$	0,12 (-0,06 , 0,30)

* Estimas de la varianza ambiental para cada carácter (V_w): estándar ($39,68 \times 10^{-3}$ y $447,63 \times 10^{-3}$), alta temperatura ($75,30 \times 10^{-3}$ y $449,94 \times 10^{-3}$) alta concentración salina ($9,26 \times 10^{-3}$ y $158,71 \times 10^{-3}$) y bajo contenido alimenticio ($4,75 \times 10^{-3}$ y $166,40 \times 10^{-3}$).

* $p < 0,05$.

TABLA 16

Estimas de las covarianzas (cov_m) y correlaciones (ρ_m) de mutación entre fecundidad y viabilidad pupa-adulto (\pm error típico o intervalo de confianza).

Condiciones	$cov_m \times 10^{-3}$	ρ_m
Estándar	$-8,93 \pm 1,69^*$	-0,11 (-0,25 , 0,04)
Alta temperatura	$2,13 \pm 2,15$	0,02 (-0,14 , 0,18)
Alta concentración salina	$1,32 \pm 0,21^*$	-----
Bajo contenido alimenticio	$-54,76 \pm 9,00^*$	-1,13

* Estimas de la varianza ambiental para cada carácter (V_w): estándar ($39,68 \times 10^{-3}$ y $166,66 \times 10^{-3}$), alta temperatura ($75,30 \times 10^{-3}$ y $157,96 \times 10^{-3}$) alta concentración salina ($9,26 \times 10^{-3}$ y no calculada) y bajo contenido alimenticio ($4,75 \times 10^{-3}$ y $439,76 \times 10^{-3}$).

* $p < 0,05$.

TABLA 17

Estimas de las covarianzas (cov_m) y correlaciones (ρ_m) de mutación entre viabilidad huevo-pupa y viabilidad pupa-adulto (\pm error típico o intervalo de confianza).

Condiciones	$\text{cov}_m \times 10^{-3}$	ρ_m
Estándar	8,46 \pm 1,23*	0,03 (-0,12 , 0,18)
Alta temperatura	8,77 \pm 8,99	0,03 (-0,13 , 0,19)
Alta concentración salina	-14,60 \pm 3,19*	-----
Bajo contenido alimenticio	-39,85 \pm 4,44*	-0,14 (-0,32 , 0,05)

* Estimas de la varianza ambiental para cada carácter (V_w): estándar (447,63 $\times 10^{-3}$ y 166,66 $\times 10^{-3}$), alta temperatura (449,94 $\times 10^{-3}$ y 157,96 $\times 10^{-3}$) alta concentración salina (158,71 $\times 10^{-3}$ y no calculada) y bajo contenido alimenticio (166,40 $\times 10^{-3}$ y 439,76 $\times 10^{-3}$).

* $p < 0,05$.

Las correlaciones de mutación entre fecundidad y viabilidad huevo-pupa fueron positivas en todos los medios oscilando las estimas entre 0,16 y 0,30. El resto de correlaciones fue de menor magnitud (entre 0,03 y -0,14) excluyendo el elevado valor de la correlación entre fecundidad y viabilidad pupa-adulto en medio diluido.

Se repitieron para el medio estándar todos los análisis eliminando los datos de las líneas en las que se había detectado efecto significativo para cada carácter. Los resultados no difieren sensiblemente de los obtenidos con todo el conjunto (datos no mostrados).

Se calcularon las correlaciones de mutación para todas las posibles parejas de condiciones de cultivo en los tres caracteres que abarca el estudio. Los resultados aparecen en las Tablas 18 - 20.

TABLA 18

**Correlaciones de mutación entre los diferentes ambientes
considerados para fecundidad**

	AT	ACS	BCA
E	0,2415*	-0,5981*	0,2359*
AT		-0,0649	0,4097*
ACS			-0,1645

* $p < 0,05$

E = Medio estándar

AT = Alta temperatura

ACS = Alta concentración salina

BCA = Bajo contenido alimenticio

TABLA 19

**Correlaciones de mutación entre los diferentes ambientes
considerados para viabilidad huevo-pupa**

	AT	ACS	BCA
E	-0,0995	0,1587	0,1469
AT		0,4020*	0,2326*
ACS			0,8334*

* $p < 0,05$

E = Medio estándar

AT = Alta temperatura

ACS = Alta concentración salina

BCA = Bajo contenido alimenticio

TABLA 20
Correlaciones de mutación entre los diferentes ambientes
considerados para viabilidad pupa-adulto

	AT	ACS	BCA
E	0,1867*	-----	0,4451*
AT		-----	-0,1083
ACS			-----

* $p < 0,05$

E = Medio estándar

AT = Alta temperatura

ACS = Alta concentración salina

BCA = Bajo contenido alimenticio

En general las correlaciones resultan ser positivas y de valor pequeño ($\leq 0,4$) o no significativamente diferentes de cero. Esto nos indica que el efecto de las mutaciones sobre un mismo carácter evaluado en distintos ambientes es considerablemente diferente. Hay dos excepciones en que se obtienen valores altos (estándar - alta concentración de sal para fecundidad y alta concentración de sal - dilución) siendo el primero negativo.

ANÁLISIS DE LAS LÍNEAS EXTREMAS

En las Tablas 21 - 23 se encuentran, para cada carácter, la media de los individuos de la línea (P_1), del control (P_0) y de las correspondientes F_1 recíprocas. Con ellas se calcularon estimas del efecto en homocigosis ($2a$) y en heterocigosis (d) que se muestran en las mismas tablas en unidades de desviaciones típicas ambientales.

TABLA 21

Evaluación contemporánea de las líneas extremas (P₁) , línea control (P₀) y sus correspondientes F₁ recíprocas (escala de medida) y los efectos en homocigosis (a) y heterocigosis (d) de las líneas sobre fecundidad (en desviaciones típicas ambientales)^a

Líneas	P₁	P₀	F₁(padre P₀)	F₁(padre P₁)	a	d
B32	15,16±0,92	16,19±0,80	18,92±1,16	18,38±1,21	-0,07±0,09	0,43±0,15*
B33	8,77±0,73	7,80±0,77	10,30±0,84	10,49±1,08	0,07±0,08	0,30±0,12*
B42	18,36±0,62	12,77±0,76	18,70±1,38	15,78±0,76	0,40±0,07*	0,24±0,13
B52	7,38±0,78	7,80±0,77	3,34±0,47	4,79±0,85	-0,03±0,08	-0,50±0,11*
B78	26,00±0,82	12,77±0,76	14,70±1,14	22,18±1,36	0,95±0,08*	
B86	30,99±1,06	14,12±0,73	12,16±0,73	14,31±0,95	1,21±0,09*	-1,34±0,13*
C6	24,46±1,03	25,17±0,82	21,77±1,11	21,94±1,34	-0,05±0,09	-0,42±0,16*
C10	23,82±0,96	14,12±0,73	9,39±0,67	8,60±0,73	0,70±0,09*	-1,43±0,11*
C47	17,83±0,88	15,96±0,83	18,69±1,27	20,92±1,05	0,13±0,09	0,42±0,15*
C50	9,40±0,67	13,20±0,82	13,60±0,87	12,71±0,92	-0,27±0,08*	0,27±0,12*
C52	21,76±0,77	16,19±0,80	16,45±1,16	18,49±1,23	0,40±0,08*	-0,22±0,15
C59	19,59±0,96	25,17±0,82	15,34±0,94	18,02±1,16	-0,40±0,09*	-0,82±0,14*
C60	15,61±0,80	15,96±0,83	16,45±1,16	16,08±1,00	-0,02±0,08	0,07±0,14
C70	25,33±1,17	13,20±0,82	26,57±1,37	15,92±1,57	0,87±0,10*	

^a Estima de la desviación típica ambiental: 6,95.

* P < 0,05, con el test secuencial de Bonferroni.

TABLA 22

Evaluación contemporánea de las líneas extremas (P₁), línea control (P₀) y sus correspondientes F₁ recíprocas (escala de medida) y los efectos en homocigosis (a) y heterocigosis (d) de las líneas sobre viabilidad huevo-pupa (en desviaciones típicas ambientales)^a

Líneas	P₁	P₀	F₁(padre P₀)	F₁(padre P₁)	a	d
B32	23,55±3,14	85,74±2,72	76,92±4,13	30,33±4,99	-1,14±0,08*	
B33	39,38±3,83	69,55±3,96	75,18±4,97	29,91±5,25	-0,55±0,10*	
B42	84,32±2,33	77,20±3,07	78,84±4,00	74,33±4,30	0,13±0,07	-0,15±0,13
B52	44,82±3,65	69,55±3,96	73,85±5,31	34,74±4,78	-0,45±0,10*	
B78	84,14±1,78	77,20±3,07	77,13±3,62	80,48±3,81	0,13±0,06	-0,07±0,12
B86	86,54±2,19	86,97±1,96	84,60±2,81	83,64±4,06	-0,01±0,05	-0,09±0,10
C6	78,65±3,55	89,84±1,88	88,41±2,88	80,48±4,24	-0,20±0,07	0,24±0,12
C10	83,16±2,43	86,97±1,96	90,94±2,00	78,65±4,79	-0,07±0,06	-0,01±0,20
C47	73,01±2,41	84,28±2,16	78,27±3,94	74,21±5,52	-0,21±0,06*	-0,08±0,14
C50	82,60±2,96	80,54±3,00	82,52±3,50	81,03±4,03	0,04±0,08	0,07±0,13
C52	87,91±2,01	85,74±2,72	88,83±2,95	85,17±3,66	0,04±0,06	0,01±0,11
C59	56,25±3,78	89,84±1,88	85,97±2,83	60,71±5,33	-0,61±0,08*	
C60	79,53±3,10	84,28±2,16	82,68±4,12	82,79±3,75	-0,09±0,07	0,03±0,12
C70	83,53±2,55	80,54±3,00	84,68±3,19	77,64±4,27	0,05±0,07	-0,04±0,12

^a Estima de la desviación típica ambiental: 27,32.

* P < 0,05, con el test secuencial de Bonferroni (datos transformados por arcoseno).

TABLA 23

Evaluación contemporánea de las líneas extremas (P₁), línea control (P₀) y sus correspondientes F₁ recíprocas (escala de medida) y los efectos en homocigosis (a) y heterocigosis (d) de las líneas sobre viabilidad pupa-adulto (en desviaciones típicas ambientales)^a

Líneas	P ₁	P ₀	F ₁ (padre P ₀)	F ₁ (padre P ₁)	a	d
B32	79,39±3,17	84,11±1,47	80,06±2,16	84,87±3,17	-0,16±0,12	0,02±0,17
B33	87,92±2,56	93,46±1,70	92,67±2,71	93,54±3,21	-0,18±0,10	0,15±0,17
B42	76,70±1,66	91,53±1,17	81,14±1,75	83,03±2,02	-0,49±0,07*	-0,14±0,11
B52	89,51±2,12	93,46±1,70	86,52±2,92	95,64±2,01	-0,13±0,09	
B78	74,04±1,59	91,53±1,17	88,04±1,45	89,85±1,34	-0,58±0,07*	0,41±0,09
B86	79,06±1,40	88,71±1,19	82,43±2,21	80,42±1,48	-0,29±0,06*	-0,19±0,11
C6	77,34±1,83	86,80±1,17	83,79±1,67	83,10±1,42	-0,31±0,07	0,92±0,10
C10	85,32±1,18	88,71±1,19	79,40±1,97	84,47±1,71	-0,11±0,05	-0,35±0,11*
C47	60,53±2,02	82,49±1,37	72,84±2,96	75,74±2,17	-0,73±0,08*	0,17±0,15
C50	86,63±1,61	89,20±1,26	88,79±2,43	89,47±1,39	-0,08±0,07	0,08±0,11
C52	83,28±1,53	84,11±1,47	83,43±1,87	83,98±1,83	-0,03±0,07	0,00±0,11
C59	86,43±2,04	86,80±1,17	83,22±1,57	88,51±2,75	-0,01±0,08	-0,07±0,13
C60	83,29±1,86	82,49±1,37	80,50±2,23	76,95±2,67	0,03±0,08	-0,28±0,14
C70	69,88±1,43	89,20±1,26	91,03±1,26	85,97±1,33	-0,64±0,06*	

^a Estima de la desviación típica ambiental: 15,05.

* P < 0,05, con el test secuencial de Bonferroni (datos transformados por arcoseno).

Los valores de α significativos fueron mayoritariamente positivos para fecundidad y siempre negativos para ambas viabilidades. Esto concuerda con el signo de la asimetría de las correspondientes distribuciones de medias (Tablas 3 - 5).

Para el cálculo de d se utilizó el valor promedio de las dos F_1 recíprocas cuando éstas no diferían significativamente entre sí. Esto fue lo habitual en líneas con un valor de α significativo para fecundidad o viabilidad pupa-adulto y para todos los caracteres cuando α no fue significativo. Pero en algunos casos, especialmente para viabilidad huevo-pupa, las medias de las F_1 recíprocas diferían siendo cada una de ellas similar a la de la línea de la que procedía el macho parental. En estas condiciones d no se calculó porque su valor dependía del tipo de información utilizada (una de las F_1 recíprocas o la media de ambas). No se observó en las líneas estudiadas desviación del cociente sexual 1:1 que pudiera indicar la presencia de mutaciones ligadas al cromosoma Y (Toro y Sánchez, sin publicar).

Los efectos en heterocigosis para las dos viabilidades nunca fueron significativos, pero hay que tener en cuenta que los correspondientes a líneas con efecto en homocigosis significativo para viabilidad huevo-pupa no pudieron ser calculados por lo expuesto anteriormente. Por otro lado los efectos en heterocigosis para fecundidad fueron generalmente significativos incluso cuando el valor de α no lo era. En la mitad de los casos la media del heterocigoto estaba fuera del rango que delimitan las de la línea y el control. No se encontraron indicios de dominancia direccional para carácter alguno.

Se detectó un efecto en homocigosis significativo para un sólo carácter en seis de las líneas y para dos caracteres en otras seis, normalmente fecundidad y viabilidad pupa-adulto. En experimentos anteriores se habían caracterizado las líneas B52, B78, C10 y C59 como

portadoras de mutaciones que afectan a caracteres morfológicos (Santiago y col. 1992; López y López-Fanjul 1993). Así la línea C59 lleva una mutación deletérea de un efecto muy grande sobre el número de quetas abdominales (5σ) y quetas esternopleurales ($1,4\sigma$); también tiene efectos menores sobre longitud y anchura de ala ($0,3\sigma$). El resto de las líneas portan mutaciones con efectos pequeños ($0,2 - 0,4\sigma$) sobre el número de quetas abdominales (B52 y C10) o sobre el de quetas esternopleurales y la longitud de ala (B78).

DISCUSIÓN

HEREDABILIDADES DE MUTACIÓN

La varianza de mutación es función de la tasa de mutación, el número de loci que influyen en el carácter, la varianza de los efectos de mutación sobre el carácter y la eficacia biológica y el grado de dominancia de las mutaciones. Su cálculo se llevó a cabo para el caso de un modelo infinitesimal con muchos genes neutros y de efecto aditivo aunque, en la práctica, ninguna de estas suposiciones se cumple.

La probabilidad de fijación de mutaciones neutras en líneas endógamas es independiente de la magnitud de su efecto y de su tipo de acción génica. En el caso de mutaciones no neutras la importancia de la selección frente a la deriva se reduce según lo hace el censo efectivo de la población. Aunque éste es mínimo en nuestro caso, la probabilidad de fijación de mutaciones deletéreas se verá reducida y las letales serán eliminadas. Keightley y col. (1993) estudiaron las implicaciones en la estima de la varianza de mutación que conlleva el incumplimiento del modelo infinitesimal neutro. A partir de datos de mutaciones inducidas por elementos P que afectan al número de quetas en *Drosophila* (Mackay y col. 1992a) llegaron a la conclusión de que las heredabilidades de mutación basadas en el modelo infinitesimal estaban infraestimadas en un factor que oscilaba alrededor de tres, aunque el sesgo depende del diseño experimental (siendo el de subdivisión en líneas con apareamiento entre hermanos el menos sesgado) y, sobre todo, de la existencia de mutaciones deletéreas que tengan efecto sobre el carácter. Así las estimas para componentes de eficacia biológica estarán más sesgadas que las correspondientes a caracteres periféricos.

Con el mismo conjunto de líneas utilizado en este experimento se han realizado estudios de acumulación de mutaciones que afectan a diversos caracteres morfológicos evaluados en medio estándar (número de quetas abdominales y esternopleurales, longitud y anchura del ala; Santiago y col. 1992; López y López-Fanjul 1993). Las estimas de heredabilidad de mutación y coeficiente de variación mutacional que se obtuvieron en cada caso aparecen en la Tabla 24.

TABLA 24
Heredabilidades de mutación (h_m^2) y coeficientes de variación mutacional [$CV(V_m)$] de caracteres morfológicos^a

Carácter	$h_m^2 \times 10^{-3}$	$CV(V_m) \times 10^{-3}$
Número de quetas abdominales^b	0,8 - 12,3	1,0 - 7,0
Número de quetas esternopleurales^b	0,7 - 3,3	1,6 - 4,9
Longitud de ala^c	2,6 - 2,7	1,0 - 1,4
Anchura de ala^c	1,3 - 1,5	0,8 - 1,3

^a Todos los valores son significativamente diferentes de cero ($p < 0,05$).

^b Estimaciones revisadas de López y López-Fanjul (1993).

^c Santiago y col. (1992).

Aun excluyendo una estima anormalmente alta para el número de quetas abdominales ($12,3 \times 10^{-3}$) las heredabilidades de mutación de caracteres morfológicos oscilan en un rango $(0,7 - 3,3) \times 10^{-3}$ superior al de los componentes de eficacia obtenidas en este trabajo también en medio estándar $[(0,6 - 0,8) \times 10^{-3}]$.

De lo expuesto al principio de la discusión se desprende que la mayor magnitud de las heredabilidades de mutación de caracteres morfológicos (Tabla 24) debe ser sólo aparente y que las verdaderas heredabilidades de mutación de caracteres ligados a eficacia deben ser iguales o mayores que las de caracteres semineutros. El hecho de que los coeficientes de variación mutacional para caracteres morfológicos sean menores debe ser consecuencia del material experimental utilizado. La consanguinidad que se ha forzado en el mismo produce depresión consanguínea siendo mayor la reducción de la media en los componentes de eficacia que mostrarán coeficientes de variación. Sin embargo la consanguinidad provoca mayor ruido de desarrollo en los caracteres ligados a eficacia biológica con lo que la varianza ambiental de los mismos será mayor y, por tanto, menores sus heredabilidades de mutación.

Mukai y colaboradores y Ohnishi (referencias en Lynch 1988 y Houle y col. 1992) estudiaron la acumulación de mutaciones que afectaban la viabilidad huevo-adulto en cromosomas II de *Drosophila melanogaster* protegidos de la acción selectiva natural mediante una inversión en el cromosoma homólogo. Sus estimas de varianza de mutación, referidas a la totalidad del genomio, se encuentran en el rango 0,5 - 1 (en porcentaje) y, aunque los errores típicos no pudieron calcularse, son superiores a las que se obtuvieron en este experimento en cualquier medio (0,17 - 0,45 para viabilidad huevo-pupa y 0,16 - 0,50 para viabilidad pupa-adulto). Estas diferencias no son extrañas ya que en el primer caso las mutaciones se acumulaban prácticamente en ausencia de selección natural (sólo se eliminan las mutaciones letales dominantes) mientras que en nuestro caso la selección natural eliminará muchas más mutaciones. También se puede suponer que el número de loci implicados en la determinación de la viabilidad huevo-adulto será mayor que el

correspondiente a cualquiera de las viabilidades parciales y, por tanto, mayor será a su vez el número de lugares en los que las mutaciones pueden ocurrir. Con todo las estimas de heredabilidad de mutación que Lynch calcula con los datos de Mukai y Ohnishi oscilan en el rango $(1 - 6) \times 10^{-5}$, uno o dos órdenes de magnitud por debajo de las nuestras. Es evidente, por tanto, que la varianza ambiental de los experimentos anteriores debe ser muy grande (alrededor de 10 veces la varianza ambiental que nosotros encontramos).

Houle y col. (1994) realizaron un experimento similar a los de Mukai y col. y Ohnishi, permitiendo la acumulación de mutaciones en cromosomas II de *Drosophila melanogaster* y midiendo posteriormente su efecto sobre diversos componentes de eficacia biológica (fecundidad temprana y tardía, longevidad en machos y hembras, eficacia en el apareamiento temprana y tardía y producción de pupas). A partir de las varianzas entre líneas estimaron las varianzas de mutación que en el caso de fecundidad temprana, único carácter coincidente, fue 1,2, superior a la que nosotros observamos (0,4). La diferencia podría deberse a las mismas causas que invocamos al referirnos a los datos de Mukai y col, esto es, mutaciones con efectos deletéreos grandes que contribuirán a las estimas de varianza de mutación en el experimento de Houle y col. pero no en el nuestro. También fue superior la estima de heredabilidad de mutación ($1,8 \times 10^{-3}$ frente a $0,8 \times 10^{-3}$) lo cual implica que la varianza ambiental en el experimento de Houle y col era aproximadamente tres veces mayor que en el presente trabajo.

CORRELACIONES DE MUTACIÓN

Las estimas de la covarianza de mutación obtenidas en experimentos como el nuestro deben estar también sesgadas por el efecto de la selección sobre las mutaciones

deletéreas que se señalaba en el apartado anterior. Además la selección actuará con mayor fuerza en contra de mutaciones con efectos deletéreos sobre dos caracteres que cuando aquellas muestren pleyotropía antagónica o sólo tengan efecto sobre uno. De esta manera las covarianzas de mutación estimadas serán menores que las reales y además tenderán a ser negativas.

Se acepta comúnmente que para eficacia biológica la mayoría de las mutaciones son deletéreas. Sin embargo su efecto sobre los diferentes componentes de la propia eficacia no está determinado. Parece claro que hay ciertas mutaciones de efecto grande que son incondicionalmente deletéreas para todos los caracteres ligados a eficacia pero los efectos de aquéllas que los tienen menores no serán necesariamente negativos. La repercusión de esta última clase de mutaciones sobre la estima de la correlación de mutación puede quedar enmascarada por la contribución de las mutaciones de gran efecto resultando en un valor global positivo y grande. Como ya se comentó anteriormente la selección natural eliminará en nuestras líneas buena parte de las mutaciones con efecto perjudicial sobre el carácter lo que nos permite, aunque sea de manera global, el estudio de las relaciones pleyotrópicas correspondientes a aquellas mutaciones que no son, a priori, incondicionalmente deletéreas. Las correlaciones que encontramos entre todas las parejas posibles de caracteres y en todos los medios son pequeñas (-0,14 - 0,30), aunque significativamente diferentes de cero puesto que los correspondientes componentes entre líneas de las covarianzas lo son y, por tanto, también lo serán las covarianzas de mutación.

Houle y col. (1994) estudiaron las correlaciones genéticas entre parejas de caracteres que incluían cinco componentes de eficacia (fecundidad temprana y tardía,

longevidad en machos y hembras y productividad de pupas) y una medida de la propia eficacia, encontrando que todas las correlaciones eran positivas y muy grandes. Hay que tener en cuenta que una inversión en un cromosoma permite la acumulación de mutaciones en su homólogo en ausencia práctica de selección. De esa manera se acumularán mutaciones de efecto grande e incondicionalmente deletéreo, mutaciones de efecto mediano y aquellas con pleyotropía antagónica. Las mutaciones del primer grupo tendrán una influencia desproporcionada en la magnitud y signo de las covarianzas de mutación que Houle y col. estiman. En líneas consanguíneas como las nuestras la probabilidad de fijación de mutaciones altamente deletéreas es muy baja y el comportamiento observado será debido a mutaciones de menor efecto, responsables principales de la supervivencia o extinción de las poblaciones (Lande 1995). De esta manera los experimentos basados en la acumulación de mutaciones frente a inversiones darían un mejor acercamiento a la distribución original de efectos de mutación, mientras que los estudios con líneas consanguíneas tendrían una mayor relación con la varianza genética encontrada en poblaciones naturales una vez que la selección natural ha podido actuar.

La misma argumentación podría explicar las discrepancias que Simmons y col. (1980) encontraron al estudiar la correlación genética entre fecundidad y viabilidad huevo-adulto. Si el cálculo refería a nueva mutación las estimas eran positivas, pero el signo cambiaba al tratarse de poblaciones naturales en equilibrio en las que la selección habrá tenido tiempo de actuar eliminando las mutaciones con efecto perjudicial grande. Aunque referido a una población natural Hiraizumi (1961) observó el mismo fenómeno cuando estimó correlaciones negativas entre fecundidad y tiempo de desarrollo. Sin embargo esta correlación cambiaba de signo cuando se calculaba a partir de datos de individuos que

mostraban valores bajos para ambos caracteres, como cabría esperar suponiendo que éstos fueran portadores de mutaciones incondicionalmente deletéreas de efecto grande. De cualquier manera las estimas de correlaciones genéticas entre caracteres ligados a eficacia biológica que recopilan Roff y Mousseau (1987) en *Drosophila melanogaster* son muy heterogéneas en signo y magnitud cubriendo todo el rango de definición.

Aunque no conocemos estimas de la correlación genética en poblaciones naturales para los caracteres que hemos estudiado, hay evidencias indirectas que sugieren una pequeña correlación positiva entre fecundidad y viabilidad huevo-pupa (García y col. 1994) que concuerda con los resultados obtenidos en este experimento.

MEDIOS EXTREMOS

La primera consideración que debemos hacer antes de estudiar los datos obtenidos en los medios extremos es hasta que punto las condiciones de cultivo son restrictivas para el correcto desarrollo de las líneas de *Drosophila melanogaster* utilizadas. La simple observación de las medias de los caracteres en dichos ambientes nos da idea de la desventaja de los mismos, con disminución pronunciada de la viabilidad huevo-pupa en los tres medios y de la fecundidad en dos de ellos. El ascenso de la fecundidad en elevada temperatura es un hecho habitualmente observado (David y Clavel 1969) con un máximo justo en los 28° C. Pero la fecundidad sufre un brusco descenso si esa temperatura se sobrepasa, por lo que no parecía probable que pudiésemos mantener las líneas a valores superiores. De cualquier manera se realizaron pruebas a 29° C y 30° C en las que un alto porcentaje de parejas no tuvo descendencia (> 50%) o tenían un número pequeño de hijos, insuficiente para realizar el análisis y mantener a la vez las líneas. En el caso de alta concentración salina se realizaron pruebas con un medio que contenía 25 g de sal por litro (además del medio finalmente

usado de 20 g de sal por litro) en el que se obtuvo progenie en sólo un 20% de las familias. Por último se llevaron a cabo pruebas con dos medios diluidos: uno que contenía 20 g de azúcar, 8 g de levadura y 8 g de agar-agar por litro, en el que prácticamente no emergieron moscas, y el que finalmente se usó en el experimento. La constancia en la media de la viabilidad pupa-adulto en los diferentes medios parece indicar que la presión de los medios extremos se ejerce fundamentalmente en estadio de larva. Esto parece lógico ya que la característica de dos de los medios estudiados es en una modificación de la composición de la papilla en la que se desarrollan las larvas y del otro es un ascenso de la temperatura que afecta críticamente a las propiedades de dicha papilla. Una vez que se alcanza el estado de pupa, en el que no hay una dependencia directa del medio alimenticio, la probabilidad de emergencia es aproximadamente igual en los medios extremos que en el estándar.

La idea de que el deterioro del ambiente en el que se desarrollan las moscas hace que el efecto de las mutaciones perjudiciales sea mayor y, por tanto, también mayor la varianza de mutación de los componentes de eficacia no parece ser cierta con respecto a las mutaciones fijadas en las líneas consanguíneas con efecto sobre estos caracteres. Salvo en el caso de fecundidad en el medio de alta temperatura y de viabilidad pupa-adulto en el medio diluido, todas las estimas de varianza de mutación en medios extremos son comparables o claramente inferiores a sus correspondientes valores en medio estándar. Como se ha subrayado anteriormente las mutaciones perjudiciales de gran efecto tendrán una probabilidad de fijación muy baja en nuestro experimento y, por tanto, nuestras conclusiones se refieren fundamentalmente a otro tipo de mutaciones, las que tienen efectos perjudiciales menores y las que muestran pleyotropía antagónica. Esto no descarta, sin embargo, que la primera clase de mutaciones (de efecto grande) se comporte como se sugería al principio. Las correlaciones de mutación correspondientes a un mismo carácter

evaluado en diferentes medios fueron en general pequeñas, poniendo de manifiesto una importante interacción genotipo - medio, de manera que el efecto de una mutación de las fijadas en nuestras líneas en dos ambientes diferentes no tiene relación estrecha. La dependencia del efecto de un determinado genotipo en el ambiente debe ser muy sensible ya que, para los mismos medio y carácter, hemos detectado en muchos casos una componente de la varianza de la interacción línea x generación significativa, indicativa de diferencias en la expresión de las mutaciones debidas a diferencias ambientales incontrolables entre una generación y otra. Esta circunstancia también afecta a los datos de Houle y col. (1994) ya que obtuvieron valores significativos del componente de la interacción línea x bloque aun dentro de la misma generación.

La expresión diferencial del mismo genotipo en distintos ambientes es una constante experimental (Gupta y Lewontin 1982, Suzuki y col. 1976, Tachida y Mukai 1985, Takano y col. 1987). Incluso se han propuesto modelos teóricos para explicar el mantenimiento de la variabilidad genética que implican interacciones genotipo-ambiente en medios variables (Mackay 1981, Gillespie y Turelli 1989).

ANÁLISIS DE LAS LÍNEAS EXTREMAS

Los resultados del presente trabajo sugieren una asimetría positiva de la distribución de los efectos de las mutaciones sobre fecundidad y negativa para las dos viabilidades consideradas. En *Drosophila melanogaster* se han encontrado distribuciones negativamente asimétricas de la viabilidad huevo-adulto tanto en el análisis de cromosomas III tomados de una población natural (Mackay 1985) como en el de cromosomas II en los que se permitió la acumulación de mutaciones (revisión de Mukai 1985). Houle y col. (1992) también

encuentran una distribución con asimetría negativa de la propia eficacia biológica en cromosomas II de *Drosophila melanogaster*. No conocemos la existencia de datos comparables en el caso de fecundidad. El patrón de asimetrías se mantuvo cuando las pruebas se realizaron en ambientes desfavorables.

Podría pensarse que las asimetrías observadas de las distribuciones de los efectos de las mutaciones fueran un artefacto consecuencia de la existencia de mutaciones de efecto grande. Sin embargo ésto no debe ser aplicable a nuestros datos porque eliminando del análisis las líneas extremas las asimetrías seguían, en general, manteniendo el signo.

El diseño experimental seguido podría introducir covarianzas ambientales debido a que, en cada línea, todos los caracteres se evaluaron en individuos nacidos y desarrollados en el mismo tubo. Esta circunstancia se tuvo en cuenta realizando las mediciones en más de una generación, con lo que el efecto de tubo queda englobado en el componente de la varianza de la interacción línea x generación y no afecta al componente de varianza entre líneas, del cuál se obtiene la varianza de mutación. Otro problema inherente al diseño experimental es que el mantenimiento de las líneas se realiza sin control de la densidad larvaria. En aquellos tubos en que la viabilidad huevo-pupa sea más baja la densidad larvaria será menor y los individuos resultantes tendrán mayor tamaño tendiendo, por ello, a poner más huevos. De esta manera podría establecerse una correlación negativa entre viabilidad huevo-pupa y fecundidad que podría traducirse en asimetría positiva de la distribución de la fecundidad de las líneas sin que ello fuera reflejo de la existencia de mutaciones con efecto positivo sobre fecundidad. Este argumento aceptaría la existencia de mutaciones de efecto

negativo sobre viabilidad y atribuiría la detección de efectos positivos sobre fecundidad a un artefacto experimental.

Prout y McChesney (1985) estudiaron el efecto de la competición en estado larvario sobre la fecundidad en *Drosophila melanogaster*. La conclusión que extrajeron es que se encontraría una correlación negativa entre viabilidad huevo-pupa y fecundidad por las razones que se exponen más arriba. Sin embargo este efecto sólo se observó cuando la densidad era elevada (más de 150 huevos por 15 ml de medio de cultivo). Todas nuestras líneas están por debajo de ese nivel, incluso la línea B86 que tiene la mayor puesta (124 huevos en 4 días). Es por esto que descartamos que esta circunstancia altere de forma importante nuestros resultados. Esta idea se vio reforzada al observar que en ninguna de las seis líneas con efecto positivo sobre fecundidad se detectaron efectos significativos sobre viabilidad huevo-pupa. Cuatro de ellas tienen efecto sobre viabilidad pupa-adulto pero la competencia no puede ser la causa de su elevada fecundidad ya que ésta no actúa a nivel de pupa. También hay que señalar que la correlación de mutación entre fecundidad y viabilidad huevo-pupa fue significativamente positiva, incluso en condiciones extremas donde el efecto de la competición podría ser más importante.

Nuestro diseño experimental garantiza que cualquier desviación permanente de la media de una línea con respecto a la del control se deberá a la fijación de mutaciones que afectan al carácter de interés. Ya que han pasado un número elevado de generaciones desde que se fundaron las líneas, es muy probable que en cada una de ellas haya más de una mutación fijada con efecto sobre un mismo carácter. Por ello los efectos en homocigosis y heterocigosis estimados en líneas extremas no se puedan equiparar a los efectos aditivos y

dominantes de una mutación única. Sin embargo de los datos puede extraerse información individual sobre estas mutaciones de la forma que veremos a continuación.

En primer lugar hemos detectado efectos en homocigosis positivos y negativos para fecundidad lo que indica que existen mutaciones que afectan al carácter en los dos sentidos. En el caso de las viabilidades los efectos en homocigosis son siempre negativos y, por esta razón, no podemos asegurar la existencia de mutaciones con efecto positivo (aunque tampoco descartarla). Sin embargo hay datos (García y col. 1994) que prueban la existencia de alelos de efecto favorable sobre viabilidad huevo-pupa segregando en una población natural de *Drosophila melanogaster*.

En segundo lugar la aparición de efectos en heterocigosis dominantes o recesivos es síntoma de la fijación de al menos una mutación con el mismo tipo de acción (aunque alguna combinación de mutaciones pueda simular el mismo efecto global y no podamos precisar el número de mutaciones que intervienen; Tabla 25). Esto es cierto siempre que los efectos de las mutaciones sobre un mismo carácter sean independientes, esto es, que no existan epistasias. Se han descrito efectos sinérgicos para viabilidad (Mukai 1969; Simmons y Crow 1977) aunque de escasa importancia. Cuando el efecto en heterocigosis es aditivo tenemos la misma situación que en el caso de dominancia o recesividad ya que alguna combinación de mutaciones de acción no aditiva pueden resultar en un efecto aditivo global. No obstante, en poblaciones naturales de *Drosophila melanogaster* se han conseguido respuestas positivas a la selección artificial para aumento de la puesta temprana (Rose 1984) y de la viabilidad huevo-pupa (García y col. 1994) en pocas generaciones, lo que implica la existencia de alelos con efecto aditivo para el carácter segregando en la población base. En

este orden de cosas Mukai (1985) muestra como la varianza aditiva de la viabilidad mantenida en poblaciones naturales es mucho mayor que la varianza dominante.

En tercer lugar aparecen efectos en heterocigosis para fecundidad de distinto signo. Esto indica que los efectos dominantes de cada mutación también deben serlo, aunque no es posible determinar el grado de dominancia direccional. Para viabilidad huevo-pupa no se pudieron calcular efectos en heterocigosis debido a que las medias de los cruzamientos F_1 recíprocos diferían según la procedencia de los padres. Podría pensarse que esta situación se debe a un fenómeno de "imprinting" pero, hasta ahora, en *Drosophila* sólo se ha encontrado este comportamiento en genes homeóticos implicados en el desarrollo embrionario (Kuhn y Packert 1988; Paro 1990; Pelegri y Lehmann 1994). Una posible explicación sería la aparición de mutaciones que afectasen a algún estadio de la espermatogénesis, como las descritas por Castrillón y col. (1993) al inducir la transposición de elementos P. Nuestra población fue clasificada como Q o M' para el sistema P-M de disgénesis híbrida y, por tanto, no sería muy probable la aparición de una de esas mutaciones. El efecto negativo sobre viabilidad huevo-pupa de estos mutantes sería únicamente consecuencia de incluir huevos no fecundados en el conteo de la puesta. Recientemente (Yasuda y col. 1995) han caracterizado la mutación *ms(3)K81*¹ y otras cinco más en el locus K81 que hacen que los machos homocigotos para la mutación produzcan espermatozoides viables que fecundan el óvulo pero que aborta el desarrollo embrionario a nivel de la primera división del cigoto o justo antes de eclosionar el huevo. De esta manera la viabilidad huevo-pupa de la progenie dependerá del genotipo del macho y será independiente del de la madre, como ocurre en nuestro experimento. Se ha comprobado que

los mutantes en dicho locus no parecen tener otra manifestación fenotípica que la ya descrita.

Por último no se observaron para viabilidad efectos en heterocigosis mayores en valor absoluto que sus correspondientes efectos en homocigosis. Sin embargo esta situación fue muy frecuente para fecundidad (siete casos de doce). En la Tabla 25 se examinan los efectos conjuntos de dos mutaciones con efectos en homocigosis *2a* y *2b* sobre el mismo carácter, dependiendo del tipo de acción génica de cada una y el signo de su efecto. Se indica la acción génica aparente que observaríamos al evaluar una línea portadora de las dos mutaciones, un control libre de ellas y la F_1 de ambos. Podemos comprobar cómo la fijación en la misma línea de dos mutaciones de signo contrario y con acciones génicas diferentes puede resultar en sobredominancia aparente. Por esta razón no sería raro que las sobredominancias observadas para fecundidad se debieran al efecto conjunto de dos o más mutaciones puesto que es precisamente en este carácter donde se ha podido establecer la existencia de mutaciones con efectos positivos y negativos. Alguno de los casos en los que no hay efecto significativo en homocigosis podría atribuirse a que los efectos de las mutaciones fijadas tenderían a anularse.

Aunque los efectos pleiotrópicos no pueden estudiarse con rigor en nuestros datos, ya que varias mutaciones que afectan a diferentes caracteres pueden estar fijadas en la misma línea, sin embargo también se pueden extraer algunas conclusiones.

Los casos en que detectamos efecto significativo en homocigosis para dos caracteres en la misma línea fueron casi siempre positivos para fecundidad y negativos para viabilidad pupa-adulto. Esto concuerda con las estimas de la covarianza de mutación que es

generalmente negativa para estos dos caracteres. Para fecundidad y viabilidad huevo-pupa o para ambas viabilidades solo hubo una línea con efecto sobre dos caracteres, siendo negativo en ambos casos. Todas estas consideraciones se pueden hacer extensivas al conjunto de mutaciones fijadas en el experimento (no sólo a las analizadas individualmente), ya que los signos de las correlaciones de mutación no varían cuando eliminamos del análisis las líneas con efectos extremos.

TABLA 25

**Efecto combinado en una misma línea de dos mutaciones de efecto en homocigosis
(2a) a y b respectivamente que afectan al mismo carácter**

Acción	Resultado	Doble mutante	F ₁	Control
Dos mutaciones aditivas		AABB	AaBb	aabb
++	Aditivo	a+b	0	-(a+b)
+-	Aditivo o sin efecto (a = b)	a-b	0	-(a-b)
Dos mutaciones dominantes				
++	Dominante	a+b	a+b	-(a+b)
+-	Dominante o sin efecto (a = b)	a-b	a-b	-(a-b)
Dos mutaciones recesivas				
++	Recesivo	a+b	-(a+b)	-(a+b)
+-	Recesivo o sin efecto	a-b	-(a-b)	-(a-b)
Una aditiva y otra dominante				
++	Dominante incompleto	a+b	b	-(a+b)
+-	a < 2b Sobredominante			
	a = 2b Recesivo	a-b	-b	-(a-b)
	a > 2b Recesivo incompleto			
Una aditiva y otra recesiva				
++	Recesivo incompleto	a+b	-b	-(a+b)
+-	a > 2b Sobredominante			
	a = 2b Dominante	a-b	b	-(a-b)
	a > 2b Dominante incompleto			
Una dominante y otra recesiva				
++	a < b Recesivo incompleto			
	a = b Aditivo	a+b	a-b	-(a+b)
	a > b Dominante incompleto			
+-	Sobredominante	a-b	a+b	-(a-b)

++ Mutaciones en el mismo sentido +- Mutaciones en sentido opuesto

RESUMEN

A partir de la misma población de *Drosophila melanogaster*, isogénica para todos los cromosomas, se derivaron un conjunto de líneas independientes que se mantuvieron por apareamientos hermano x hermana durante más de 100 generaciones. Se evaluaron contemporáneamente tres caracteres ligados a eficacia biológica (fecundidad, viabilidad huevo-pupa y viabilidad pupa-adulto) en cuatro o cinco individuos de cada una de 113 - 176 líneas durante 2 - 3 generaciones sucesivas, tanto en las condiciones de cultivo estándar como en otros tres ambientes restrictivos (alta temperatura, alta concentración salina y bajo contenido alimenticio).

Se calcularon las varianzas y heredabilidades de mutación de cada carácter, así como las covarianzas de mutación y correlaciones genéticas de todas las parejas posibles de caracteres, en los cuatro ambientes considerados a partir de las respectivas varianzas y covarianzas entre líneas. Las estimas de la heredabilidad de mutación oscilaron entre $(1,57 - 9,60) \times 10^{-4}$ y las de la correlación de mutación entre $-0,14$ y $0,30$ (exceptuando un valor muy elevado entre fecundidad y viabilidad pupa-adulto en medio diluido). Estos valores deben ser infraestimados porque la selección natural habrá eliminado de nuestras líneas buena parte de las mutaciones deletéreas que hayan ido surgiendo, en especial las de efecto grande e incondicionalmente perjudicial sobre varios caracteres.

Todos los datos sugieren que, respecto del tipo de mutaciones que se han acumulado en las líneas, existe una pequeña correlación positiva entre fecundidad y

viabilidad huevo-pupa. Menores aun parecen las correlaciones entre fecundidad y viabilidad pupa-adulto y entre ambas viabilidades, siendo negativa en este último caso.

Las varianzas y covarianzas de mutación no sufrieron cambios apreciables al disminuir la calidad del medio lo que debe indicar que las mutaciones deletéreas que no han sido eliminadas por la selección natural en nuestras líneas no tienden a acentuar su efecto en ambientes desfavorables. Por otra parte las correlaciones de mutación correspondientes a un mismo carácter evaluado en diferentes medios fueron en general pequeñas, lo que indica que las mutaciones implicadas tienen efectos considerablemente distintos en los medios estudiados.

Las distribuciones de las desviaciones medias de las líneas fueron generalmente asimétricas: positivas para fecundidad y negativas para ambas viabilidades (el signo de la asimetría se mantuvo en los distintos medios considerados).

Sólo en las condiciones estándar se estudiaron con detalle las líneas que se encontraban en los extremos de las distribuciones. Los efectos en homocigosis significativos fueron siempre negativos para las viabilidades pero mayoritariamente positivos para fecundidad, en consonancia con el signo de las asimetrías de las distribuciones. Este resultado indica que en algunas líneas se fijaron mutaciones que aumentan la puesta. Los efectos en heterocigosis mostraron grados de dominancia variados indicando la fijación en las líneas de mutaciones con acciones génicas de todo tipo, desde aditiva a dominante o recesiva. Estos últimos efectos fueron también variados en signo en el caso de fecundidad, aunque no se pudo determinar el grado de dominancia direccional de las mutaciones implicadas.

BIBLIOGRAFÍA

- **Ashburner, M. y J.N. Thompson, 1978.** The laboratory culture of *Drosophila*. pp. 1-109 en The genetics and biology of *Drosophila* Vol. 2a, editado por M. Ashburner y T.R.F. Wright. Academic Press. Londres.
- **Barton, N.H., 1990.** Pleiotropic models of quantitative variation. *Genetics* 124: 773-782.
- **Bulmer, M.G., 1989.** Maintenance of genetic variability by mutation-selection balance: A child's guide through the jungle. *Genome* 31: 761-767.
- **Caballero, A. y P.D. Keightley, 1994.** A pleiotropic nonadditive model of variation in quantitative traits. *Genetics* 138: 883-900.
- **Caballero, A., M.A. Toro y C. López-Fanjul, 1991.** The response to artificial selection from new mutations in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 128: 89-102.
- **Castrillón, D.H., P. Gonczy, S. Alexander, R. Rawson, C.G. Eberhart, S. Viswanathan, S. di Nardo y S.A. Wassermann, 1993.** Toward a molecular genetic analysis of spermatogenesis in *Drosophila melanogaster*: Characterisation of male-sterile mutants generated by single P element mutagenesis. *Genetics* 135: 489-505.
- **David, J. y M.F. Clavel, 1969.** Influence de la température d'élevage sur le nombre, le pourcentage d'éclosion et la taille des oeufs fondus par *Drosophila melanogaster*. *Ann. Soc. Entomol. France* 5: 161-177.
- **Falconer, D.S., 1990.** Introduction to quantitative genetics. Longman Scientific and Technical. Londres.
- **García, N., C. López-Fanjul y A. García-Dorado, 1994.** The genetics of viability in *Drosophila melanogaster*: Effects of inbreeding and artificial selection. *Evolution* 48: 1277-1285.

- **Gillespie, J.H. y M. Turelli, 1989.** Genotype-environment interactions and the maintenance of polygenic variation. *Genetics* 121: 129-138.
- **Hill, W.G., 1990.** Mutation, selection and quantitative variation. pp. 219-232 en *Population biology of genes and molecules*, editado por N. Takahata y J.F. Crow. Baifukan.
- **Hiraizumi, Y., 1961.** Negative correlation between rate of development and female fertility in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 46: 615-624.
- **Houle, D., 1992.** Comparing evolvability and variability of quantitative traits. *Genetics* 130: 195-204.
- **Houle, D., D.K. Hoffmaster, S. Assimakopoulos y B. Charlesworth, 1992.** The genomic mutation rate for fitness in *Drosophila*. *Nature* 359: 58-60.
- **Houle, D., K.A. Hughes, D.K. Hoffmaster, J. Ihara, S. Assimakopoulos, D. Canada y B. Charlesworth, 1994.** The effects of spontaneous mutation on quantitative traits. I. Variances and covariances of life history traits.
- **Keightley, P.D., 1994.** The distribution of mutation effects on viability in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 138: 1315-1322.
- **Keightley, P.D. y W.G. Hill, 1990.** Variation maintained in quantitative traits with mutation-selection balance: Pleiotropic side-effects on fitness traits. *Proc. R. Soc. Lond. B* 242: 95-100.
- **Keightley, P.D., T.F.C. Mackay y A. Caballero, 1993.** Accounting for bias in estimates of the rate of polygenic mutation. *Proc. R. Soc. Lond. B* 253: 291-296.
- **Kuhn, D.T. y G. Packert, 1988.** Paternal imprinting of inversion *Uab*¹ causes homeotic transformations in *Drosophila*. *Genetics* 118: 103-107.

- **Lande, R., 1980.** The genetic covariance between characters maintained by pleiotropic mutations. *Genetics* 94: 203-215.
- **Lande, R., 1995.** Mutation and conservation. *Conservation Biology* Vol. 9(4): 782-791.
- **López, M.A. y C. López-Fanjul, 1993.** Spontaneous mutation for a quantitative trait in *Drosophila melanogaster*. II. Distribution of mutant effects on the trait and fitness. *Genet. Res.* 61: 117-126.
- **Lynch, M., 1988.** The rate of polygenic mutation. *Genet. Res.* 51: 137-148.
- **Lynch, M. y W.G. Hill, 1986.** Phenotypic evolution by neutral mutation. *Evolution* 40: 915-935.
- **Mackay, T.F.C., 1981.** Genetic variation in varying environments. *Genet. Res.* 37: 79-93.
- **Mackay, T.F.C., 1985.** A quantitative genetic analysis of fitness and its components in *Drosophila melanogaster*. *Genet. Res.* 47: 59-70.
- **Mackay, T.F.C., 1990.** Distribution of effects of new mutations affecting quantitative traits. *Proceedings of the 4th World Congress Genetics Applied to Livestock Production*. Edimburgo.
- **Mackay, T.F.C., J.D. Fry, R.F. Lyman y M.S. Jackson, 1992.** Effects of P elements on quantitative traits in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 130: 315-332.
- **Mackay, T.F.C., J.D. Fry, R.F. Lyman, M.S. Jackson, C. Terzian y W.G. Hill, 1992.** Polygenic mutation in *Drosophila melanogaster*: Estimates from divergence among inbred strains. *Evolution* 46: 300-316.
- **Mackay, T.F.C., J.D. Fry, R.F. Lyman y S.V. Nuzhdin, 1994.** Polygenic mutation in *Drosophila melanogaster*: Estimates from response to selection of inbred lines. *Genetics* 136: 937-951.

- **Mukai, T., 1969.** The genetic structure of natural populations of *Drosophila melanogaster*. VII. Synergistic interaction of spontaneous polygenes controlling viability. *Genetics* 61: 749-761.
- **Mukai, T., 1985.** Experimental verification of the natural theory. pp. 125-145 en *Population genetics and molecular evolution*, editado por T. Ohta y K.I. Aoki. Springer, Berlín.
- **Mukai, T. y T. Yamazaki 1971.** The genetics structure of natural populations of *Drosophila melanogaster*. X. Development time. *Genetics* 69: 385-398.
- **Paro, R., 1990.** Imprinting a determined state into the chromatin of *Drosophila*. *Trends in genetics* 6: 416-421.
- **Pelegri, F. y R. Lehmann, 1994.** A role of Polycomb group in the regulation of Gap gene expression in *Drosophila*. *Genetics* 136: 1341-1353.
- **Prout, T. y F. McChesney, 1985.** Competition among inmatures affects their adult fertility: population dynamics. *Am. Nat.* 126: 521-558.
- **Rice, W.R., 1989.** Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43: 223-225.
- **Roff, D.A. y T.A. Mousseau, 1987.** Quantitative genetics and fitness: Lessons for *Drosophila*. *Heredity* 58: 103-118.
- **Rose M.R., 1982.** Antagonistic pleiotropy, dominance and genetic variation. *Heredity* 48: 445-455.
- **Rose, M.R., 1984.** Artificial selection on a fitness component in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* 38: 516-526.
- **Santiago, E., J. Albornoz, A. Domínguez, M.A. Toro y C. López-Fanjul, 1992.** The distribution of effects of spontaneous mutations on quantitative traits and fitness in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 132: 771-781.

- **Simmons, M.J. y J.F. Crow, 1977.** Mutation affecting fitness in *Drosophila* populations. *Annu. Rev. Genet.* 11: 49-78.
- **Simmons, M.J., C.R. Preston y W.R. Engels 1980.** Pleiotropic effects on fitness of mutations affecting viability in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 94: 467-475.
- **Snedecor, G.W. y W.G. Cochran, 1967.** Statistical methods. The Iowa State University Press. Ames, Iowa.
- **Suzuki, D.T., T. Kaufman y D. Falk, 1976.** Conditionally expressed mutations in *Drosophila melanogaster*. pp. 207-263 en *The genetics and biology of Drosophila* Vol. 1a, editado por M. Ashburner y E. Novitski. Academic Press. Londres.
- **Tachida, H. y T. Mukai, 1985.** The genetic structure of natural populations of *Drosophila melanogaster*. XIX. Genotype-environment interaction in viability. *Genetics* 111: 43-55.
- **Takano, T., S. Kusakabe y T. Mukai, 1987.** The genetic structure of natural populations of *Drosophila melanogaster*. XX. Comparisons of genotype-environment interaction in viability between a northern and a southern population. *Genetics* 117: 245-
- **Tobío, M.A. y J.C. Sánchez, 1985.** Detección de mutantes que afectan al cociente sexual en *Drosophila melanogaster*. Tesina de licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid.
- **Yasuda, G.K., G. Schubiger y B.T. Wakimoto, 1995.** Genetic characterization of *ms(3)K81*, a paternal effect gene of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 140: 219-229.