
REPARACIÓN DEL DAÑO GENÉTICO INDUCIDO POR LA RADIACIÓN IONIZANTE DURANTE LA GAMETOGÉNESIS DE *Drosophila melanogaster*

RODOLFO FELIX ESTRADA*
Laboratorio para el Estudio de la
Genética y de la Evolución Th.
Dobzhansky, Facultad de
Ciencias. U.N.A.M.

INTRODUCCIÓN

Las mutaciones inducidas por irradiación comprenden un grupo complejo desde cualquier punto de vista que se les considere. En un nivel de organización, varían desde las aberraciones cromosómicas gruesas que se identifican fácilmente bajo el microscopio, hasta el cambio en un solo par de nucleótidos dentro de una molécula de ácido desoxirribonucleico. En otro nivel de organización, a saber, el de los efectos fenotípicos, la diversidad es extrema, aunque no es probable que algún tipo de mutación inducida por irradiación sea diferente en su esencia a las mutaciones espontáneas. En los cálculos cuantitativos sobre el riesgo genético en el hombre en relación a las dosis de irradiación a que está expuesto, es fundamental el entendimiento de la compleja relación entre la producción de mutaciones y la exposición a la radiación ionizante, ya es precisamente en este nivel en el que es más evidente la falta de datos que tengan cierta seguridad. En la investigación sobre la frecuencia de mutaciones inducidas por irradiación, en relación con algunas características fenotípicas del hombre que incluyen a la gran mayoría de los defectos hereditarios, éstos tampoco constituyen un material adecuado para obtener generalizaciones. No obstante, es posible utilizar los notables adelantos derivados de los experimentos sobre las aberraciones inducidas en células y en tejidos humanos que se desarrollan en conocidos medios artificiales de cultivo. Por otra parte, la información directa sobre los factores que afectan a la producción de mutaciones en el hombre, debe ser valorizada con mucha precaución. Afortunadamente, es en este nivel donde la información obtenida en otros organismos es muy útil. Existen probablemente muy pocos datos radiobiológicos que no puedan ser aplicados en alguna forma a la especie humana, aunque se trate únicamente de establecer cualquier aspecto cualitativo de los problemas que anteceden a la obtención de valores estimativos del riesgo genético.

Asimismo, son evidentes las discrepancias derivadas de experimentos sobre grupos heterogéneos de plantas y animales, que probablemente se deban tanto al ambiente fisiológico, como al metabolismo de los diferentes organismos estudiados. Además, esta heterogeneidad existe aun entre los estados del ciclo celular con los que se ha experimentado. Por consiguiente, es necesario hacer investigaciones de carácter sistemático que tiendan a la generalización; ya no existe ninguna razón *a priori* para asumir que uno o algunos mecanismos similares constituyan la base de la sensibilidad de todos los estados celulares de organismos diversos frente a la irradiación. En cambio, es razonable adelantar que el análisis de variación de la sensibilidad de diferentes estados de un tipo celular bajo una variedad de condiciones, puede aclarar las diferencias en radiosensibilidad entre diferentes organismos.

Para la determinación de la sensibilidad variable de un tipo celular, es preferible experimentar con un organismo en el que las alteraciones génicas y cromosómicas puedan ser identificadas fácilmente, requiriéndose además de técnicas para tratar con radiaciones ionizantes en una variedad de ambientes, a estados bien definidos de la mitosis y de la meiosis. La mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, es el organismo más adecuado para tales experimentos, ya que no solamente se pueden examinar fácilmente las variaciones hereditarias, sino que se han desarrollado técnicas que aseguran el tratamiento de células que constituyen muestras homogéneas de las etapas sucesivas de la meiosis. Como existen razones firmes para suponer que las condiciones que afectan a las células somáticas, modificarán en la misma forma a las células meióticas, y considerando además, que éstas son un material ideal para el estudio de los cambios inducidos por la irradiación, se posibilitaron un gran número de experimentos sobre las células reproductivas. Mientras se reconoció muy poco tiempo después de la demostración del efecto mutagénico de los rayos X en 1927, por H.J. Müller, que las células germinales maduras de la hembra y del macho de *Drosophila* son más sensibles a la irradiación que las células germinales inmaduras, se requirió un lapso mayor de 20 años para que se demostrara que existen diferencias notables entre la radiosensibilidad de

algunos estados premeióticos y postmeióticos en otros organismos.

DAÑO GENETICO INDUCIDO POR LA IRRADIACIÓN DURANTE LA ESPERMATO-GENESIS

Durante las últimas décadas se ha reunido una evidencia experimental considerable sobre las diferencias en la radiosensibilidad entre algunas de las etapas de la espermatogénesis, explorándose extensivamente las condiciones externas e internas que afectan a los efectos genéticos de las radiaciones ionizantes en *Drosophila melanogaster*.

El estudio de la gametogénesis en los estados que preceden a las espermatogonias presenta muchos problemas, el más crítico para *Drosophila* es la escasez de datos citomorfológicos, en contraste con el conocimiento detallado que se tiene para el ratón y para otros mamíferos (Oakgerg, 1969), así como para el chapulín (Hannah-Alava, 1964). En el ratón se pueden identificar tres tipos de espermatogonias: el tipo A corresponde a las células tronco del epitelio seminífero, que mediante el proceso de renovación celular mantienen su propio número, mientras que dan origen a un número ilimitado de células diferenciadas. Las espermatogonias intermedias se derivan del tipo A, dividiéndose una vez para formar espermatogonias del tipo B, que a su vez se duplican para dar origen a los espermatoцитos primarios.

En *Drosophila melanogaster* se tiene alguna evidencia citológica sobre la existencia de 10 a 14 células primordiales, que son las células tronco progenitoras de los espermatozoides (Sonnenblick, 1950). Asimismo, se tienen datos sobre la reducción progresiva en el número de células tronco en relación con la edad del macho maduro, proceso que no se ha complementado con datos citológicos (Lüers, 1956; Abrahamson y Friedman, 1964; Puro, 1964; Hannah-Alava, 1964). El único evento establecido en el testículo del macho maduro, consiste en la ocurrencia de cuatro divisiones sincrónicas y dicotómicas en las espermatogonias que originan un quiste de 16 espermatogonias definitivas que se transforman en 16 espermatoцитos primarios (Pontecorvo, 1944; Cooper, 1950) que posteriormente dan origen a un conjunto de 64 espermatozoides. Con respecto a la secuencia de los eventos anteriores a las divisiones definitivas que ocurren en el testículo, dada la ausencia de información bien fundamentada, se asume que algunas células provenientes de la reserva de espermatogonias, se separan más o menos al azar, iniciando las divisiones definitivas.

Algunos autores opinan que las espermatogonias primarias, equivalentes a las espermatogonias del tipo A de los roedores pasan por una multiplicación dicotómica asincrónica antes de separarse y de dividirse cuatro veces para producir los quistes de 16 espermatoцитos primarios (Tihen, 1946; Cooper, 1950; Kauffman y Gay, 1963; Puro, 1964).

El procedimiento más generalmente empleado en los laboratorios de investigación, para el estudio de la espermatogénesis en *Drosophila*, consiste en la separación de los descendientes de espermatozoides provenientes de células que fueron irradiadas durante alguna de las etapas de la espermatogénesis, mediante la cruce sucesiva de los machos con hembras vírgenes que ovopositan posteriormente en cultivos separados (método de separación de progenies). El procedimiento, que dada de las investigaciones de Müller (1928) y de Hanson y Heys (1929), ha sido utilizado por numerosos autores (Müller *et al.*, 1954, 1959; Oster, 1961; Strangio, 1962; Puro, 1963; Oster, 1963; Sobels, 1963, 1966).

El término mutación letal empleado en relación con la genética de *Drosophila* denota un cambio hereditario que causa la muerte del individuo antes de que alcance la madurez. Ya que la mosca de la fruta pasa durante su desarrollo por una metamorfosis completa, el efecto letal bien puede manifestarse durante cualquiera de los tres estados principales (embrión, larva y pupa) anteriores a la eclosión del imago.

Medvedev (1938) encontró que de 30 letales ligados al sexo, originados espontáneamente y que no mostraban cambios aparentes en los cromosomas de las glándulas salivales, 15 manifestaban su efecto letal durante el estado pupal. En 1939, el mismo autor reportó que entre 12 de los 30 letales espontáneos ligados al sexo que producían la muerte en algún estado pre-pupal, 2 eran letales durante el periodo embrionario, 9 durante el primer estadio larval y uno durante el segundo estadio larval. Otros 3 eran letales manifiestos en el 3er. estadio larval muy cerca de la iniciación de la pupación. Medvedev interpretó este agrupamiento aparente, señalando 3 periodos sensibles: el embrión, el primer estadio larvario y la pupa, respectivamente.

La radiosensibilidad específica de las etapas de la espermatogénesis, según el porcentaje obtenido de letales

sucesivos en el cromosoma X; se analiza en machos que se cruzan inmediatamente después del tratamiento con seis hembras vírgenes que se sustituyen en periodos de 48 horas. La representación esquemática de los estados que se muestrean en cada progenie está basada en los trabajos de Chandley y Bateman (1962), Sävthagen (1961, 1963), Chandley (1962), Bates y Leigh (1964). La aplicación de varios diseños experimentales permitió la identificación de los eventos citológicos que se suceden durante la espermatogénesis según la radiosensibilidad intrínseca de los mismos, en determinadas condiciones, identificándose las etapas correspondientes comprendidas entre las espermatogonias y los espermatozoides maduros. Puro (1964) estudió la radiosensibilidad de los individuos provenientes de células tratadas en el estado de espermatogonia. Los cambios en la frecuencia de mutación registrados en periodos sucesivos después de la irradiación son una traducción dinámica del progreso de la espermatogénesis, ya que se muestrean sucesivamente células germinales cuya radiosensibilidad específica corresponde a los diferentes estados de la espermatogénesis durante la irradiación. Posteriormente se demostraron las diferencias en la radiosensibilidad comprendidas en el mismo estado de la espermatogénesis mediante la cruce de machos tratados por hembras en un número mayor y durante intervalos mas cortos (Lüning, 1952, 1954; Baker y Von Halle, 1953; Abrahamson y Telfer, 1956; Lüning, y Henze, 1957; Lüning y Henriksson, 1959; Oster, 1961; Sobels, 1963, 1966; Puro, 1966). Félix, *et al.* (1970) demostró el retardo meiótico inducido por la inyección de dihidroestreptomomicina, evidente por el desplazamiento de la gráfica de la sensibilidad (frecuencia de letales recesivos ligados al sexo) durante la espermatogénesis.

La reducción de la fecundidad en el macho irradiado, probablemente debida a la inducción de letales dominantes (Hoenigsberg *et al.*, 1961; Hoenigsberg, 1964), es otro criterio aplicable a la localización en el tiempo, de los eventos que ocurren durante la espermatogénesis. El periodo de esterilidad se manifiesta al mismo tiempo que los primeros transcruzamientos (crossing-over), indicando que el daño inducido en los espermatoцитos y probablemente en las espermatogonias más avanzadas, constituye la causa de la esterilidad que se observa en la progenie que sigue al predominio de las espermátidas, en la que se produce la mayor proporción de letales recesivos. Auberbah (1954), Ives (1959, 1963), Strangio (1962) y Chandley (1962) encontraron que el porcentaje más alto de mutaciones producidas por irradiación con rayos X coincide con la progenie en la que se localiza la esterilidad más pronunciada que corresponde a los espermatoцитos y probablemente también a las primeras espermátidas tempranas. El periodo en que se presenta el grado mayor de esterilidad, así como la frecuencia más alta de mutaciones está aún en discusión, aunque se localiza en un período muy cercano a la progenie proveniente de las espermátidas.

Kishin (1955), diseñó otro procedimiento para obtener muestras en las que predominan células en algunas de las etapas de la espermatogénesis, mediante el tratamiento por irradiación de algunos de los estadios del desarrollo larvario o pupal. El predominio de células germinales del mismo estado de la gametogénesis se confirma por la evidencia directa que proporciona el examen histológico.

Oster, *et al.* (1963) construyeron varias líneas de *Drosophila* y diseñaron técnicas diversas para facilitar los estudios de mutagénesis, así como las investigaciones citogenéticas, combinando líneas portadoras de mutaciones o de desarreglos cromosómicos específicos, inducidos por irradiación en experimentos precisamente diseñados para tal propósito.

Estas líneas incluyen: "Multi-purpose", para detectar la pérdida de cromosomas, las mutaciones recesivas letales ligadas al sexo, las translocaciones y las mutaciones en 8 *loci* específicos en la descendencia de los individuos tratados; métodos mejorados para la detección de mutaciones en la línea germinal femenina; líneas para determinar los componentes genéticos del daño somático inducido por dosis bajas de irradiación; línea para la detección de mutaciones en 20 *loci* específicos en la línea germinal de la hembra y en 37 *loci* específicos para el mismo propósito en la línea germinal del macho; un método para determinar la frecuencia con que mutan *loci* homólogos simultáneamente después de varios tipos de tratamientos; varios cromosomas X en forma de anillo que contienen fragmentos del cromosoma Y; varios cromosomas Y en forma de anillo con y sin marcadores recesivos; inversiones marcadoras para la isogenización total o parcial del genoma, y combinaciones con efectos visibles en los estados inmaduros, para la identificación de diferentes genotipos durante la vida temprana de *Drosophila melanogaster*, utilizables en estudio sobre el desarrollo.

Al agrupar las células en orden de radiosensibilidad decreciente, medida según la frecuencia de letales recesivos, se obtiene la siguiente clasificación (Oster, 1958 a, 1958 b; Ives, 1960): (1) espermátidas y espermatoцитos primarios (2) espermatozoides en la hembra inseminada, (3) espermatoцитos secundarios, (4) espermatozoides maduros del primer día, (5) espermatozoides maduros del segundo día, (6) espermatogonias. Entre los dos extremos de esta escala de radiosensibilidad, existen diferentes equivalentes aproximadamente a la multiplicación por un factor igual a 12. El análisis de las causas determinantes de esta diversidad tan notable indica que están involucrados varios factores. En primer lugar, se pueden inducir diversos grados de daño potencial en

función de las condiciones prevalentes durante la irradiación. Por otra parte, el daño potencial no se traduce en su totalidad en alteraciones genéticas detectables, sino que una proporción puede ser separada, según el estado metabólico de la célula. No obstante, únicamente en los estados celulares más investigados, tales como las espermátidas y los espermatozoides, ha sido posible establecer la distinción entre los factores determinantes de la sensibilidad inicial y los que intervienen en la reparación. En las dos etapas del proceso el grado de oxigenación desempeña un papel importante, como lo demuestran los experimentos en los que se comparan los efectos de los postratamientos con O₂ de N₂ (Sobers, 1963, 1966). Los resultados indican que después de la irradiación con 3,000 r en condiciones anóxicas, la reparación de las espermátidas es favorecida por el oxígeno, mientras que la preparación de los espermatozoides es mayor en presencia de una atmósfera de nitrógeno. Por consiguiente, los efectos de los postratamientos en atmósferas diferentes en las espermátidas son contrarios a los observados en los espermatozoides. En estos experimentos Sobels empleó una línea de *Drosophila* portadora de un cromosoma X en forma de anillo, con el objeto de limitar los letales recesivos inducidos a mutaciones puntuales y posiblemente a pequeñas deficiencias.

En las espermátidas se obtiene la misma producción de mutaciones mediante la aplicación de 1,000 r en atmósfera de O₂, que con 3,000 r en atmósfera de N₂ con postratamiento con N₂ en ambos casos, por lo que el grado de oxigenación determina la proporción de daño potencial inducido. La observación sobre el efecto de la atmósfera de O₂ que disminuye el grado de recuperación en espermatozoides, demuestra que el oxígeno no sólo posibilita un mayor daño potencial, sino que también reduce la capacidad de reparación.

La evidencia experimental sugiere que en ambos tipos de células, los efectos posteriores a la irradiación se originan en procesos enzimáticos de reparación de las lesiones potenciales que dan origen a las mutaciones o a los rompimientos cromosómicos definitivos. Sobels (1966) demostró que los resultados obtenidos en los espermatozoides no pueden ser explicados por la interacción de radicales con el O₂, ni por la eliminación selectiva de células con daño genético por el tratamiento con N₂. La radiosensibilización observable después del pretratamiento con fluoruro de sodio, iodoacetamina, ribonucleasa o actinomicina D, sugiere que tanto las enzimas glicolíticas, como la síntesis de ARN, o de proteínas, intervienen en los procesos de reparación de los espermatozoides.

Las investigaciones recientes en microorganismos han demostrado que el proceso de inducción de la mutación puede tener lugar a través de varias etapas, algunas de las que son esencialmente reversibles con posibilidad de reparación. Por consiguiente, se puede establecer una diferencia entre el daño premutacional y la fijación definitiva de la mutación. Existe evidencia en favor de que la síntesis del ADN, del ARN y de las proteínas, puede estar involucrada en la secuencia de las etapas que culminan en la fijación del evento mutacional (Witkin, 1956; Doudney y Haas., 1959; Kimbal *et al.*, 1959; Ryan, *et al.*, 1959; Lieb, 1960). Un recurso empleado frecuentemente es el antibiótico cloramfenicol que inhibe la síntesis de proteínas, así como del ARN cuando se aplica en altas concentraciones en microorganismos.

Sobels y Tate (1961) emplearon cloramfenicol para el análisis del proceso de la mutación inducida por rayos X en *Drosophila melanogaster*, encontrando que después del pretratamiento con el antibiótico, tiene lugar un aumento en la radiosensibilidad de los espermatozoides maduros, así como un decrecimiento en la sensibilidad de las espermátidas. Los espermatozoides y las células espermátogonales tardías, muestran una reducción en la sensibilidad a la irradiación, mientras las primeras espermátogonias no son afectadas por el mismo tratamiento.

Desde 1940 Müller propuso, con base en los experimentos que demostraron la ausencia del efecto del fraccionamiento de la dosis en el espermatozoide maduro irradiado, que las rupturas cromosómicas permanecen abiertas hasta la fertilización (Müller, 1940).

Entre otros autores, Leigh y Soebels confirmaron esta posibilidad, mediante sus investigaciones sobre la recuperación de homocromosomas de células posmeióticas irradiadas (Soebels, 1969; Leigh y Soebels, 1969, 1970). Otras evidencias derivadas de los experimentos con fraccionamiento de dosis confirmaron, a su vez, la tesis de Müller (Soebels, 1972).

El procedimiento experimental consistió en irradiar a machos adultos con la primera fracción de la dosis, muestreando las etapas de la espermatogénesis por medio de la técnica de separación de las progenies, y aplicando la segunda fracción de la dosis al espermatozoide maduro en la hembra inseminada. Se corrieron paralelamente testigos apropiados, en los que se irradiaron únicamente los machos, o bien únicamente los cromosomas de los espermatozoides en las hembras inseminadas. Se registró la frecuencia de translocaciones entre los cromosomas 2 y 3. Se compararon las frecuencias en las series con fraccionamiento, con lo que es de esperarse asumiendo la adición o la interacción de las rupturas tanto en el grupo de las hembras irradiadas, como

en el grupo de machos irradiados.

Los resultados demuestran que las frecuencias de translocación en las espermátidas del grupo con fraccionamiento de la dosis, son significativamente mayores que la suma de las translocaciones producidas por separado por cada fracción de la dosis, lo que indica que una proporción considerable de las rupturas inducidas en las espermátidas del testículo del adulto quedan abiertas hasta la fertilización.

Una conclusión interesante derivada del trabajo de Würzler y Maier (1972) es la que señala que el mecanismo de reparación en las hembras juega un papel importante en la determinación de la magnitud del daño genético en el genoma paterno.

Esta conclusión promueve la manipulación del ambiente fisiológico de los ovocitos, mediante métodos apropiados para definir el papel de los mecanismos de reparación maternos sobre varios de los tipos de daño genético que ocurren en el genoma masculino.

DAÑO GENÉTICO INDUCIDO POR LA IRRADIACIÓN DURANTE LA OVOGÉNESIS

La ovogénesis normal de *D. melanogaster* ha sido descrita detalladamente por King, *et al* (1956). Los dos ovarios de la hembra silvestre contienen un conjunto de ovariolas, cada una de las que se diferencia en un germario anterior y en una serie de cámaras ovíferas. El ápice del germario contiene un número pequeño de células con actividad mitótica, que es la línea germinal de las ovogonias. Es probable que de la división de una célula tronco se obtenga una célula que continúa su función como ovogonia tronco y un cistoblasto, que pasa por cuatro divisiones sincrónicas consecutivas, originando un quiste de 16 cistocitos hijos. A continuación, los cistocitos hijos se diferencian en un ovocito y 15 células nutricias que alimentan al ovocito. Las células foliculares van envolviendo gradualmente al quiste, que una vez que está completamente rodeado por dichas células, se desprende del germario, transformándose en la primera cámara ovífera de la ovariola.

El desarrollo de la cámara ovífera se ha subdividido en una serie de estados consecutivos que terminan en el estado 14, que es el ovocito primario maduro (King, *et al.*, 1956). Los dos estados más estudiados son el 7 y el 14; el estado 7 es el más avanzado en las hembras recién emergidas del pupario, mientras que el estado 14 corresponde al ovocito coronado presente en las hembras después del segundo día de vida del imago.

Mediante el control de las condiciones en que ocurre la oviposición y limitando el número de huevecillos colectados que procedan de una hembra, es posible obtener muestras homogéneas de ovocitos del estado 7 o del estado 14, manifestándose una diferencia considerable entre la sensibilidad a los rayos X entre los dos estados citados. Después de la aplicación de 2,000 r sobrevive una proporción considerable de ovocitos del estado 7, mientras que, la dosis de 600 r tiene efecto letal sobre aproximadamente el 75 por ciento de los ovocitos irradiados durante el estado 14 (Parker, 1959).

El antibiótico actinomicina D en concentraciones bajas permite la duplicación del ADN evitando la síntesis del ARN mensajero (Reich, *et al.*, 1961), mientras en concentraciones altas, tanto la síntesis del ARN como la duplicación del ADN son inhibidas.

Susuki (1965) inyectó actinomicina D a hembras adultas de *Drosophila*, demostrando la mortalidad elevada en las hembras inyectadas y la esterilidad completa en algunas de las hembras sobrevivientes, así como un aumento en la frecuencia de transruzamientos en las regiones cercanas al centrómero del cromosoma 3. Félix y Rodríguez. (1968) encontraron un incremento en la pérdida del cromosoma X y en la no disyunción en los descendientes de hembras irradiadas y no irradiadas con rayos X cuando previamente se inyectaron con actinomicina D. Si se asume que el efecto primario de la actinomicina D en *Drosophila* es la inhibición de la síntesis del ARN mensajero, el experimento es consistente con un modelo de procesos dependientes de la síntesis de proteínas que modifican tanto las frecuencias espontáneas como las producidas por la irradiación, de la pérdida del cromosoma X y de la no disyunción.

Proust (1969) y Proust, *et al.* (1972) estudiaron los efectos de la inyección de hembras con actinomicina D sobre las frecuencias de los letales dominantes, de las translocaciones autosómicas y de los letales ligados al sexo inducidos en el espermatozoide maduro por la irradiación con rayos X. Al comparar dichos parámetros con los del testigo, descubrieron que dicho tratamiento en las hembras conduce a un incremento de la frecuencia de los letales

dominantes, así como a una disminución de las translocaciones y de los letales recesivos, decremento que es más pronunciado en los ovocitos utilizados de cuatro a seis días después de la inyección.

La interpretación más lógica de estos descubrimientos está en favor de que la actinomicina impida parcialmente la restitución de las rupturas cromosómicas aumentando, por consiguiente, la frecuencia de letales dominantes y disminuyendo las correspondientes a las translocaciones y a los letales recesivos. Esto implica que se requieren los procesos de reparación maternos durante el estado de formación del pronúcleo, para la reparación errónea (que da origen a las translocaciones) de las rupturas cromosómicas inducidas en el espermatozoide maduro.

Sankaranarayanan (1969) investigó los efectos de los postratamientos con oxígeno o con nitrógeno sobre la inducción, mediante rayos X de letales dominantes en ovocitos del estado 7. Los resultados obtenidos indican que las curvas de supervivencia son predominante resultantes de eventos de dos impactos y que con el postratamiento con oxígeno la supervivencia de los huevecillos es consistentemente mayor que la observada después del postratamiento con nitrógeno. Esta observación implica reparación mediante el oxígeno, del daño traducido en letales dominantes.

En otra investigación similar de Sankaranarayanan (1969 b) sobre los ovocitos del estado 14, encontró que la relación dosis-efecto, ya sea con postratamiento de oxígeno o de nitrógeno es consistente con la cinética de eventos resultantes de un solo impacto y que con la postirradiación con oxígeno la supervivencia es significativamente mayor que con la postirradiación con nitrógeno, lo mismo que se observó con los ovocitos del estado 7. Los datos también indican que en condiciones normales, los ovocitos del estado 14 pueden disponer de una cantidad mayor de oxígeno, que los ovocitos del estado 7. Es probable que dicha oxigenación diferencial constituya uno de los factores que contribuyen a la mayor radiosensibilidad que manifiesta el estado 14, en relación con los ovocitos del estado 7. Soebels (1969) encontró una situación paralela al comparar la radiosensibilidad de las espermatidas tardías con la correspondiente a los espermatozoides.

En un estudio sobre la inducción de letales dominantes en el estado 7 y en el estado 14, mediante rayos X, Watson (1969) descubrió en un mutante deficiente en recombinación, de *Drosophila* que dicha línea es asimismo, más radiosensible que el tipo silvestre.

LITERATURA CITADA

ABRAHAMSON, S y J.D. TELFER, 1956. The relative constancy of the X-ray induced mutation frequency of *Drosophila melanogaster* sperm in inseminated females. *Genetics* 41 (5): 677-684, 2 tabs.

ABRAHAMSON, S. y E. FRIEDMAN, 1964. X-ray induced mutations in spermatogonial cells of *Drosophila* and their dose frequency relationships. *Genetics* 49 (2): 357-361, 3 tabs.

AUERBACH, C., 1954. Variations in the response of *Drosophila* germ cells to mutagens. *Caryologia, Vol. suppl.* 690-692.

BAKER, W.K. y E.S. VON HALLE, 1953. The basis of the oxygen effect on X-irradiated *Drosophila* sperm. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 39 (3): 152-161, 1 fig., 3 tabl.

CHANDLEY, A.C., 1962. The induction of mutations in spermatocytes of *Drosophila melanogaster* with X-rays. *Int Jour. Rad. Biol* 5 (4): 305-321, 5 figs., 5 tabl.

CHANDLEY, A.C. y A.J. BATEMAN, 1962. Timing of spermatogenesis in *Drosophila melanogaster* using tritiated thymidine. *Nature* 193 (4812): 299-300, 1 tabl.

COOPER, K.W., 1950. Normal Spermatogenesis in *Drosophila* In: Demerec, M. (Ed.) *Biology of Drosophila*. John Wiley and Sons, New York: 1-61, 78 figs., 1 tabl.

DOUDNEY, C.O. y F.L. HASS. 1959. Mutation induction and macromolecular synthesis in bacteria. *Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash)* 45: 709.

FELIX, R., y R. RODRIGUEZ 1968. Actinomycin D effects on the frequency of X-chromosome loss and

non-disjunction in *Drosophila melanogaster* females. *An. Inst. Biol Univ. Nal. Autón. México* 39 Ser. Biol Exp. (1): 13-21, 9 tabs.

FELIX, R., J.I. GUZMAN y J. RAMIREZ, 1970 Retardo meiótico y modificaciones en la radiosensibilidad inducidos por el pretratamiento con dihidroestrestreptomycin en *Drosophila melanogaster* *An. Inst. Biol. Univ. Autón. México* 41. Ser. Biol. Exp. (1): 1-16, 2 figs., 4 tablas

HANNAH-ALAVA, A., 1964 The brood pattern of X ray induced mutational damage in the germ cells of *Drosophila melanogaster* males. *Mutation Res.* 1 (4): 414-436, 1 fig., 8 tabl.

HANSON, F.B. y F. HEYS, 1929. Duration of the effects of X-rays on male germ cells in *Drosophila melanogaster* *Am. Naturalist* 63: 511-516, 3 tabl.

HOENIGSBERG, H. F., E. GALLUCI y A. GIAVELLI, 1961. The Oxygen Effect in Irradiated Mature and Meiotic Germ Cells of *Drosophila melanogaster*. *Experientia* 17 (172): 1-8, 3 tabl.

HOENIGSBERG, H.F., 1964. Non Linearity in Dominant Lethals induced with Irradiation in *Drosophila melanogaster*. *Caldasia* 9 (42): 129-136, 2 figs., 5 tabl.

IVES, P.T., 1959. The Relationship Between Radiation Dose and Dominant Visible Mutation Rate in *Drosophila melanogaster* *Genetics* 44 (5): 968-978 2 figs., 3 tabl.

IVES, P.T., 1960. The effects of gamma rays on fecundity and mutagenesis in Oregon-R males of *Drosophila*. *Int. J. Rad. Biol* 2 (1): 54-67, 1 fig., 6 tabl.

IVES, P.T., 1963 Patterns of Spontaneous and Radiation induced Mutation Rates During Spermatogenesis in *Drosophila melanogaster* *Genetics* 48 (8): 981-995, 1 fig., 5 tabl.

KAUFFMAN, B. P. y H. GAY, 1963. Cytological evaluation of differential radiosensitivity in spermatogenesis cells in *Drosophila* In: Sobels, F. H. (Ed.) *Repair From Genetic Radiation Damage*. Pergamon Press, Oxford: 375-412, 16 figs., 1 tabl.

KIMBALL, R. F., N. GAITHER y S. M. MILSON, 1959 Recovery in stationary phase paramecia from radiation effects leading to mutation. *Proc. Nat. Acad. Sci (Wash)* 45: 833.

KING, R. C., A.C. RUBINSON y R.F. SMITH, 1956 Oogenesis in adult *Drosophila melanogaster*. *Growth* 20: 121-157.

KISHIN, A.F. E. 1955. The response of the immature testis of *Drosophila* to the mutagenic action of X-rays. *Z. Ind. Abstr. Ver.* 87: 97-112, 8 figs. 2 tabl.

LEIGH, B. y F. H. SOEBELS, 1969. Induction by X-rays of isochromosomes in the germ cell of *Drosophila melanogaster* males. *Genen and Phaenen* 13: 9-10.

LEIGH, B., y F. H. SOEBELS, 1970. Induction by X-rays of isochromosomes in the germ cells of *Drosophila melanogaster* males. Evidence for nuclear selection in embryogenesis. *Mutation Res.* 10: 475-487.

LIEB, M. 1960 Sesoxyribonucleic acid synthesis and ultraviolet induced mutation. *Biochim. Biophys Acta (Amst.)* 37: 155.

LÜERS, H., 1956. Examination of the number of active primary germ cells in the late imago of *Drosophila* . *Drosophila inform. Serv.* 30: 132-133.

LÜNING, K. G., 1952. X-ray induced chromosome breaks in *Drosophila melanogaster*. *Heredita.* 38: 321-338, 4 figs., 3 tabl.

LÜNING, K G., 1954. Effects of oxygen on irradiated males and females of *Drosophila*. *Hereditas.* 40: 205-312. 1 fig. 4 tabl.

LÜNING, K.G. y A. HENZE. 1957. The recovery phenomenon after irradiation in *Drosophila melanogaster*. III. The inactivation dose of the recovery process. *Hereditas* 43: 571- 577, 2 figs., 4 tabl.

- LÜNING, K.G. y A. HENZE. 1959. Recoverable lethal Mutation in *Drosophila* sperm *Nature* 138 (4669): 1211-1212, 1 tabl.
- MEDVEDEV, N.N.. 1938. Studies in genetics development. II. Influence of lethal genes on the development of characters as studied by transplantation. *C.R. (Dokl.) Acad. Sci. URSS. N.S.* 20: 319-321
- MEDVEDEV, N.N., 1939 a. Studies in genetics of development. III. Sensitive periods and their relation to the problem of gene action in development. *CR. (Dokl.) Acad. Sci. URSS. N.S.* 22: (347-349).
- MEDVEDEV, N.N., 1939 b. Studies in genetics of development IV. Further data on the sensitive periods on development of *Drosophila melanogaster* *C.R. (Dokl.) Acad. Sci. URSS., N.S.* 25: (517-519).
- MULLER, H. J., 1927. Artificial transmutation of the gene. *Science* 66: 84-87.
- MULLER, H.J.. 1928. The measurement of gene mutation rate in *Drosophila*. its high variability and its dependence upon temperature. *Genetics* 13: 279-357.
- MULLER, H.J., 1940. An analysis of the process of structural changes in chromosomes of *Drosophila* *J. Genet.* 40: 1- 66.
- MULLER, H. J., L. H. HERSKOWITZ, S. ABRAHAMSON e I. I. OSTER. 1954. A nonlinear relation between X-ray dose and recovered lethal mutation in *Drosophila*. *Genetics* 39 (5): 741-749 1 tabl.
- MULLER, H.J., 1959. Advances in Radiation Mutagenesis through studies on *Drosophila*. *Progress. Nucl. Energ. Ser.* 6 (2): 145-160, 1 fig., 1 tabl.
- OAKBERG, E.F., 1969. Relative biological effectiveness of Gamma rays, X-rays, Protons, and Neutrons for Spermatogonial Killing. *ORNL- P-3085 Conf.* 670305- 5, 7 p., 1 fig. 2 tabl.
- OSTER, I. I., 1958 a. Frequency-Dosage Relations for Mutations following X-Irradiation of Sensitive and Resistant Germ Cells. In: Wright, S. (Ed.) *Proc. X Int. Cong. Genet.* Univ. of Toronto Press: 210-211.
- OSTER, I. I., 1958 b The spectrum of sensitivity of *Drosophila* germ cells stages to X-irradiation. In: Martin, J. H. (Ed.) *Radiation Biology, Proc. Second Australasian Conf. on Rad Biol.* Butterworths Scient. Pub. 253-271, 2 figs. 6 tabl.
- OSTER, I. I., 1961. On recovery in X-irradiated Germ Cells. *Jour. Cell. Comp. Phys.* 58 (3) Suppl. 1: 203-207, 4 tabl.
- OSTER, I. I., 1963. The mutational spectrum with special reference to the induction of mosaics. In: Sobels, F. H. (E d) *Repair from Genetic Radiation Damage.* Pergamon Press, Oxford: 51-61. 4 tabl.
- OSTER, I. I., R. SCHWARZ. y R. BINNARD, 1963. Chromosome reconstruction for studies on mutagenesis and other cytogenetical problems. *XI International Congress of Genetics, Proceedings, Vol. I:* 115-116.
- PARKER, D R. 1959. Dominant lethal mutation in irradiated oocytes. *Biol. Cont. Univ. Texas* 5914: 113-127.
- PONTECORVO, G.. 1944. Synchronous mitoses and differentiation, sheltering the germ track, *Drosophila Inform. Serv.:* 18: 54-55.
- PROUST. J. P.. 1969 Action d'un pré-traitement des femelles de *Drosophila melanogaster* avec de L'Actinomycine D sur La fréquence des létaux dominants induits par les rayons X dans les spermatozoides murs. *Comp. Rend.* 269: 86-88.
- PROUST. J. P., K. SANKARANARAYANAN y F. H. SOEBELS. 1972. The effects of treating *Drosophila* females with Actinomycin D on the yields of dominant lethas, translocations and recessive lethas recovered from X-irradiated spermatozoa. *Mutation Res.* 15.
- PURO, J. 1963. The Brood Pattern of X-ray induced Crossing overs in *Drosophila melanogaster* Males. In: Geerts, S. J. (Ed.) *Genetics Today Proc 11th Inter. Congr. Genet. The Hague 1,* Pergamon Press, Oxford: 69.

- PURO, J. 1964 Temporal distribution of X-ray recessive lethals and recombinants in the poststerile broods of *Drosophila melanogaster* males. *Mutation Res.* 1 (3): 268-278 2 tabl.
- PURO, J.. 1966. Mutational response of the premeiotic germ cell stages of adult *Drosophila melanogaster* males to X-irradiation *Ann. Zool. Fenn.* 3: 9-126.
- REICH, E. F., R. M. FRANKLIN, A. J. SHATKIN y E. L. TATUM. 1961. Effect of actinomycin D on celular nucleic acid synthesis and virus production. *Science* 134: 556-557.
- RYAN, F. J, R RUDNER. T. NAGATA e Y. KITANI, 1959. Bacterial mutation and the synthesis of macromolecules. *Z. Vererb. Lebre* 92: 148.
- SANKARANARAYANAN, K., 1969 a. The effects of oxygen and nitrogen as stage 7 oocytes. *Mutation Res.* 7: 357-368.
- SANKARANARAYANAN, K.,1969 b. The effects of oxygen and nitrogen oocytes of *Drosophila melanogaster* *Mutation Res* 7: 369-383.
- SAVHGEN, R., 1961. The effect of oxygen concentration on the frequency of induced XO males non-disjunction females after irradiation of *Drosophila* males. *Hereditas* 47: 163-189, 5 figs., 4 tabl.
- SAVHAGEN, R., 1963. Cell stages and differential sensitivity to irradiation in males of *Drosophila melanogaster* In: Sobels, F. H. (Ed.) *Repair From Genetic Radiation Damage*. Pergamon Press, Oxford: 343-353, 5 figs.
- SOBELS, F. H. y A. D. TATES. 1961. Recovery from premutational damage of X-irradiation in *Drosophila* spermatogenesis. *J. Cell. Comp. Physiol. Suppl.* 58: 189.
- SOBELS, F. H., 1963. Repair and differential radiosensitivity in developing germ cells of *Drosophila* males. In: Sobels, F. H. (Ed.) *Repair and Genetic Radiation Damage*. Pergamon Press, Oxford: 179-197, 6 figs., 1 tabl.
- SOBELS, F. H., 1966. Processes underlying repair and radiosentivity in spermatozoa and spermatids of *Drosophila*. In *Genetical Aspect fo Radiosensitivity: Mechanisms of Repair* I.A.E.A. Vienna, ST1/PUB/130: 49-65, 11 figs
- SOBELS, F. H., 1969. A study of the causes underlying the differences in radiosensitivity between mature spermatozoa and late spermatids in *Drosophila* *Mutation Res.* 8: 111-125.
- SOBELS, F. H., 1972. A dose-fractionation study to determine how long breaks induced in various stages of spermatogenesis of *Drosophila* stay open. *Revue Suisse de Zoologie* 79: 143-152.
- SONNENBLICK, B. P., 1950. The Early Embriology of *Drosophila melanogaster*. In: Demerec, M. (Ed.) *Biology of Drosophila*. John Wiley and Sons, New York: 62- 167, 66, figs., 2 tabl.
- STRANGIO, V. A., 1962 Radiosensitivity during spermatogenesis in *Drosophila melanogaster*. *Am. Naturalist* 46 (888): 145-149, 1 fig., 1 tabl.
- SUSUKY, D. T., 1965. Effects of actinomycin D on crossing over in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 51: 11-21.
- TATES, A. D. y B. LEIGH, 1964. Differential radiosensitivity for lethals and XO males in the pupal testis. *Drosophila Inform. Serv.* 39: 108-109, 2 tabl.
- TIHEN, J. A., 1946. An estimate for the number of cell generations preceding sperm formation in *Drosophila melanogaster*. *Am. Naturalist* 80: 389-392, 1 fig., 2 tabl.
- WATSON, W. A. F., 1969. Studies on a recombination-deficient mutant of *Drosophila*. I. Dominant Lethals. *Mutation Res.* 8: 91-100
- WITKIN, E., 1956. Time, temperature and protein synthesis: a study of ultraviolet induced mutations in bacteria. *Cold. Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.* 21: 123.

WÜRGLER, F. E. y P. MAIER (1972). Genetic control of mutation induction in *Drosophila melanogaster*. I. Sex-chromosome loss in X-rayed mature sperm. *Mutation Res.* 15: 41-53.