

COLEGIO DE GRADUADOS
UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

MANUAL DE PRACTICAS DE GENETICA

CON

DROSOPHILA melanogaster M.

POR

LUIS SILVA RAMIREZ

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO

DE

MAESTRO EN CIENCIAS

ESPECIALIDAD EN FITOMEJORAMIENTO

BUENAVISTA, SALTILLO COAHUILA

FEBRERO 1979

COLEGIO DE GRADUADOS
UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

MANUAL DE PRACTICAS DE GENETICA

CON

DROSOPHILA melanogaster M.

APROBADA POR:

COMITE REVISOR



BIBLIOTECA
EGIDIO G. REBONATO
BANCO DE TESIS
U.A.A.A.N.

C. Villarreal

PROFRA. CLOTILDE VILLARREAL AGUIRRE

Gustavo Olivares

ING. M. C. GUSTAVO OLIVARES

H. Alvarado

ING. M. C. HUMBERTO ALVARADO SANCHEZ

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA

FEBRERO 1979

I N D I C E

	Pag.
CAPITULO 1.- INTRODUCCION	<u>1</u>
CAPITULO 2.- CLASIFICACION Y CICLO BIOLOGICO DE <u>DROSOPHILA melanogaster</u> M.	<u>4</u>
CAPITULO 3.- MATERIALES Y EQUIPO	<u>13</u>
MATERIAL BIOLOGICO	<u>13</u>
EQUIPO NECESARIO PARA EL MANEJO Y OBSERVACION DE <u>D. melanogaster</u> M.	<u>17</u>
MANTENIMIENTO Y CONSERVACION DE <u>D. melanogaster</u> M.	<u>20</u>
MEDIOS DE CULTIVO	<u>20</u>
CAPITULO 4.- PRACTICAS DE MANEJO DEL MATERIAL EXPERIMENTAL	<u>26</u>
TRASBASADO DE MOSCAS	<u>26</u>
ANESTESIADO DE MOSCAS	<u>27</u>
SEXADO DE ADULTOS	<u>29</u>
IDENTIFICACION DE MUTANTES	<u>31</u>
CAPITULO 5.- HERENCIA DETERMINADA POR UNO Y DOS PARES DE GENES	<u>33</u>
EL MONOHIBRIDO	<u>37</u>
RETROCRUZA DE UN MONOHIBRIDO	<u>39</u>
EL DIHIBRIDO	<u>40</u>
RETROCRUZA DE UN DIHIBRIDO	<u>42</u>
CAPITULO 6.- PRACTICAS SOBRE HERENCIA LIGADA AL SEXO	<u>44</u>
CAPITULO 7.- PRACTICAS DE ALELOS MULTIPLES EN CROMOSOMAS SEXUALES DE <u>D. melanogaster</u> M.	<u>48</u>

	Pag.
CAPITULO 8.- PRACTICAS DE LIGAMIENTO FACTORIAL	<u>53</u>
HERENCIA LIGADA AUTOSOMICA	<u>57</u>
HERENCIA LIGADA EN CROMOSOMAS SEXUALES	<u>59</u>
CAPITULO 9.- CROMOSOMAS POLITENICOS	<u>63</u>
CAPITULO 10.-ALGUNAS PRACTICAS EN GENETICA DE POBLACIONES	<u>67</u>
FERTILIDAD	<u>68</u>
PESO CORPORAL	<u>70</u>
CURVA DE FERTILIDAD	<u>71</u>
VIABILIDAD HUEVO ADULTO	<u>72</u>
SELECCION	<u>74</u>
CAPITULO 11.-DETECCION DE GENES LETALES	<u>79</u>
DETECCION DE GENES LETALES LIGADOS AL SEXO	<u>79</u>
DETECCION DE GENES LETALES PARA EL CROMOSOMA II	<u>80</u>
APENDICE	
MAPAS GENETICOS	<u>90</u>
CUADRO SINOPTICO DE MUTANTES	<u>91</u>
TABLA DE DISTRIBUCION DE χ^2	<u>92</u>
PROVEEDORES DE LINEAS MUTANTES	<u>93</u>
PROVEEDORES DE MATERIAL Y EQUIPO	<u>94</u>
PREPARACION DE COLORANTES	<u>95</u>
PREPARACIONES PERMANENTES	<u>96</u>
APLICACION DE ETIL METANO SULFONATO	<u>98</u>
REFERENCIAS	<u>99</u>

CAPITULO 1

I N T R O D U C C I O N

Durante los días 28 y 29 de junio de 1977, se efectuó una reunión nacional de catedráticos de la materia de Genética General de escuelas de Agricultura, convocada por A. M. E. A. S. (Asociación Mexicana de Educación Agrícola Superior), que tuvo lugar en la Universidad Nacional de Agricultura en Chapingo, estado de México. En ella se trataron temas de vital importancia referente a los programas analíticos y prácticas correspondientes a dicha materia. En esa reunión se elaboró un programa para el curso de Genética - General, mismo que se recomienda a todas las instituciones de educación agrícola superior de la República; además se consideró necesario elaborar un programa de prácticas con el fin de reforzar la teoría, recomendándose uno de los materiales biológicos de mayor utilidad en los laboratorios de Genética: la mosca del vinagre Drosophila melanogaster M.

En virtud de que solo unas cuantas instituciones de educación superior contaban con un laboratorio de Drosophila, se juzgó pertinente que se promoviera en las demás escuelas de Agricultura del país el establecimiento de laboraria

torios similares, como apoyo didáctico en la enseñanza de la Genética General.

Uno de los problemas del instructor de genética general, es la demostración práctica de los tópicos comprendidos en el curso, pues la duración del ciclo escolar hace difícil o imposible la utilización de animales y plantas de ciclo largo; sin embargo, la D. melanogaster M. reúne características que la hacen un material biológico excelente para prácticas de laboratorio de Genética. A continuación se mencionan las principales de dichas características:

- a).- Baja biomasa.
- b).- Corto ciclo de vida.
- c).- Alta prolificidad (200 a 300 descendientes por pareja).
- d).- Numerosos fenotipos mutantes fáciles de distinguir en adultos.
- e).- Número reducido de cromosomas.
- f).- Fácil manejo.
- g).- Bajo costo de mantenimiento.
- h).- Cromosomas gigantes en las glándulas salivales de la larva.

Este insecto díptero carece de importancia agronómica por no causar daños a las plantas en forma directa; sin embargo cabe la posibilidad de que sea vector de enfermedades

• debido a que utiliza las crevices de árboles y plantas para refugiarse.

La principal importancia que posee la mosca es su utilidad en el estudio y la investigación de la genética. Debido a las cualidades antes mencionadas y al gran acervo de conocimientos que se han obtenido sobre genética, la mosca ha ocupado un lugar preponderante entre todas las demás especies que han sido motivo de estudio en este campo.

El presente manual de laboratorio de genética con D. melanogaster M., tiene la finalidad de contribuir a la enseñanza práctica de la mayor parte de los temas que comprenden el curso de Genética General a nivel licenciatura, e incluye orientaciones para el manejo de este insecto bajo condiciones de laboratorio, así como para el establecimiento del propio laboratorio.

CAPITULO 2

CLASIFICACION Y CICLO BIOLOGICO DE DROSOPHILA melanogaster M.

CLASIFICACION.- La mosca de la fruta o del vinagre, fué clasificada por Meigen en 1830 y corresponde a:

CLASE..... INSECTA
 ORDEN..... DIPTERAE
 FAMILIA..... DROSOPHILIDAE
 GENERO..... DROSOPHILA
 ESPECIE..... melanogaster

La mosca D. melanogaster M., como todos los insectos de metamorfosis completa, tiene su ciclo que comprende cuatro fases importantes que son: huevo, larva, pupa o crisálida y adulto. Todo este proceso se lleva a cabo en diez días cuando la temperatura es constante de 25°C más o menos 1°C; si la temperatura es inferior, por ejemplo 20°C, el ciclo se alarga hasta 15 días; si la temperatura se eleva a algo más de 27°C puede originar esterilidad en los adultos, o aún producir letalidad.

FASE DE HUEVO.-

El huevo o cigote se forma por la unión de un óvulo y un espermatozoide; dicha unión ocurre en el oviducto de la mosca hembra; ésta almacena el semen del macho en una cavi-

dad especial llamada ESPERMATECA; los óvulos se van fecundando a medida que maduran.

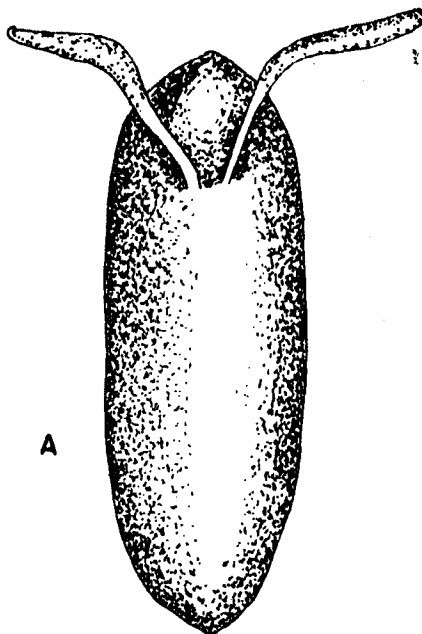


Fig. 1 Huevo de D. melanogaster M., mostrando su forma y ganchos de fijación.

El huevo, que es blanco lechoso de forma ovoide, de aproximadamente medio milímetro de largo, posee dos ganchos en uno de sus extremos, que le sirven para fijarse, y le impide que se hunda en el alimento (fig. 1).

Bajo condiciones de cultivo, la hembra ovipone sobre el alimento que contienen los pomos, introduciendo los huevecillos ligeramente en la masa de consistencia gelatinosa. De esta forma, cada huevo queda en contacto con el alimento y a la vez con la atmósfera, de donde toma el oxígeno para su respiración.

FASE LARVARIA.-

Aproximadamente 24 horas después de que el huevo es ovipositado, eclosiona y emerge una larva segmentada de escaso medio milímetro de longitud, de color blanco transparente, - cilíndrica, acunada por sus extremos. Circundando a cada segmento existen pequeñas setas que ayudan en la locomoción. La larva sufre dos mudas o ecdisis y pasa por tres estadios; - una vez completo el tercero, la larva ha alcanzado una longitud de 4 - 5 milímetros.

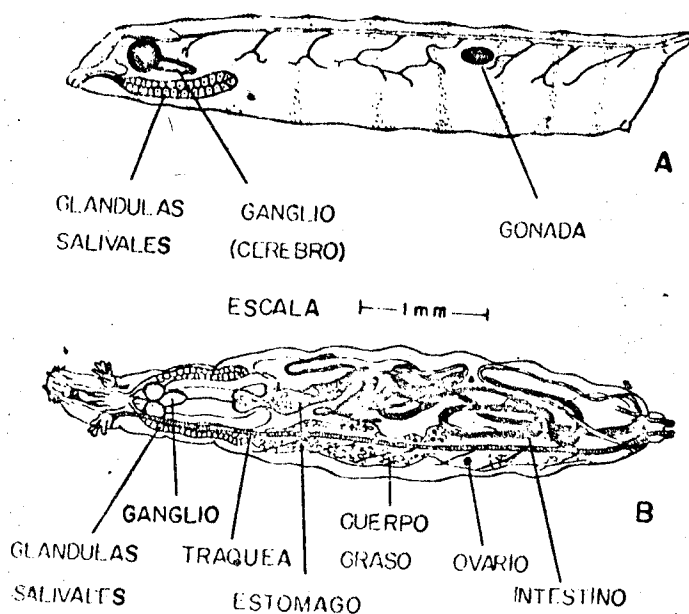


Fig. 2. Larva de D. melanogaster M. en el tercer estadio. A).- Vista lateral, B).- vista ventral.

La parte anterior de la larva está provista de una cabeza imperfecta, en la que se puede apreciar la boca que co-

munica con la faringe, provista ésta de un par de mandíbulas de color negro, las cuales pueden observarse en movimiento constante. Las dos glándulas salivales comunican a la faringe por medio de un solo ducto (fig. 2).

Las gónadas se encuentran entre los cuerpos grasos en la mitad posterior del cuerpo. Los testículos de una larva macho son de mayor tamaño que los ovarios de una larva hembra en el mismo estadio. Puesto que las gónadas pueden verse a través de la larva, el sexo de la misma puede ser identificado desde este estado de evolución. Esta identificación es muy útil en ciertos tipos de trabajos en que se necesitan solamente larvas de un sexo.

Un par de tráqueas recorren el cuerpo de la larva; éstas se ramifican profusamente por todo el cuerpo y se abren al exterior, por medio de un par de espirales posteriores y otro de espirales anteriores más pequeñas.

Desde el momento que aparecen las larvas, inician una alimentación tan voraz, que forman galerías en el sustrato alimenticio. Estas galerías indican que el cultivo se desarrolla satisfactoriamente. La duración del estado larvario es de 5 días a 25°C.

* FASE DE PUPACION.-

Una vez que la larva ha alcanzado su tercer estadio y procede a iniciar su pupación, cesa su alimentación, tiende

a subir por la pared del frasco o del papel en el medio de cultivo y pierde su movilidad.

La *Drosophila* forma su pupa dentro de la piel de la larva, la cual es al principio blanca y suave, pero progresivamente se endurece y se hace más oscura. La pupa tiene una longitud de 3 milímetros.

Cuando está próxima la emergencia del adulto, la cubierta es un poco transparente, pudiéndose observar algunos rasgos como: prominencia y tonalidad de los ojos, longitud abdominal y las bandas claro-oscursas de los segmentos del abdomen.

El tiempo que dura la fase puparia es de 4 a 6 días - dependiendo de la temperatura del medio.

En esta fase se llevan a cabo complicadísimas transformaciones que incluyen fenómenos de "histolisis" consistentes en la transformación del tejido de la larva a líquido, y de "histogénesis" que se refiere a la modificación de líquido a tejido, con el resultado final de formarse tejidos totalmente diferentes a los de la larva.

FASE ADULTA.-

El imago emerge de la pupa a través de una abertura -- que forza en el extremo anterior por medio de un apéndice -- o proyección denominado pitilinum, que se localiza en la re

gión cefálica y desaparece tan luego como emerge la mosca.--

El imago en un principio es de color claro, de abdomen alargado y sus alas permanecen plegadas en forma de abanico. En corto tiempo se despliegan las alas y la mosca gradualmente toma la forma y coloración del adulto.

En el adulto los segmentos o metámeros están agrupados en tres regiones principales: la cabeza, el tórax y el abdomen. En la cabeza se observan ciertos apéndices tales como: los ojos, las antenas, y las partes de la boca, pero no se observa otra indicación de metamerismo. En el tórax, se encuentra un par de alas y el segundo como ocurre generalmente en los insectos, está reducido a un par de balancines o halterios (rudimentos de alas).

Los ojos están compuestos de 750 omatidios aproximadamente. La parte externa de los omatidios se llama faceta y es de forma hexagonal. En la parte superior de la cabeza pueden observarse tres ojos simples llamados ocelos.

En los diagramas de la fig. 3 se muestran algunas de las principales características morfológicas del adulto.

CARACTERÍSTICAS SEXUALES.-

Es necesario diferenciar con claridad las hembras de los machos para realizar cruces entre líneas diferentes. A continuación se citan algunas de las características sexua--

les de la mosca adulta.

- 5) a).- Organos genitales externos: En el macho se observa en la parte posterior del abdomen el pene, arco genital y placa anal, mientras que en la hembra, el abdomen termina en un ovipositor que comprende la placa vaginal y anal. (fig. 3).
- a) b).- Franjas claro-oscureas del abdomen: Hay cinco, en la hembra; tres en el macho. (fig. 4).
- c).- Peines sexuales: Presentes en el macho, ausentes en la hembra. El peine sexual está situado en el primer tarso basal de las patas delanteras y consta de diez cerdas - aproximadamente situadas en hilera. (fig. 5).

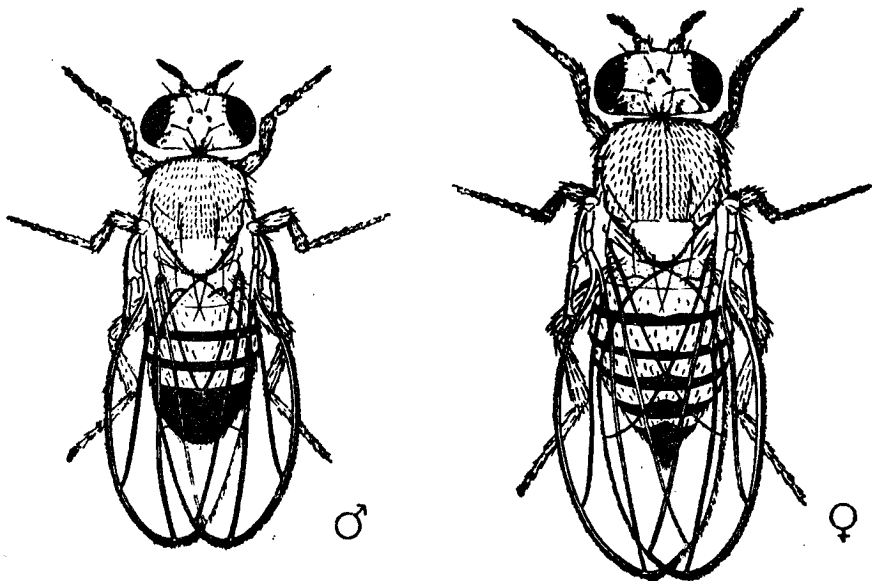


Fig. 4. Moscas adultas de D. melanogaster M. mostrando las bandas claro-oscureas del abdomen, tamaño y proporciones de ambos sexos. (de T. H. Morgan).

d).- Tamaño: Aunque el tamaño depende de la nutrición y de otros factores ambientales, en términos generales las hembras son más grandes que los machos. (fig.4).

El adulto madura sexualmente a las 24 horas después de haber emergido de la pupa, detalle de suma importancia en la obtención de hembras vírgenes para la programación de cruzas; por lo tanto es recomendable aislarlas del cultivo a intervalos de 8 horas.

La longevidad de la mosca es de 45 días aproximadamente dependiendo de las condiciones del medio y durante su vida una hembra puede ovipositar de 200 a 300 huevecillos.

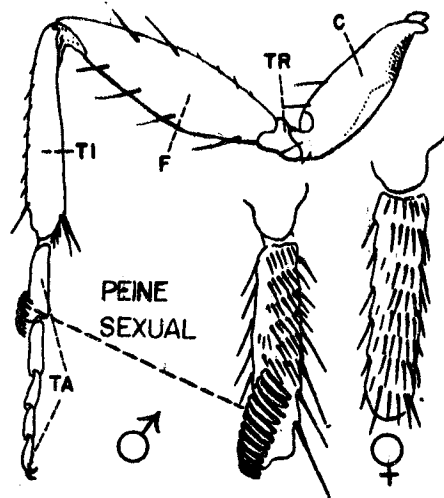


Fig. 5. Diagrama de la pata anterior del macho y de la hembra, mostrando el peine sexual (del macho). C. Coxa; TR, trocanter; F, fémur; TI, tibia; TA, tarsos. (Demerec y Kaufmann 1962).

CAPITULO 3

MATERIALES Y EQUIPO.-

MATERIAL BIOLÓGICO.- A continuación se describen las líneas de *Drosophila* propuestas para utilizarse en las prácticas de este manual.

LINEA SILVESTRE.- (++)). Esta línea es la que posee todos los alelos que producen el fenotipo normal, mismas que son dominantes en su mayoría sobre los mutantes encontrados en esta especie, sus características son como siguen: tamaño aproximado dos milímetros, medidos desde la cabeza hasta la parte terminal del abdomen, color ámbar con franjas negras en el abdomen, venas alares bien definidas, sin escotaduras, cabeza oval, ojos prominentes circulares de color rojo, setas rectas con terminación acicular (aguja), escute cuneiforme de coloración café, abdomen con cinco segmentos con bandas oscuras por la parte dorsal, la parte terminal del abdomen es de tonalidad negra para ambos sexos, con la diferencia de que en el macho esa franja es más amplia (fig. 4).

LINEA BLACK BODY.- (b). Línea mutante para color oscuro del cuerpo, el gene se encuentra localizado en el cromosoma II en posición 48.5.

LINEA CROSSVEINLESS.- (cv). Esta línea se caracteriza por no poseer venas cruzas en sus alas. El gene responsable se encuentra en el cromosoma I en posición 13.7.

* LINEA CURLY.- (Cy). Esta línea mutante tiene la característica de alas rizadas; el gene responsable se encuentra localizado en el cromosoma II en posición 7.0.

LINEA DUMPY.- (dp). Mutante de D. melanogaster M. que se tipifica por tener sus alas recortadas, el gene que determina este carácter está situado en el cromosoma II en posición - 13.0.

LINEA EBONY.- (e). Mutante que afecta el color del cuerpo de la mosca, que es de color negro. El alelo en esta línea mutante se localiza en el cromosoma III en posición 70.7. Los imagos recién salidos de las pupas poseen un color claro, -- por lo que se recomienda dejarlos algunas horas para que tomen su coloración característica.

LINEA FORKED.- (f). El carácter forked de esta línea mutante se refiere a las setas o cerdas que aparecen furcadas, dando aspecto de quebradas y dobladas en la parte terminal; generalmente son más cortas y gruesas que las normales. El gene correspondiente se encuentra localizado en el cromosoma I en posición 56.7 por lo que se hereda ligado al sexo.

LINEA LOBE.- (L). Esta línea mutante se distingue por poseer ojos de tamaño reducido, con una muesca en el borde. El gene que determina esta característica se encuentra en el cromosoma II en posición 72.0.

. LINEA PLUM.- (Pm). Línea mutante que se caracteriza por el color ciruela de los ojos. El gene Pm se encuentra en el cromosoma II en posición 104.5.

LINEA SEPIA.- (se). Línea que posee ojos cafés rojizos que se oscurecen hasta sepia con la edad; el gene se encuentra en el cromosoma III en posición 26.0.

LINEA SCUTE.- (sc). Esta mutante se distingue por tener tres o menos setas en el escutelum, en lugar de las 4 que se encuentran en la línea silvestre; el gene responsable de este carácter se localiza en el cromosoma I en posición 0.0.

LINEA SPINELESS.- (ss). Mutante que se tipifica por tener sus setas reducidas o ausentes; el gene se encuentra en el cromosoma III en posición 58.5.

LINEA VERMILION.- (v). Mutante que se caracteriza por su color de ojos que son de un rojo brillante, un poco más claros que el silvestre. El gene v se encuentra situado en el cromosoma I en posición 33.0.

5X LINEA VESTIGIAL.- (vg). Esta línea mutante se distingue con facilidad por poseer alas muy pequeñas rudimentarias que le impiden volar. El gene que determina esta condición se encuentra en el cromosoma II en posición 67.0.

LINEA WHITE APRICOT.- (wa). En esta línea, el color de los ojos es chabacano (amarillo rosado); el gene responsable de esta coloración se encuentra en el cromosoma I en posición -

1.5, por lo que se hereda ligado al sexo.

⑤ LINEA WHITE.- (w). Esta línea se distingue por presentar el carácter de ojos blancos. El gene w es alélico de w^a , por lo que se localiza en el mismo locus.

LINEA YELLOW.- (y). Mutante para cuerpo amarillo cuyo gene se localiza en el cromosoma I en posición 0.0.

EQUIPO NECESARIO PARA EL MANEJO Y OBSERVACION DE DROSOPHILA
melanogaster M.

En esta sección se incluye una lista de los materiales más usuales en un laboratorio donde se estudia la Drosophila. En el apéndice, se encuentran mayores especificaciones acerca de estos materiales y equipo, incluyendo el directorio de algunos proveedores.

1 AGUJAS DE DISECCION.- Se utilizan para el manejo de las moscas o larvas sobre la platina.

2 ANESTESIADORES.- Es necesario anestesiar a los mosquitos para su manipulación. Como anestesiador puede utilizarse una mota de algodón, los mismos tapones o el típico anestesiador que se elabora con un tapón de corcho, de diámetro apropiado para las bocas de los pomos. Al que se le introduce parcialmente un tornillo por la cara del diámetro menor, dejando la cabeza del mismo fuera del corcho, donde se le sujeta con hilo una pequeña mota de algodón forrada con gasa.

3 COLORANTES.- Los más utilizados en la observación de cromosomas gigantes en glándulas salivales de larvas son: aceto-carmín y aceto-orceína. (para su elaboración ver apéndice).

4 CRISTALERIA.- Es necesario que el laboratorio cuente con: porta-objetos y cubre-objetos, platinas de vidrio (son adecuadas de 15 cms. de largo por 12 cms. de ancho y 5 mm. de grosor), frascos lecheros de 1/4 de litro, frascos pequeños

de 60 y 100 ml. de fondo plano, tazón o recipiente de boca ancha, vasos de precipitado de 250 - 500 ml., y probetas de 10 - 50 ml..

④ HORNO ESTERILIZADOR.- Es importante que el laboratorio cuente con un horno esterilizador para desinfectar los medios de cultivo y evitar infecciones fungosas. Existen en el mercado un sinnúmero de marcas y dimensiones, pero para las necesidades de esterilización basta con que la temperatura se eleve hasta 75°C., por espacio de 3 horas.

⑥ LAMPARAS PARA MICROSCOPIO.- Con la finalidad de iluminar el campo del microscopio, se hace necesario contar con dichas lámparas.

MICROSCOPIOS.- En la mayor parte de las prácticas incluidas en este manual se requieren microscopios estereoscópicos, se recomienda el American Optical o Zeiss que posean suficiente espacio entre el objetivo y la platina, con el fin de facilitar la manipulación del material en observación. Los aumentos recomendados para este microscopio son 10, 20, y 40 X. Los microscopios compuestos son necesarios para la observación de cromosomas politénicos. Se recomiendan aumentos de 100, 200 y 400 X.

⑦ PARRILLA.- Para la elaboración del medio de cultivo, es necesario que los ingredientes del alimento se sometan a cocción; sin embargo puede substituirse por un mechero u otro aparato que permita que hiervan los alimentos.

① PINCELES.- Con el objeto de no dañar a las moscas, se manejan con pinceles suaves de pelo de camello. Se recomiendan pinceles del número 3.

PINZAS.- Instrumentos prácticos para la disección.

RED PARA CAPTURA.- Las redes empleadas en la captura de moscas, son del todo semejantes a las utilizadas en Entomología, solo que de diámetro menor, aproximadamente de 30 a 50 centímetros de diámetro. Puede adaptárseles un cono en el extremo de la red, con un diámetro igual al de los frascos o pomos de cultivo, para facilitar el traslado de las moscas de la red al frasco.

③ TAPONES.- Los tapones que se usan para los pomos de los cultivos, son elaborados con algodón cubierto con gasa, la cual se sujeta con hilo; el tamaño será el adecuado para que cubra la boca del pomo, lo suficientemente ajustado para evitar que las moscas se salgan permitiendo el paso del aire.

Los tapones pueden esterilizarse y usarse repetidas veces.

TAZON COLECTOR DE MOSCAS DE DESECHO.- Es necesario contar con un recipiente abierto (como un frasco de boca ancha), al cual se le pone aceite de cualquier viscosidad, para depositar todas aquellas moscas que se desechan. El aceite quemado de motores es adecuado para este uso.

TRAMPAS.-- En la colección de moscas silvestres se utilizan trampas que consisten en recipientes de boca amplia, que puedan contener aproximadamente un kilo de plátano bien maduro. La misión del plátano es obrar como atrayente de las moscas.

MANTENIMIENTO Y CONSERVACION DE D. melanogaster M.

51 MEDIOS DE CULTIVO.-- Hay numerosas fórmulas para la elaboración de medios de cultivo para Drosophila. Aquí se han incluido algunas de las más usuales.

De las fórmulas que se mencionarán, la primera es la que se recomienda preferentemente.

Los ingredientes de esta fórmula son los siguientes:

	1 Lt.	2Lts.	3 Lts.	4 Lts.	5 Lts.
Agua destilada					
Agar	12 g.	24 g.	36 g.	48 g.	60 g.
Harina de maíz (maseca)	50 "	100 "	150 "	200 "	250 "
Azúcar	28 "	56 "	84 "	112 "	140 "
Dextrosa	20 "	40 "	60 "	80 "	100 "
Levadura de cerveza	12 "	24 "	36 "	48 "	60 "
(.) Acido propiónico	4 cc.	8 cc.	12 cc.	16 cc	20 cc.
(.) Tegosept	4 "	8 "	12 "	16 "	20 "

INSTRUCCIONES

51 a).-- Esterilice los frascos lecheros de 1/4 de litro (pomos) durante 3 horas a 75°C. al horno.

(.)-- El ácido propiónico y el tegosept, se utilizan para inhibir el crecimiento de hongos; puede prescindirse del tegosept.

- b).- Disuelva el agar en agua destilada hirviendo.
- c).- Mezcle la harina, azúcar y dextrosa con la solución anterior poniendolos al fuego hasta el punto de ebullición y agite, después de 20 minutos retire del fuego.
- d).- Agregue levadura de cerveza disuelta en agua destilada (200 cc. de agua destilada por cada 12 gramos de levadura); si se utiliza pastillas de levadura se logrará su disolución poniendolas con bastante anticipación en el agua destilada.
- e).- Enfríe hasta que alcance la temperatura de 60°C. y agregue el ácido propiónico y el tegosept (.) agitando por tres minutos. No mezcle el ácido propiónico y el tegosept.
- f).- Vierta el alimento en frascos esterilizados, procurando que el espesor no sea menor de un centímetro.
- Después de 12 horas de preparado el alimento y colocado en sus respectivos frascos, se introduce en cada pomo una tira de papel de servilleta higiénica de 2 centímetros de ancho esterilizada previamente; dicho papel tiene por finalidad recoger la humedad excedente y a la vez servir como apoyo para moscas y lugar de fijación de pupas.

(.).- Puede prescindirse del tegosept.

OTROS MEDIOS DE CULTIVO.- (segun Demerec y Kaufmann 1962).- -

	MEDIOS DE CULTIVO DE:			
	1) Plátano	2) Maíz	3) Avena	4) Trigo
Agua	47.8	74.3	72.7	77.5 cc.
Agar	1.5	1.5	----	---- g.
Pulpa de plátano	50.0	----	----	---- "
Melaza o miel karo	----	13.5	11.0	11.5 cc.
Harina de maíz	----	10.0	14.0	---- g.
Avena descortezada (no de rápido cocimiento).	----	----	1.6	---- g.
Crema de trigo	----	----	----	10.3 "
Tegosept (10% en alcohol al 95%)	0.7	0.7	0.7	0.7 cc.

Las fórmulas de los medios de cultivos anteriores, están consideradas para 100 gramos de alimento.

1).- MEDIO DE PLATANO.- Se disuelve el agar en agua mediante calentamiento hasta el punto de ebullición. Después se agrega la pulpa de plátano y el tegosept, recalentando sin hervir. La pulpa se obtiene de plátanos sobremaduros aplastándolos con un tenedor o empleando un molidor para carne, una licuadora o cualquier otro utensilio adecuado para ese fin.

2).- MEDIO DE HARINA DE MAIZ.- Disolver el agar mediante ebullición en dos tercios de la cantidad de agua que se va a emplear. Agregar melaza o miel karo y hervir de nuevo. En otro recipiente se mezcla la harina de maíz con el tercio restante

de agua fría; se vierte esta mezcla en la solución hirviente - de agar-melaza. A continuación se agrega el tegosept y se cocina durante algunos minutos, agitando constantemente hasta que el medio de cultivo al enfriarse forme una gelatina.

3).- MEDIO DE HARINA DE MAIZ, MELAZA Y AVENA DESCORTEZADA.-

En dos tercios del volumen del agua disponible, se pone - la melaza y la avena y se calienta hasta hervir. Se mezcla la harina de maíz con el agua fría restante y se vierte en la solución en ebullición. Se cocina la mezcla durante algún tiempo para que al enfriarse tome consistencia gelatinosa en los envases. Agite mientras agrega tegosept. Esta comida a veces se - ablanda cuando empiezan a emerger los imagos. Agregando una pequeña cantidad de agar disuelto en agua hirviendo antes de la melaza y de la avena (ver fórmula para el medio de harina de - maíz) se evitará la pérdida de consistencia del medio.

4).- MEDIO DE CREMA DE TRIGO.- Este medio fué ideado originalmente por Spassky de la Universidad de Columbia, para eliminar el empleo de agar.

A dos tercios del agua se le agrega la melaza y el tegosept, calentando hasta punto de ebullición. Se mezcla después la crema de trigo con el agua fría restante y se vierte en la solución hirviente. A partir de este momento se agita de continuo para evitar que se queme la mezcla. Después de un segundo hervor, se cocina hasta lograr la consistencia requerida.

Al terminar la preparación de cualquiera de los medios - antes descritos, se deberá depositar inmediatamente en los - frascos esterilizados, procurando que no sea menor de un centímetro de espesor.

INCUBADOR O SUBSTITUTO.- Existen en el mercado incubadores pa tentados de diferentes capacidades con la instrumentación ade cuada para el control de temperaturas.

Como sustituto de incubador, puede emplearse un cuarto - pequeño con estanterías y calefactor con termostato automáti- co para mantener la temperatura adecuada.

Cualquiera que sea el incubador, éstos deberán desinfec- tarse periódicamente para evitar infecciones fungosas.

CAJAS DE POBLACION.- Las cajas de población que se utilizan, son elaboradas con paneras de plástico transparente para que se pueda observar a través de las paredes. En la cara del fondo, se hacen orificios del tamaño de la boca de los frascos - de cultivo que tienen la capacidad de 60 a 100 cc. y de fondo plano (tarro). La contra-rosca del frasco se une al borde del orificio con algún material adherente; el número de frascos - puede ser variable (de 8 a 12).

Es necesario que la caja tenga ventilas de 3 centímetros de diámetro a los cuales se adhiere una malla fina que permi ta la entrada y salida de aire. En la tapadera superior se le hacen 2 orificios de 3 centímetros de diámetro que sirven --

para la extracción de las moscas, los cuales se obturan con tapones de corcho o de algodón (fig. 6)

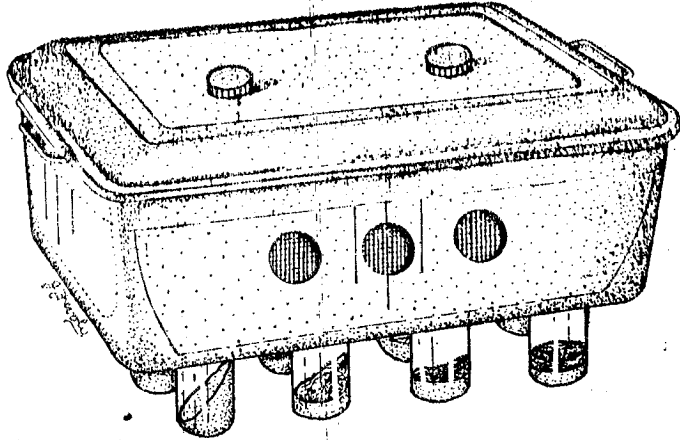


Fig. 6. Caja de población para D. melanogaster M.
(Levine, Schwartz 1973).

CAPITULO 4

PRACTICA NUM. 1No PRACTICAS DE MANEJO DEL MATERIAL EXPERIMENTAL
← 51

Materiales:

- a).- Pomos con moscas.
- b).- Pomo limpio sin moscas.

TRASBASADO DE MOSCAS.- En el manejo de las moscas adultas, es necesario adquirir cierta habilidad para traspasar de un pomo a otro, sin que se salgan las moscas. Para ello, se recomienda tomar el pomo que contiene a los adultos, darle una ligera sacudida sobre un trapo, esponja, tapón de hule de diámetro mayor que la base de los pomos, u otro material que le sirva de amortiguador; una vez que las moscas han caído al fondo -- del frasco, inmediatamente se quita el tapón y se hace coincidir la boca del nuevo pomo al cual se va a trasbasar, se invierte la posición y de nuevo se sacude golpeando el fondo -- del pomo limpio sobre el amortiguador, con el fin de que las moscas caigan al frasco opuesto; de inmediato se separan y tapan los pomos. Este proceso se realiza en unos cuantos segundos. Se recomienda repetir esta operación tantas veces como sea necesario, hasta poderla practicar con rapidez y precisión.

ANESTESIADO DE MOSCAS

Materiales:

- a).- Eter etílico o cloroformo en frascos de gotero.
- b).- Pomo de cultivo (con moscas).
- c).- Pomo vacío.
- d).- Anestesiador.
- e).- Platina.
- f).- Caja de petri (con algodón interno).

METODOLOGIA DE PRACTICA.-

- 1.- De los pomos de cultivo se trasbasan las moscas que habrán de anesthesiarse a otro pomo sin alimento.
- 2.- Se toma el anestesiador y se le colocan de 3 a 4 gotas de éter etílico o cloroformo en la mota de algodón.
- 3.- Se destapa el frasco que contiene a las moscas (previa sacudida) y se cubre con el anestesiador.
- 4.- Se espera unos cuantos segundos hasta ver que las moscas han quedado inmovilizadas.

En este momento las moscas estarán listas para ser llevadas a la platina para su observación. Debe tenerse cuidado de no sobre-anestesiarse porque puede causarse la muerte a las moscas. Una mosca muerta se reconoce porque coloca las alas hacia arriba en un ángulo de 45°.

Cuando las moscas anestesiadas empiecen a recobrar la movilidad, es necesario volver a inmovilizarlas colocándoles en

cima una tapa de caja de petri suficientemente amplia para - que cubra las moscas en proceso de estudio; dicha tapa debe llevar adherida una esponja o una pequeña mota de algodón -- con cinta adhesiva por la parte interna, donde se le coloca el éter o cloroformo; se dejan nuevamente unos cuantos segun dos hasta que se inmovilicen y se continúa la observación.

Al introducir los adultos anestesiados a los pomos de - cultivo, debe procurarse que las moscas no caigan sobre el - alimento húmedo; sino que los pomos se colocan de lado hasta que haya pasado el efecto de la anestesia.

SEXADO DE ADULTOS

Materiales:

- a).- Pomo de cultivo (con moscas).
- b).- Pomo limpio.
- c).- Anestesiador.
- d).- Eter o cloroformo en frasco gotero.
- e).- Agujas de disección.
- f).- Pinceles.
- g).- Platina de vidrio.
- h).- Microscopio de disección.

Para esta práctica se le dará al alumno un pomo de cultivo que contenga unas 50 moscas para su sexado. Cada cultivo estará numerado y el instructor tendrá el registro correspondiente.

METODOLOGIA DE PRACTICA.-

- 1.- Trasbase a pomo limpio las moscas a sexar.
- 2.- Anestesie las moscas hasta su inmovilización; si no se van a emplear posteriormente, sobre-anestesie hasta matarlas, de esta manera se puede emplear el tiempo necesario para adquirir práctica en este paso.
- 3.- Coloque las moscas alineadas sobre la platina (vidrio). Puede trabajarse con grupos de 10 a 20, dejando el resto en un pomo. Las moscas pueden ser alineadas sobre una tarjeta de cartoncillo para recorrerlas al campo visual del microscopio a medida que se van a sexar.

- 4.- Proceda a sexar a cada una de las moscas teniendo a mano la lista de características sexuales que se mencionan en este manual.
- 5.- Una vez sexada la población, proceda a contarlas y a calcular la proporción sexual resultante. Como la herencia del sexo es en proporción 1:1, los valores que se observan en una población deben aproximarse a esa proporción.
- 6.- Registre sus datos y pruebe la hipótesis de que las hembras y machos se encuentran en proporción 1:1.
- 7.- Sume sus datos a los obtenidos por sus compañeros de clase, y aplique nuevamente la prueba de χ^2 para analizar el resultado total.

NOMBRE _____ CALIF. _____

PRACTICA NUM. 3 FECHA. _____

GRUPO O SECCION _____

NUM. ♀♀	NUM. ♂♂
<u>4</u>	<u>4</u>

SEXO	NUMERO OBS.	NUMERO ESP.	O-E	/O-E/- .5	(/O-E/- .5) ²	(/O-E/- .5) ² E
HEMBRAS	4	e1				
MACHOS	4					
TOTAL	8					X ² =

PROBABILIDAD: _____
 DECISION: _____

CALCULO DE X² (RESULTADOS TOTALES)

Handwritten calculations:
 1/2 1/2
 2 4
 1

PRACTICA NUM. 4

IDENTIFICACION DE MUTANTES

Materiales:

- a).- Pomos con mezclas de líneas mutantes.
- b).- Pomos limpios.
- c).- Utensilios de manejo.
- d).- Microscopio de disección.

En esta práctica se le proporcionará al estudiante, pomos conteniendo mezclas de líneas mutantes; mismas que deberá identificar y separar en grupos, de acuerdo con las característi--cas propias de cada mutante.

Se registrarán los datos en el cuadro que se adjunta.

PRACTICA NUM. 4

CALIF. _____

N O M B R E
GRUPO O SECCION _____

FECHA: _____

IDENTIFICACION DE MUTANTES

Concentración de datos:

NUMERO DE POMO	MUTANTE (S)	TOTAL DE INDIV.	DESCRIPCION

PREGUNTAS:

- a).- ¿Cuántos tipos de herencia del sexo existen en los animales?.
- b).- ¿Qué entiende por heterocromosomas y qué por autosomas?.
- c).- Explique brevemente lo que significa haploide y diploide.
- d).- En *Drosophila*, ¿cuál de los progenitores determina el sexo?.
- e).- ¿Qué importancia tiene para las especies la herencia del sexo?.

PROBLEMAS.-

En el recuento de hembras y machos en 5 poblaciones de *D. melanogaster*, se obtuvieron los siguientes resultados:

POBLACION	# HEMBRAS	# MACHOS
1	191	188
2	94	109
3	163	141
4	36	33
5	986	972

- 1.- Calcule χ^2 para cada una de las 5 poblaciones anteriores.
- 2.- Determine para cada población la probabilidad con que puede aceptarse o rechazarse que la herencia del sexo es en proporción de 1:1.

CAPITULO 5

HERENCIA DETERMINADA POR UNO Y DOS PARES DE GENES

CONCEPTOS BASICOS.- Mendel estableció las leyes fundamentales de la herencia basándose en estudios realizados en chícharo (*pisum sativum*). En sus estudios utilizó líneas puras que diferían entre sí en una o varias características contrastantes.

Por ejemplo, cruzó plantas que exhibían flores rojas con plantas de flores blancas, observando que en la primera generación toda la descendencia presentaba el carácter "flores rojas". Al cruzar entre sí mediante autofecundación estas plantas F_1 , encontró en la siguiente generación (F_2) la reaparición de las dos características paternas, es decir, plantas con flores rojas y otras con flores blancas, en proporción respectivamente de $3/4 : 1/4$.

La reaparición en F_2 del fenotipo "flores blancas"; - mostró que esta característica había permanecido oculta en el híbrido F_1 , y por esta razón le llamó "factor recesivo" y "dominante", al que mostró su efecto en F_1 . (principio de dominancia).

Puesto que en el híbrido necesariamente se deben encontrar los dos factores (genes) para flores rojas y blancas, es evidente que éstos se separan durante la gametogénesis - y se reúnen en diferentes combinaciones durante la fertili-

zación, que ocurre al azar entre gametos masculinos y femeninos, dando así origen a la segregación 3 : 1 que se presentó en F_2 (Ley de la segregación).

En el siguiente cuadro se ilustra el comportamiento de los genes en F_1 y F_2 . El símbolo R se utiliza para indicar el gene que produce flores rojas (dominante), y r representa el alelo recesivo, responsable del carácter "flores blancas".

P..... RR X rr
 (F. rojas) (F. blancas)

F_1 Rr
 (F. rojas)

F_2

		R	r
R		RR rojas	Rr rojas
r		Rr rojas	rr blancas

En otros trabajos realizados por Mendel, tomó en cuenta simultáneamente el comportamiento de dos pares de características contrastantes en varias generaciones sucesivas, y encontró en la F_2 una segregación 9:3:3:1, que muestra la recombinación independiente de los dos pares de genes que controlan las características estudiadas, ya que para obtener la segregación mencionada, es necesaria la combinación al azar durante meiosis de los genes involucrados (Ley

de la recombinación independiente) y consecuentemente la formación de las diferentes clases de gametos que se producen en igual proporción, como se ilustra en el diagrama siguiente:

aproximación de gametos
 Genes considerados: A = semilla amarilla L = semilla lisa
 a = semilla verde l = semilla rugosa.

P..... AALL (s. amarilla lisa) X aa11 (s. verde rugosa)
 F₁..... AaLl (semilla amarilla lisa)
 Gametos..... AL 1/4 AL 1/4 aL 1/4 al 1/4

	AL	Al	aL	al
AL	AALL ¹ amarillo L.	AALl ² amarillo L.	AaLL ³ amarillo L.	AaLl ⁴ amarillo L.
Al	AALl ⁵ amarillo L.	AaLl ⁶ amarillo r.	AaLl ⁶ amarillo L.	Aall ⁷ amarillo r.
aL	AaLL ¹ amarillo L.	AaLl ⁸ amarillo L.	aaLL ⁹ verde L.	aaLl ¹⁰ verde L.
al	AaLl ⁴ amarillo L.	Aall ⁵ amarillo r.	aaLl ⁶ verde L.	aa11 ⁷ verde r.

Proporción fenotípica 9:3:3:1.

La ley de la recombinación independiente de genes no alélicos, no se aplica a los casos en que los genes están situados en el mismo cromosoma (genes ligados) y por lo tanto tienden a segregarse juntos durante meiosis por lo que no se producen todas las clases de gametos en igual proporción.

Dado que el mismo fenotipo puede ser el resultado de diversos genotipos, en ocasiones se hace necesario recurrir a cruzamientos especiales para determinar, por la segregación encontrada en la progenie, la conformación del genotipo del progenitor bajo estudio. Los cruzamientos más usuales son - los siguientes:

- a).- Prueba de retrocruza.- Consiste en aparear a un individuo de la F_1 con el progenitor recesivo. De esta forma la condición heterocigótica de los genotipos, se muestra porque reaparecen en alta proporción los fenotipos gobernados por genes recesivos por lo que la segregación será de 1:1 para un monohíbrido y 1:1:1:1 para un dihíbrido en cruza de prueba.
- b).- Prueba de progenie.- Se refiere al apareamiento de individuos de la F_1 entre sí para obtener la F_2 , y apreciar la segregación de las características controladas por los genes recesivos.

EL MONOHIBRIDO

Objetivo.- Demostrar objetivamente el principio de la dominancia y la ley de la segregación. Con este propósito se hará un cruzamiento entre una línea mutante para una característica recesiva y la línea silvestre, para observar la característica que domina en la generación F_1 . Se obtendrá la generación F_2 y se evaluará la segregación de las clases fenotípicas encontradas en la progenie.

Cruzamiento inicial: a).- Hembra silvestre por macho dumpy

Alternativas sugeridas:

b).- Hembra sabia por macho silvestre.

* c).- Hembra ebony por macho silvestre.

d).- Hembra silvestre por macho vestigial

Materiales:

a).- Cultivos recientes de las líneas ~~silvestre~~ ^{ebony y silvestre}

vestre.

b).- Microscopio de disección.

c).- Utensilios de manejo.

Metodología:

1.- Se separa a los progenitores del cultivo de la línea ~~silvestre~~ ^{que se desea} y se procede a sexar a los imagos a intervalos de 8 horas, separando a las hembras en nuevos pomos de cultivo.

- 2.- Una vez obtenidas las hembras vírgenes, se procede a realizar la cruce introduciendo en un pomo de cultivo, nuevo, 10 de estas hembras ~~y 5 machos de la línea dumpy.~~
- 3.- Al octavo día se eliminan los progenitores.
- 4.- Del décimo día en adelante empezarán a emerger la generación F_1 con la que se procede de la siguiente manera:
 - a).- Se separan 5 hembras vírgenes para utilizarlas en la práctica numero 6.
 - b).- Se separan 10 parejas F_1 y se pasan a pomos nuevos con el fin de obtener la F_2 .
 - c).- Se observa el fenotipo de esta generación, y se registran los resultados en el cuadro de datos. Se harán conteos sucesivos hasta revisar un mínimo de 150 moscas F_1 .
- 5.- Al octavo día de hacer la cruce $F_1 \times F_1$ (paso 4 - b), se eliminan los progenitores.
- 6.- Al décimo quinto día se evalúa la población y se registran los datos en la tabla correspondiente. Si no hay suficiente población (menos de 150 moscas), pueden hacerse nuevos conteos en los días sucesivos.

NOMBRE: _____

CALIF. _____

GRUPO ● SECCION _____

FECHA DE APAREAMIENTO _____

PRACTICA NUM. _____

FECHA DE REMOCION DE P. _____

P₁...

_____ X _____

FECHAS DE	CLASE FENOTIPICA	
TOTAL		

F₁...

FECHA DE APAREAMIENTO _____

FECHA DE REMOCION DE P. _____

P₂ o Rc...

_____ X _____

FECHAS DE	CLASES FENOTIPICAS	
TOTAL		
PROPORCION		
OBSERVACIONES		

F₂...

CALCULO DE X²

CLASES FENOTIPICAS	V.O.	V.E.	O-E	/O-E/- .5	(/O-E/- .5) ²	$\frac{(/O-E/- .5)^2}{E}$
TOTAL						X ² =

PROBABILIDAD =

DECISION:

Handwritten notes and a signature at the bottom right of the page.

PRACTICA NUM. 6

RETROCRUZA DE UN MONOHIBRIDO

Materiales:

- a).- Hembras vírgenes F_1 de la cruce anterior.
- b).- Cultivo de la línea dumpy.
- c).- Pomos para cultivo.
- d).- Utensilios de manejo.
- e).- Microscopio de disección.

METODOLOGIA DE PRACTICA.-

- 1.- Se toman la hembras vírgenes F_1 que se obtuvieron en la práctica 5 (paso 4-b).
- 2.- Se toman machos de la línea mutante dumpy, misma que intervino en la cruce anterior.
- 3.- Se realiza la cruce en pomos nuevos introduciendo 10 hembras por 5 machos por pomo.
- 4.- Al octavo día se eliminan los adultos (progenitores)
- 5.- Al décimo quinto día se evalúa a la población y se registran los datos en la tabla.
- 6.- Se realizan los cálculos necesarios y se obtienen las conclusiones.

6.50
1.10
1.10

PRACTICA NUM. 7

EL DIHIBRIDO

Objetivo.- Demostrar objetivamente el principio de la dominan
cia y la ley de recombinación independiente. Con
este propósito se hará un cruzamiento entre dos --
líneas mutantes para una característica recesiva -
diferente, para observar los caracteres que domi--
nan en la generación F_1 . Se obtendrá la generación
 F_2 y se evaluará la segregación de las clases feno
típicas encontradas en la progenie.

Cruzamiento inicial: a).- Hembra ebony por macho dumpy.

Alternativas sugeridas:

b).- Hembra spineless por macho vesti---
gial.

c).- Hembra sepia por macho black body.

d).- Hembra ebony por macho vestigial.*

Materiales:

- a).- Cultivos recientes de las líneas ebony y dumpy.
- b).- Microscopio de disección.
- c).- Utensilios de manejo.

Metodología:

- 1.- Se separa a los progenitores del cultivo de la línea
ebony y se procede a sexar a los imagos a intervalos
de 8 horas, separando vírgenes a pomos nuevos.
- 2.- Una vez obtenidas las hembras vírgenes, se procede a

realizar la cruce introduciendo en un pomo de cultivo nuevo - 10 de estas hembras y 5 machos de la línea dumpy.

3.- Al octavo día se eliminan los progenitores.

4.- Del décimo día en adelante empezarán a emerger la generación F_1 con la que se procede de la siguiente manera:

a).- Se separan 10 hembras vírgenes para utilizarlas en la práctica número 8.

b).- Se separan 10 hembras y 5 machos F_1 y se pasan a pomos nuevos con el fin de obtener la F_2 .

c).- Se observa el fenotipo de esta generación, y se registran los resultados en el cuadro de datos. Se harán conteos sucesivos hasta revisar un mínimo de 150 moscas F_1 .

5.- Al octavo día de hacer la cruce $F_1 \times F_1$ (paso 4-b), se eliminan los progenitores.

6.- Al décimo quinto día se evalúa la población y se registran los datos en la tabla correspondiente. Si no hay suficiente población (menos de 150 moscas), pueden hacerse nuevos conteos en los días sucesivos.

NOMBRE: _____

CALIF. _____

GRUPO O SECCION _____

FECHA DE APAREAMIENTO _____

FECHA DE REMOCION DE P. _____

PRACTICA NUM. _____

P₁

X

FECHAS DE CONTEO	CLASE FENOTIPICA
TOTAL	

F₁

FECHA DE APAREAMIENTO _____

FECHA DE REMOCION DE P. _____

P₂

X

FECHAS DE CONTEO	CLASES FENOTIPICAS			
TOTAL				
PROPORCION				
OBSERVACIONES:				

F₂

CLASES FEN.	V.O.	V.E.	O-E	(O - E) ²	$\frac{(O - E)^2}{E}$

PROBABILIDAD:

X²=

DECISION:

PRACTICA NUM. 8

RETROCRUZA DE UN DIHIBRIDO

Objetivos: Demostrar la segregación de los genes ebony y dumpy que se ocultaron en la primera generación filial.

Materiales:

- a).- Hembras vírgenes F_1 de la cruce anterior.
- b).- Machos de la línea probadora ebony dumpy.
- c).- Pomos para cultivo.
- d).- Microscopio de disección.
- e).- Utensilios de manejo.

Metodología:

- 1.- Se toman las hembras vírgenes de la F_1 y machos de la línea probadora ebony dumpy.
- 2.- Se hace la siembra en pomos nuevos introduciendo 10 hembras con 5 machos por cultivo.
- 3.- Al octavo día se eliminan los progenitores.
- 4.- Al décimo quinto día se analiza a la población resultante, y se anota en el cuadro de datos.
- 5.- Se hacen los cálculos necesarios y se obtienen las conclusiones.

NOMBRE: _____

CALIF: _____

PRACTICA NUM. _____

FECHA DE APAREAMIENTO _____

GRUPO O SECCIÓN _____

FECHA DE REMOCION DE P. _____

R_c.....

_____ X _____

FECHAS DE CONTEO	CLASES FENOTIPICAS			
TOTAL				
PROPORCION				
OBSERVACIONES:				

CLASES FEN.	V.O.	V.E.	O-E	(O - E) ²	$\frac{(O - E)^2}{E}$

PROBABILIDAD: _____ $X^2 =$ _____

DECISION: _____

PREGUNTAS.-

- 1.- ¿Qué quiere decir transmisión independiente de los genes?.
- 2.- ¿Qué se debe entender por genes alelos?.
- 3.- ¿Qué se entiende por pseudodominancia, dominancia intermedia o herencia codominante?.
- 4.- En qué estriba la sobredominancia de los genotipos -- heterocigotos?.
- 5.- Explique lo que entiende por interacción genotipo-medio ambiente.

PROBLEMAS.-

- a).- Calcule los valores para χ^2 y determine si los valores -- observados en cada una de las cinco poblaciones en F_2 , se ajustan a la proporción fenotípica 9:3:3:1

POBLACION	AB	Ab	aB	ab
A	315	108	101	32
B	51	11	16	2
C	860	315	340	117
D	75	35	41	9
E	1770	610	618	202

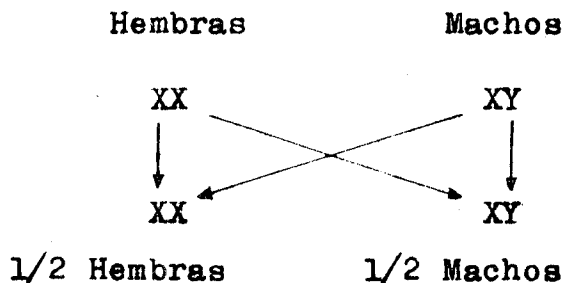
- b).- Dar la relación fenotípica de la progenie que se obtendría de:
- | | |
|----------------------|---------------------------|
| a).- Aabb x aabb | Genes.- A = alas normales |
| b).- AaBb x aaBb | a = dumpy |
| c).- AaBbCc x aabbcc | B = cuerpo color (+) |
| | b = ebony |
| | C = ojos normales (+) |
| | c = eyeless |

CAPITULO 6

PRACTICAS SOBRE HERENCIA LIGADA AL SEXO

CONCEPTOS BASICOS.- Herencia de características ligadas al sexo en Drosophila melanogaster M.. El sexo en la mosca está definido por la presencia de los cromosomas XX para las hembras y XY para los machos. Las moscas hembras por lo tanto son homogaméticas y producen siempre gametos que llevan cromosoma X, mientras que los machos son heterogaméticos y producen dos tipos de gametos; unos con cromosoma X y otros con cromosoma Y en proporción 1:1.

Los gametos masculinos que llevan cromosoma X, darán origen a hembras al fusionarse con el gameto femenino que trae cromosoma X. Si el gameto masculino que fecunda posee cromosoma Y, formará machos. (ver ilustración).



El cromosoma Y, no porta genes de importancia, y los genes que se localizan en el cromosoma X, siguen un mecanismo de transmisión paralelo al del mencionado cromosoma, tal como se aprecia en el diagrama anterior.

PRACTICA NUM. 9

HERENCIA LIGADA AL SEXO

Materiales:

- a).- Pomo con línea silvestre.
- b).- Pomo con línea mutante recesiva ligada al sexo: (w), (f), (y), (sc), (cv), (v).
- c).- Pomos para cultivo.
- d).- Utensilios de manejo.

En esta práctica, el alumno recibirá un pomo conteniendo a la línea silvestre y otro con la línea mutante (de cualquiera de las que se mencionan).

METODOLOGIA DE PRACTICA:

- 1.- En pomos diferentes, se aislarán hembras vírgenes de la línea silvestre y de la mutante.
- 2.- Se harán los apareamientos en los dos sentidos (usando a la línea mutante como hembra y como macho) en cultivos separados.
- 3.- A los 8 días se eliminarán a los progenitores.
- 4.- Al décimo quinto día, se observará toda la población F_1 , anotando los resultados en la forma adjunta; de esta población, se separan 5 parejas a pomos nuevos con el fin de evaluar F_2 .
- 5.- Al octavo día después de la siembra anterior, se eliminarán los progenitores F_1 .
- 6.- Al décimo quinto día, se evaluará la generación F_2 .

7.- SE MANTENDRAN LOS DATOS Y SE HARAN LOS CRUCES CORRESPONDIENTES

7.- Se registrarán los datos y se harán los cálculos correspondientes.

NOMBRE _____

CALIF. _____

PRACTICA NUM. _____

FECHA DE APAREAMIENTO 20/9/14

GRUPO O SECCION _____

FECHA DE REMOCION DE P. 17/10/14

P.....

~~XX~~ X ~~XX~~

		CLASES FENOTIPICAS	
		YY	yy
♀♀	YF		
♂♂	YF		

F₁.....

FECHA DE APAREAMIENTO _____

FECHA DE REMOCION DE P. _____

P₂

_____ X _____

FECHAS DE CONTEO	CLASES FENOTIPICAS							
	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂
TOTAL								
PROP. FEN.								

F₂

CALCULO DE X²

CLASES FEN.	VALORES OBS.	VALORES ESP.	O-E	(O-E) ²	$\frac{(O-E)^2}{E}$

PROBABILIDAD:

X²=

DECISION:

PREGUNTAS:

- 1.- ¿Qué significa mitosis y qué meiosis?.
- 2.- ¿Qué son genes holándricos?
- 3.- Explique en qué consiste la sinapsis y en qué la disyunción..
- 4.- ¿Qué se entiende por superhembra y qué por super macho?.
- 5.- Explique brevemente lo que entiende por ginandromorfismo.

PROBLEMAS.-

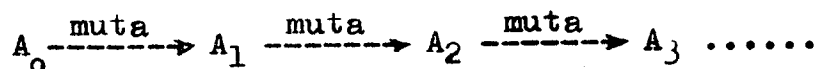
- 1.- En *Drosophila*, si una hembra de ojos blancos se cruza con un macho de ojos rojos y si una hembra de la F_1 de este cruzamiento se aparea con su padre y un macho de la F_1 con su madre, ¿Cómo será el color de los ojos de la descendencia de estos dos últimos cruzamientos?. (Sinnot).
- 2.- En *Drosophila*, las alas vestigiales, vg , son recesivas respecto al carácter normal alas largas Vg , y el gene para este carácter no se halla en el cromosoma sexual. Si una hembra homocigótica de ojos blancos y alas largas se cruza con un macho homocigótico de ojos rojos y alas vestigiales, ¿Cómo será la F_1 ; la F_2 ; la descendencia de un cruzamiento de la F_1 con cada tipo paterno ?. (Sinnot).

CAPITULO 7

PRACTICAS DE ALELOS MULTIPLES EN CROMOSOMAS SEXUALES DE D. melanogaster M.

CONCEPTOS BASICOS.- Se entiende por alelos multiples a todos aquellos genes que por mutaciones, se han derivado de un gene comun ancestral (silvestre). Estos genes ocupan el mismo locus de cromosomas homólogos, y cada uno determina una variante de una determinada característica fenotípica.

Todos los alelos derivados de un gene forman series alélicas, presentandose la dominancia total de unas formas alelomórficas sobre otras. Por ejemplo en la siguiente ilustración el gene A_0 es dominante sobre A_1 , A_2 y A_3 ; el gene A_1 es dominante sobre los genes A_2 y A_3 , pero es recesivo respecto a A_0 ; el gene A_2 es dominante sobre A_3 , pero es recesivo respecto de A_0 y A_1 .



Dentro de otras series se puede presentar dominancia incompleta entre algunos alelos de la serie.

En *Drosophila* se presenta una serie alélica que controla el color de ojos y que incluye los alelos y fenotipos que se mencionan a continuación. Estos alelos se encuentran ligados al sexo por estar en el cromosoma X, en posición 1.5.

Alelo	Símbolo	Alelo	Símbolo
white (white)	w	apricot (melocotón)	w ^a
ivory (marfil)	w ⁱ	cherry (cereza)	w ^{ch}
pearl (perla)	w ^p	eosin (eosina)	w ^e
tinged (teñido)	w ^t	blood (sangre)	w ^{bl}
buff (ante)	w ^{bf}	coral (coral)	w ^{co}
honey (miel)	w ^h	rojo (tipo silvestre)	w

(segun Sinnot, Dunn y Dobzhansky)

PRACTICA NUM. 10ALELOS MULTIPLES EN DROSOPHILA melanogaster M.**Materiales:**

- a).- Dos líneas mutantes de la serie alélica para el color de los ojos de la mosca (w) y (w^a).
- b).- Línea silvestre portadora del alelo W para ojos rojos
- c).- Pomos para cultivo.
- d).- Utensilios de manejo.

Objetivos:.- Determinar la secuencia de recesividad de los genes w , w^a y W .

En esta práctica, el estudiante recibirá tres pomos conteniendo las líneas que se sujetarán a estudio.

METODOLOGIA DE PRACTICA.-

- 1.- Se aislan hembras vírgenes de la línea white (w).
- 2.- Se toman 10 hembras vírgenes y se introducen con 5 machos de la línea w^a en pomo nuevo.
- 3.- Al octavo día de la siembra se eliminan los progenitores.
- 4.- Al décimo día se aislan hembras vírgenes F_1 , se siguen los conteos hasta observar 150 moscas F_1 registrando los datos del color de los ojos para cada sexo por separado.
- 5.- Se introducen en pomos nuevos 10 hembras vírgenes F_1 con 5 machos de la línea silvestre (2cultivos por alumno).
- 6.- Al octavo día se eliminan los progenitores.

- 7.- Al décimo quinto día se analizan los resultados y se registran los datos. Procurar obtener un registro de 150 moscas.
- 8.- Se hacen los cálculos necesarios y se obtienen las - conclusiones.

NOMBRE _____ CALIF. _____

PRACTICA NUM. _____ FECHA DE APAREAMIENTO _____

GRUPO O SECCION _____ FECHA DE REMOCION DE P. _____

P.....

X

		CLASES FENOTIPICAS	
♀♀			
♂♂			

F₁.....

FECHA DE APAREAMIENTO _____

FECHA DE REMOCION DE P. _____

P₂

X

FECHAS DE CONTEO	CLASES FENOTIPICAS							
	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂
TOTAL								
PROP. FEN.								

F₂

CALCULO DE X²

CLASES FEN.	VALORES OBS.	VALORES ESP.	O-E	(O-E) ²	$\frac{(O-E)^2}{E}$

PROBABILIDAD: _____ X² = _____

DECISION:

PREGUNTAS:

- 1.- ¿Cuál es el genotipo de hembras y machos F_1 (práctica 10)?.
- 2.- Representar en forma diagramática la cruce F_1 con la línea silvestre y su descendencia, incluyendo los cromosomas X y Y además de los alelos de la serie w. (práctica 10).
- 3.- Dar el orden de dominancia de los alelos w, W y w^a .
- 4.- ¿Qué entiende por loci?.
- 5.- Defina alelismo.
- 6.- ¿Un individuo diploide, ¿cuántos genes de una serie alélica puede contener?.
- 7.- ¿Cuántos genotipos posibles puede haber para una serie alélica de 4 genes?.

PROBLEMAS.-

- 1.- ¿Qué proporciones fenotípicas se esperarían en la descendencia de la cruce de hembras F_1 obtenidas en la práctica 10 con:
 - a).- Machos white?.
 - b).- Machos white apricot?.
- 2.- Dar la relación fenotípica de la descendencia que se obtendría de la cruce entre hembras F_1 de la práctica 10, con machos ebony de ojos rojos (eeW_i).
- 3.- Dar la relación fenotípica de las generaciones F_1 y F_2 que se obtendrían a partir del cruzamiento siguiente: $ww++$ x w^a_je .

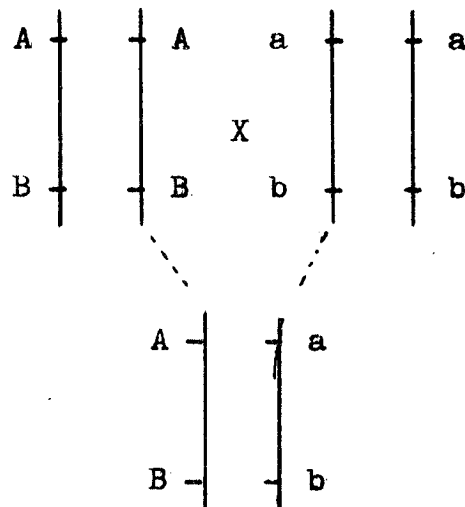
CAPITULO 8

PRACTICAS DE LIGAMIENTO FACTORIAL

CONCEPTOS BASICOS.- El ligamiento factorial se refiere a los genes que están situados en un mismo cromosoma, y que tienden a heredarse juntos; al conjunto de genes presentes en un mismo cromosoma se le denomina "grupo de ligamiento". El número máximo de grupos que puede poseer un individuo es igual al -- número haploide de cromosomas de un cariotipo.

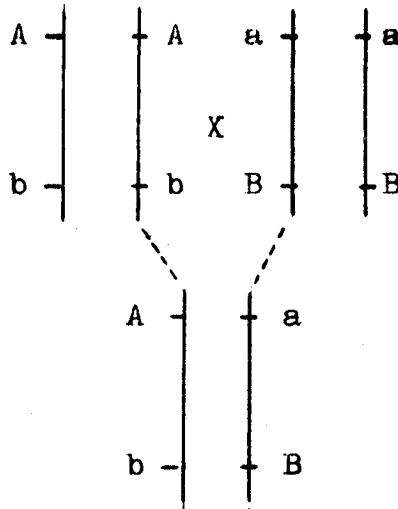
De acuerdo a la combinación de genes dominantes y recesivos que se encuentran en los cromosomas paternos, en la herencia ligada se distinguen los dos siguientes casos:

FASE DE ACOPLAMIENTO.- Que se refiere al caso en el que un -- individuo recibe 2 ó más genes dominantes situados en el mismo cromosoma de uno de sus progenitores y los correspondientes recesivos del otro progenitor (ver ilustración)



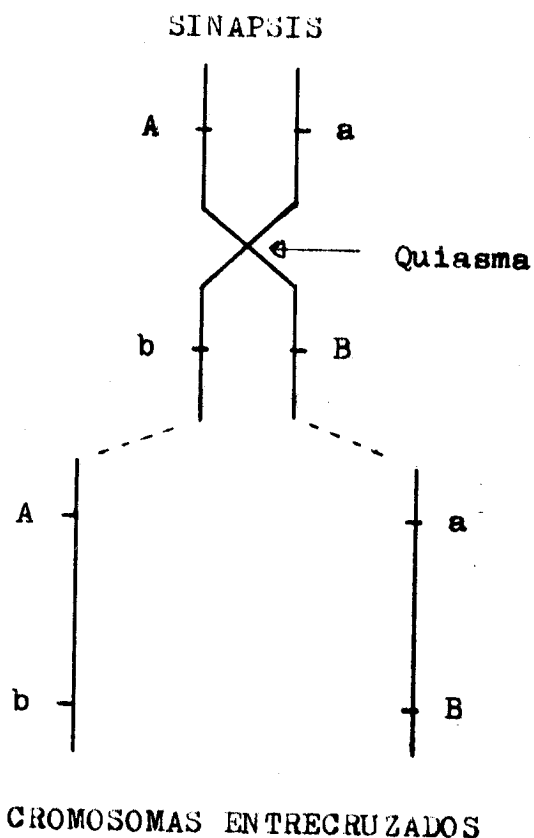
FASE DE ACOPLAMIENTO

FASE DE REPULSION.- Consiste en que un individuo recibe en uno de sus cromosomas uno o varios genes dominantes y uno o varios recesivos y en el cromosoma homólogo, los alelos respectivos (ver ilustración)



FASE DE REPULSION

En relación con el ligamiento, ocurre otro fenómeno genético de suma importancia, que es el **ENTRECRUZAMIENTO** (**crossing over**). Este entrecruzamiento consiste en el intercambio de segmentos equivalentes entre las cromátidas no hermanas de cromosomas homólogos, y se lleva a cabo durante la sinapsis del proceso de gametogénesis. La consecuencia final es la formación de gametos con cromosomas entrecruzados como -- se muestra en la figura que se incluye.



Los entrecruzamientos ocurren en baja proporción y son menores que 50 %. La probabilidad de entrecruzamiento está en relación directa a la distancia que hay entre dos loci.

El porcentaje de fenotipos recombinantes respecto de la población total F_2 o retrocruza, será la distancia mapa que habrá entre los genes considerados.

En Drosophila melanogaster M. el fenómeno de entrecruzamiento ocurre solamente en las hembras.

La separación de los genes mediante este mecanismo, permite la formación de fenotipos con características recombinadas en la descendencia.

Los individuos que aparecen en la F_2 , presentan una segregación que no corresponde a las proporciones fenotípicas

propias para un dihíbrido, trihíbrido Etc.; sino que aparecen los fenotipos progenitores en mayor proporción que los fenotipos recombinantes.

El ligamiento factorial en D. melanogaster M., tratado en este capítulo, se divide en dos aspectos:

- 1o.- LIGAMIENTO FACTORIAL AUTOSOMICO, referente a todos aquellos genes enlazados en cromosomas somáticos.
- 2o.- LIGAMIENTO FACTORIAL EN CROMOSOMAS SEXUALES, como su nombre lo dice, genes enlazados en cromosomas del sexo.

HERENCIA LIGADA AUTOSOMICA

Objetivos: Determinar el grado de ligamiento entre los genes en cuestión.

Materiales:

- a).- Cultivos de las líneas mutantes ebony (e) y sepia - (se) (spineless ss opcional; ver paso 10).
- b).- línea probadora homocigótica para los tres genes - considerados.
- c).- Utensilios de manejo.

En esta práctica el alumno recibirá cultivos de las líneas mutantes ebony y sepia.

METODOLOGIA DE PRACTICA.-

- 1.- Se aislan hembras vírgenes de la línea ebony.
- 2.- Se introducen en pomo nuevo 10 hembras vírgenes de la línea ebony con 5 machos de sepia.
- 3.- Al octavo día se eliminan los progenitores.
- 4.- Al décimo día se aislan hembras vírgenes F_1 .
- 5.- Se hacen los apareamientos de las hembras F_1 con machos de la línea probadora (e se).
- 6.- Los datos obtenidos de la F_1 se registran en la tabla de datos.
- 7.- A los 8 días después de haber hecho la siembra, se eliminan los progenitores.
- 8.- Al décimo quinto día se analiza la progenie de la cruz de prueba y los resultados se registran en la tabla de datos.

- 9.- Se realizan los cálculos necesarios y se determina - el grado de ligamiento entre ebony y sepia.
- 10.- Se sugiere que se hagan grupos y se realicen las cruzas (e x ss) y (se x ss), siguiendo la misma metodología, con el objeto de combinar los resultados y elaborar el mapa para tres locus.

NOMBRE:

CALIF:

GRUPO O SECCION _____

FECHA DE APAREAMIENTO _____

PRACTICA NUM. _____

FECHA DE REMOCION DE P. _____

P₁...

_____ X _____

FECHAS DE CONTEO	CLASE FENOTIPICA
TOTAL	

F₁...

FECHA DE APAREAMIENTO _____

FECHA DE REMOCION DE P. _____

_____ X _____

FECHAS DE CONTEO	CLASES FENOTIPICAS			
TOTAL				
OBSERVACIONES				

CONCENTRACION DE DATOS

		NUM. DE INDIV.	%
FENOTIPOS	1.-		
PATERNOS	2.-		
FENOTIPOS	1.-		
RECOMBINANTES	2.-		
TOTAL			

MAPA CROMOSOMICO:

HERENCIA LIGADA EN CROMOSOMAS SEXUALES

Materiales:

- a).- Pomos con las líneas (y), (w), (cv), (f) y línea probadora (homocigótica recesiva para los 4 alelos)
- b).- Pomos de cultivo.
- c).- Utensilios de manejo.

En esta práctica, el alumno recibirá dos de las líneas mutantes en pomos separados (se repartirán pares de líneas a diferentes grupos).

METODOLOGIA DE PRACTICA.-

- 1.- Se aislan hembras vírgenes de uno de los dos cultivos.
- 2.- Se realizan los apareamientos entre las dos líneas introduciendo 10 hembras y 5 machos.
- 3.- Al octavo día se eliminan los progenitores.
- 4.- Al décimo día se aislan hembras vírgenes F_1 .
- 5.- Se hacen los apareamientos de las hembras F_1 con machos de la línea probadora.
- 6.- Los datos obtenidos en la F_1 se registran en la tabla de datos.
- 7.- A los 8 días después de haber hecho la siembra, se eliminan a los progenitores.
- 8.- Al décimo quinto día se analiza la descendencia de la cruce de prueba y los resultados se registran en la tabla de datos.

- 9.- Se llevan a cabo los cálculos necesarios y se determina el grado de ligamiento entre los dos genes considerados.
- 10.- Se reúnen los datos obtenidos por los demás grupos para elaborar el mapa para los cuatro genes estudiados.

NOMBRE: _____

CALIF: _____

GRUPO O SECCION _____

FECHA DE APAREAMIENTO _____

PRACTICA NUM. _____

FECHA DE REMOCION P. _____

P₁...

_____ X _____

FECHAS DE CONTEO	CLASE FENOTIPICA	
	♀♀	♂♂
TOTAL		

F₁...

FECHA DE APAREAMIENTO _____

FECHA DE REMOCION P. _____

P₂...

_____ X _____

FECHAS DE CONTEO	CLASES FENOTIPICAS							
	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀	♂♂
TOTAL								

CONCENTRACION DE DATOS

		NUM. DE INDIV.	%
FENOTIPOS	1.-		
PATERNOS	2.-		
FENOTIPOS	1.-		
RECOMBINANTES	2.-		
TOTAL			

MAPA GENETICO

PREGUNTAS Y PROBLEMAS.-

- 1.- En relación con la práctica numero 11, conteste lo siguiente:
 - a).- Genotipos de la F_1
 - b).- Genotipos de los progenitores y descendientes en la crua de prueba.
 - c).- Considerando la intensidad de ligamiento entre los genes estudiados ¿qué proporciones fenotípicas esperararía en una F_2 ?
- 2.- En relación con la práctica numero 12, conteste lo siguiente:
 - a).- Genotipos de la F_1 .
 - b).- Haga un diagrama representando los cromosomas X y Y así como los genes involucrados en la cruza de prueba (paso 5) y su progenie.
- 3.- ¿En qué fase de la meiosis ocurre el entrecruzamiento?
- 4.- ¿Qué significa interferencia y qué coincidencia?
- 5.- En *Drosophila*, el color blanco de los ojos y las alas mazudas son caracteres ligados al sexo con un valor de entrecruzamiento del 15 % aproximadamente. Si una hembra de tipo salvaje (rojo largas), se cruza con un macho blanco maza, ¿cómo será la descendencia?. Si se emplean machos y hembras de la F_1 para hacer un cruzamiento retrógrado con una cepa blanco maza, ¿cómo será la descendencia en cada caso?. (Sinnot et al).
- 6.- En *Drosophila*, el cuerpo amarillo es ligado al sexo y recesivo respecto al cuerpo ámbar de la mosca salvaje. Los ojos bermellón también son ligados al sexo y recesivos respecto al ojo rojo del tipo salvaje. Los genes para amarillo y bermellón presentan aproximadamente el 28 % de entrecruzamiento. El gene pa-

ra alas vestigiales se halla en uno de los autosomas. Si una hembra homocigótica de cuerpo amarillo, ojos rojos y alas largas se cruza con un macho homocigótico de cuerpo ámbar, ojos bermellón y alas vestigiales y si se hace un cruzamiento retrógrado de una hembra de la F_1 con un macho amarillo, bermellón vestigial, ¿cuáles serán las proporciones de la descendencia de este cruzamiento?. (Sinnot et al).

PRACTICA DE OBSERVACION DE CROMOSOMAS POLITENICOS

Materiales:

- a).- Pomo de cultivo conteniendo larvas (cualquier línea) (se recomienda D. pseudoobscura).
- b).- Solución salina (7 g. de NaCl por litro de agua destilada).
- c).- Colorantes (acetocarmin o aceto-orceína).
- d).- Porta y cubre-objetos.
- e).- Microscopios (disección y compuesto).
- f).- Agujas de disección.

METODOLOGIA DE PRACTICA.-

- 1.- Obtenga de los pomos de cultivo una larva vigorosa de 3 a 4 milímetros de longitud.
- 2.- Trasládela a la platina colocándole una gota de solución salina.
- 3.- Tome dos agujas y bajo el microscopio de disección su jetándola por la parte anterior (boca) con una de las agujas, coloque la otra aguja aproximadamente un milímetro de la boca y desgárrela.
- 4.- Una vez desgarrada la larva, localice las glándulas salivales que aparecen como dos pequeños globulitos alargados de un color blanquesino transparente y unidos por un cordoncillo dando la apariencia de Y.
- 5.- Una vez obtenidas las glándulas salivales, retire

de la solución salina y páselas al portaobjetos,-- donde previamente se ha colocado una gota de colorante que puede ser aceto-carmin o aceto-orceína - para teñir los cromosomas por tres minutos.

6.- Coloque el cubre-objetos y por medio del método - del aplastado que consiste en poner la preparación sobre una servilleta de papel absorbente, cubriéndola con papel de la misma, con el fin de que absorba el exceso de colorante. Posteriormente se aplasta la preparación con la yema del pulgar o con un borrador (goma), aplicando una presión uniforme para evitar que se rompa el cubre-objetos. Este paso tiene por objeto distender los cromosomas.

7.- Lleve la preparación al microscopio compuesto para su observación.

8.- Si los resultados son satisfactorios, proceda a realizar el dibujo en el cuadro adjunto.

Cuando se desea observar las preparaciones por más de un día, es necesario sellar los bordes del cubre-objetos - con cera fundida, bálsamo de Canadá, barniz o pintura para uñas transparente. Dicha preparación servirá para unos cuantos días únicamente.

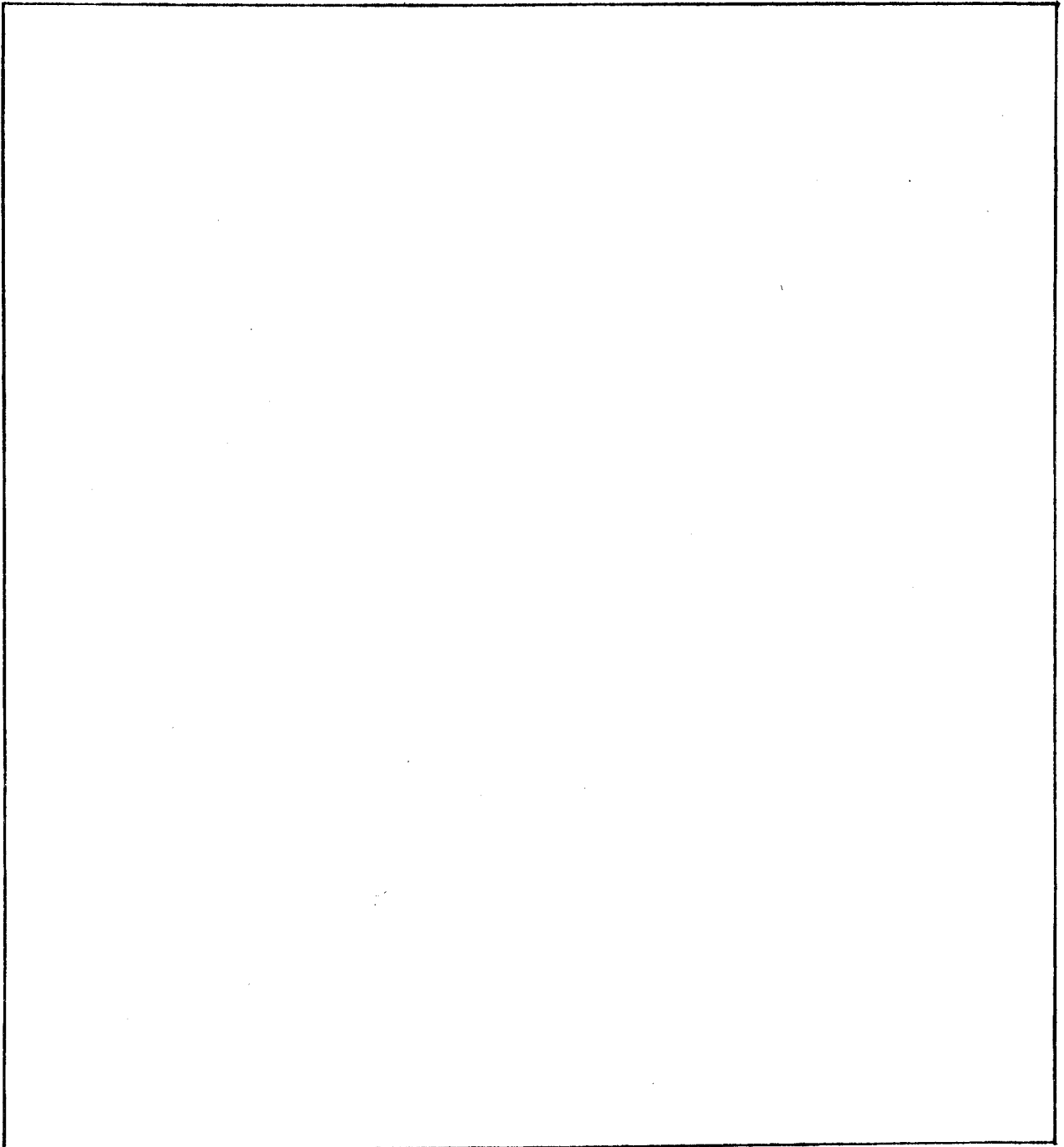
Para realizar preparaciones permanentes consulte el apéndice.

PRACTICA NUM. 13

CALIF. _____

GRUPO O SECCION _____

DIBUJO DE OBSERVACION DE CROMOSOMAS POLITENICOS



PREGUNTAS:

- 1.- ¿Qué se entiende por mapeo en citogenética? ----
- 2.- ¿Qué quiere decir eucromatina y qué heterocromatina?.
- 3.- ¿Qué son los puffs de los cromosomas y que función --
desempeñan?.
- 4.- ¿Qué importancia tienen los cromosomas supernumera---
rios?.
- 5.- ¿Qué función tienen los centrómeros en los cromosomas
- 6.- ¿Cuál es la clasificación de los cromosomas de acuer-
do con la posición del centrómero?.
- 7.- ¿Qué se entiende por cromómeros?.
- 8.- ¿Qué uso práctico tiene el bandeado de los cromosomas
en citogenética?.
- 9.- ¿Qué significa aberración cromosómica?.
- 10.- ¿De las aberraciones cromosómicas cuál será la más -
deleterea (perjudicial).

CAPITULO 10

ALGUNAS PRACTICAS EN
GENETICA DE POBLACIONES

CONCEPTOS BASICOS.-

Se entiende por genética de poblaciones, al conjunto de parámetros que interpretan la constitución génica de una población. Se considera que existe equilibrio en las poblaciones naturales, hasta tanto no ocurra el fenómeno de selección, migración o mutación que altere la constitución génica.

El alcance del presente manual solo comprenderá algunos aspectos poblacionales relativos a los parámetros de adaptabilidad como los que se mencionan.

FERTILIDAD

PESO CORPORAL

CURVA DE FERTILIDAD

VIABILIDAD HUEVO ADULTO

SELECCION

PRACTICA NUM. 14

FERTILIDAD

Definición.- Capacidad de producir progenie.

Objetivos:.- Dar una metodología para medir fertilidad. Este método se emplea en trabajos específicos por ejemplo en los que se incluye el estudio de este parámetro para evaluar diferencias entre líneas, especies, heterocigóticos, homocigóticos, o dentro de una especie en distintas épocas del año.

Materiales:

- a).- Cualquier línea de D. melanogaster M.
- b).- Pomos con alimento.
- c).- Utensilios de manejo.

Nota: Formar equipos de trabajo y cada uno deberá emplear una línea diferente.

METODOLOGIA DE PRACTICA.-

- 1.- Se obtienen hembras vírgenes y machos jóvenes (hermanos).
- 2.- Se introducen 3 hembras por un macho en cada pomo - con 10 repeticiones, y la inversa, 3 machos y una - hembra virgen en otros 10 pomos.
- 3.- A los 8 días se pasan los progenitores a pomos nuevos; este paso se repite hasta obtener 3 series.
- 4.- Al décimo quinto día después de la siembra de cada serie, se evalúa la progenie y se registran los resultados en el cuadro de datos.

- 5.- Se hacen los cálculos necesarios y se obtienen las conclusiones (por equipo).
- 6.- Se reúnen los resultados de todos los equipos y se obtiene la varianza entre líneas para fertilidad - de hembras y machos.
- 7.- Se elaboran las gráficas.

PRACTICA NUM. 14

CALIF. _____

 N O M B R E
 GRUPO O SECCION _____

FECHA: _____

F E R T I L I D A D

FERTILIDAD DE MACHOS

(tres hembras y un macho)

NUMERO DE POMO	S E R I E S			\bar{X}
	A	B	C	
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
				$\bar{X} =$

FERTILIDAD DE HEMBRAS

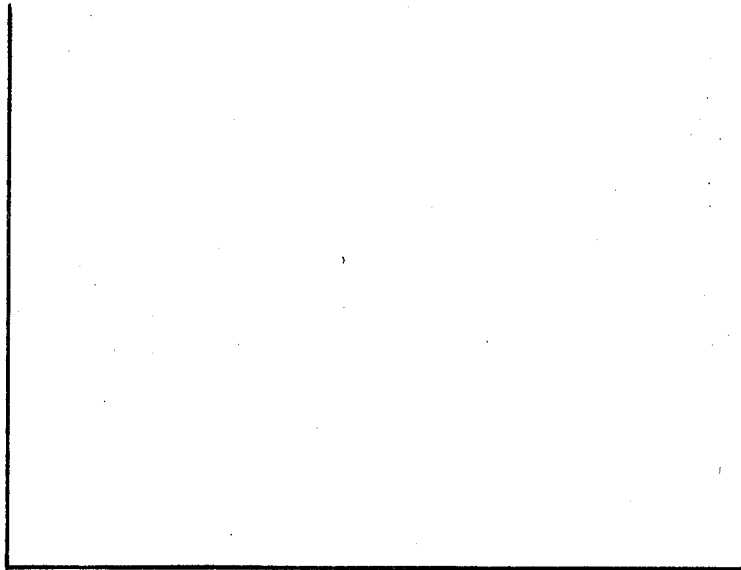
(tres machos y una hembra)

NUMERO DE POMO	S E R I E S			\bar{X}
	A	B	C	
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
				$\bar{X} =$

Gráficas:

FERTILIDAD EN HEMBRAS

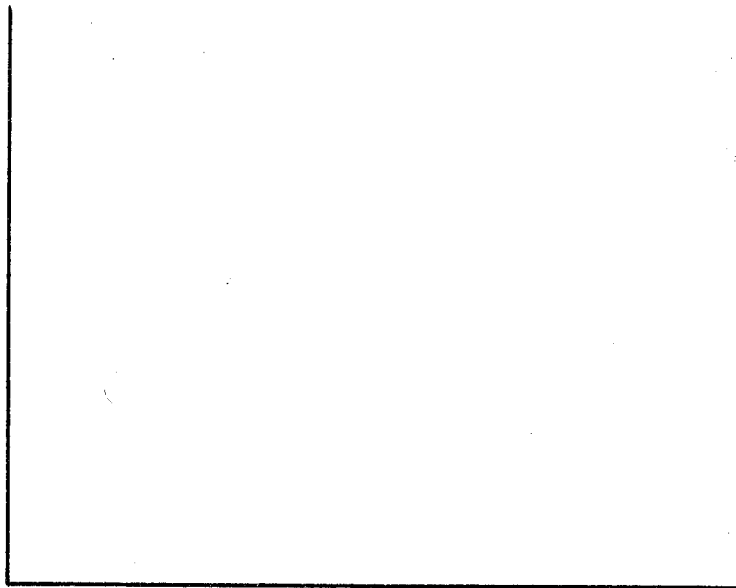
Progenie



Edad

FERTILIDAD EN MACHOS

Progenie



edad

PRACTICA NUM. 15

PESO CORPORAL

Objetivo.- Determinar la diferencia de peso entre hembras y machos.

Materiales:

- a).- Cualquier línea de D. melanogaster M.
- b).- 5 pomos de cultivo.
- c).- Utensilios de manejo.

METODOLOGIA DE PRACTICA.-

- 1.- Se preparan 5 pomos con cualquier línea de D. melanogaster, introduciendo 5 parejas por cada uno (no es necesario que sean hembras vírgenes).
- 2.- Al octavo día se eliminan los progenitores.
- 3.- Al décimo quinto día se obtiene la F_1 para los 5 pomos. Se separan por sexos, juntandose las hembras de los 5 cultivos, al igual que los machos, procurando que sean por lo menos 300 hembras y 300 machos.
- 4.- Se pesan por separado las hembras y los machos anestesiados.
- 5.- Se sobre-anestesian hasta matarlos y se dejan 24 horas para que se deshidraten al medio ambiente.
- 6.- Se vuelven a pesar (ambos sexos) y se obtiene el peso seco de las poblaciones.
- 7.- Se determina el peso unitario de cada sexo.

PRACTICA NUM. 15

CALIF. _____

N O M B R E

GRUPO O SECCION _____

FECHA: _____

PESO CORPORAL

SEXO	NUMERO DE MOSCAS	PESO VIVO	PESO MUERTO	PESO UNITARIO
HEMRAS				
MACHOS				

PRACTICA NUM. 16

CURVA DE FERTILIDAD

Objetivo: Determinar la influencia de la edad en la fertilidad. En esta práctica se podrá observar el efecto - que produce la competencia entre moscas, y es comparable con los valores obtenidos en la práctica 14.

Materiales:

- a).- Cualquier línea de D. melanogaster M.
- b).- Pomos de cultivo.
- c).- Utensilios de manejo.

METODOLOGIA DE PRACTICA.-

- 1.- Se aislan hembras vírgenes de cualquiera de las líneas.
- 2.- Se introducen 10 parejas por pomo (3 repeticiones)
- 3.- A intervalos de 3 días se pasan los progenitores a pomos nuevos hasta completar 5 series.
- 4.- Al décimo quinto día para cada serie, se analiza la población y se registran los datos.
- 5.- Se realizan los cálculos necesarios y se elabora la gráfica.

PRACTICA NUM. 16

CALIF. _____

GRUPO O SECCION _____

FECHA: _____

N O M B R E

CURVA DE FERTILIDAD

NUM. DE POMO	S E R I E S					TOTALES
	A	B	C	D	E	
1						
2						
3						
\bar{X}						

POBLACION



E D A D

VIABILIDAD HUEVO-ADULTO

Materiales:

- a).- Tapaderas de gerber con medio de cultivo preparado con carbón activado (para dar contraste)
- b).- Pomos limpios sin alimento.
- c).- Pomos con alimento.
- d).- Utensilios de manejo.
- e).- Línea silvestre.

METODOLOGIA DE PRACTICA.-

- 1.- Se preparan 3 pomos sin alimento introduciendo 50 parejas jóvenes por cada uno.
- 2.- Se cubre la boca del pomo con la tapadera de gerber que contiene el alimento.
- 3.- Con cinta adhesiva se sella los bordes de la tapa.
- 4.- A las 12 horas siguientes, se reemplazan las tapaderas por nuevas, hasta obtener la cantidad de 2000 huevecillos.
- 5.- Se procede a obtener bajo microscopio de disección los huevecillos que contienen las tapaderas con un escarpelo.
- 6.- Los huevecillos se depositan en grupos de 10 hasta completar 50 sobre pequeños prismas de alimento que se obtienen de las mismas tapaderas con alimento limpio (un cm. de ancho por $1\frac{1}{2}$ de largo y 5 mm. de espesor).

- 7.- Cada prisma conteniendo 50 huevecillos se introduce en un pomo con alimento.
- 8.- Al décimo quinto día después de introducir los prismas de alimento con los huevecillos, se procede a contar y sexar a los adultos.
- 9.- Se hacen los registros correspondientes y se determina la relación huevo-adulto.

S E L E C C I O N

Nota: La duración de esta práctica es aproximadamente de dos y medio meses, por lo que se sugiere iniciarla a principio del curso.

Objetivos: Evaluar el efecto de la selección en una población.

Materiales:

- a).- Dos líneas: silvestre y mutante autosómica. (cualquiera).
- b).- Pomos de litro con alimento.
- c).- Utensilios de manejo.

En esta práctica se sugiere que se hagan equipos de trabajo para evaluar el efecto de selección en diferentes líneas; cada equipo trabajará con una línea mutante y la silvestre.

METODOLOGIA DE PRACTICA.-

- 1.- Se aislan 5 hembras vírgenes y 5 machos de la línea silvestre y de la mutante.
- 2.- Se introducen juntas las 5 parejas de cada línea a un pomo de litro con alimento.
- 3.- Al octavo día se eliminan los progenitores.
- 4.- Al décimo quinto día, se analiza la F_1 y se registran los datos en el cuadro de datos. Se separa una muestra al azar de 40 - 50 moscas, que se colocan en pomo nuevo (de litro).
- 5.- A los ocho días después de la siembra de F_1 , se eliminan los progenitores.
- 6.- Al décimo quinto día se evalúa la F_2 , se registran los datos, se mezclan las poblaciones que se separaron para observación y se toma una muestra al azar de 40 - 50 moscas que se pasan a pomo nuevo (de litro).
- 7.- Se repite la secuencia hasta evaluar F_5 .
- 8.- Al concluir el experimento, haga la gráfica de la frecuencia del gene mutante en relación con el tiempo.

Al iniciar el experimento la frecuencia de cada genotipo era de .50.

9.- Compare sus resultados con los obtenidos por otros equipos.

NOTAS:- (Se usará la línea vestigial como ejemplo).

La frecuencia de cada gene puede calcularse por medio de la ley de Hardy-Weinberg, segun la cual $P^2 + 2pq + q^2 = 1$

donde: p = frecuencia de (+)
 q = " " (vg)

entonces: $p + q = 1$ (todas las moscas llevan uno u otro de los alelos).

y $p = 1 - q$

Si $p + q = 1$

Entonces $(p + q)^2 = 1$

ó $p^2 + 2pq + q^2 = 1$

En la fórmula anterior,

p^2 = frecuencia de homocigotos (++)

$2pq$ = " " heterocigotos (+ vg)

q^2 = " " homocigotos (vg vg)

por lo tanto: $p^2(++) + 2pq(+vg) + q^2(vgvg) = 1$

Los valores de p y de q pueden calcularse, aunque sea imposible distinguir a las moscas heterocigóticas de las homocigóticas de la línea silvestre.

Recuerde que q^2 = frecuencia de (vg vg) (fenotipo de alas vestigiales).

Por lo tanto, la frecuencia de $vg = \sqrt{q^2}$

La frecuencia de gene (+) puede determinarse también, ya que

$$p = 1 - q$$

Si no hay selección en contra del gene vg , entonces la frecuencia debe permanecer constante y $p = q = .50$

En caso de que haya selección en contra del gene vg , la frecuencia de dicho gene disminuye en relación al tiempo. Construya una gráfica de frecuencia del gene mutante (vg) en función del número de generaciones de selección. Esta gráfica debe producir una línea recta y su declive es igual al coeficiente de selección (s). Este coeficiente representa el porcentaje de individuos homocigóticos de alas vestigiales que no llegaron a reproducirse y por lo tanto sus genes quedan eliminados del germoplasma de esa población.

Si la gráfica resulta una línea suficientemente recta, el valor de la constante (s) puede calcularse con facilidad, por lo menos en las primeras generaciones en las que el valor de q es razonablemente elevado.

Al iniciarse el experimento;

$$p^2 (+ +) + 2pq (+ vg) + q^2 (vg vg) = 1$$

Cuando no hay selección, esta situación continúa en generaciones sucesivas, pero si hay selección, entonces después de una generación:

$$p_0^2 (+ +) + 2p_0q_1 (+ vg) + q_1^2 (vg vg) \neq 1$$

Haciendo la corrección correspondiente a la selección en la primera generación segregante (F_2):

$$p_0^2 (+ +) + 2p_0q_1 (+ vg) + (1-s) q_1^2 (vg vg) = 1$$

El valor de (s) puede calcularse algebraicamente puesto que:

$$(1-s) q_0^2 (vg vg) = q_1^2 (vg vg)$$

donde q_0 y q_1 representan la frecuencia del gene vestigial respectivamente al principio del experimento y después de una generación de selección.

PRACTICA NUM. 18

CALIF. _____

N O M B R E

GRUPO O SECCION _____

FECHA: _____

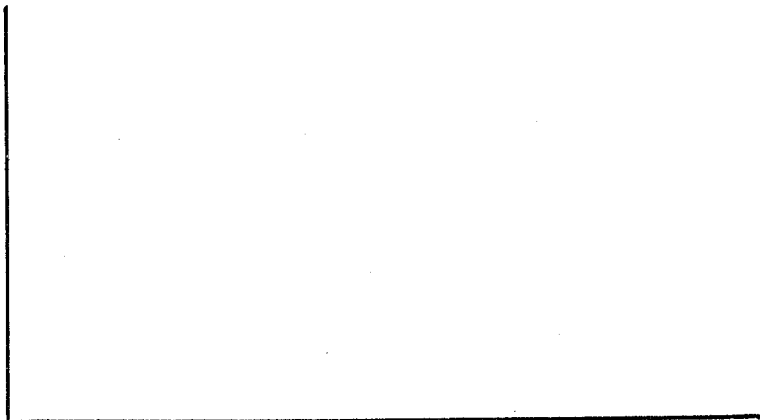
S E L E C C I O N

GENERA- CIONES	F E N O T I P O				FRECUENCIA DE		COEFICIENTE DE SELECCION S
	COMUN		VESTIGIAL		GENES		
	No.	%	No.	%	+	v. [Ⓣ]	
PATERNA							
1 (F ₁)							
2 (F ₂)							
3 (F ₃)							
4 (F ₄)							
5 (F ₅)							

Ⓣ Gene de la linea mutante.

Gráfica 1-s, Frecuencia del gene mutante en función del tiempo.

q



Generaciones de selección

PREGUNTAS:

- 1.- ¿En cuál de las líneas utilizadas, el efecto de selección fué más drástica?
- 2.- ¿Qué significa selección natural?
- 3.- ¿De qué manera influye la edad en la fertilidad en hembras y en machos?
- 4.- ¿Qué diferencia hay entre la fertilidad de hembras y de machos de la práctica número 15 respecto de la 16?
- 5.- ¿Cómo explica la heredabilidad?
- 6.- ¿Qué entiende por frecuencia génica?
- 7.- Defina la Ley de Hardy-Weinberg.
- 8.- ¿Considera usted que el número de individuos que mueren en un cultivo de *Drosophila*, influye en el desarrollo del mismo?
- 9.- ¿Qué entiende por gene ecolábil?
- 10.- ¿Qué entiende por endogamia?

PROBLEMA:

Si se cruza una sola hembra de ojos blancos con un macho de ojos rojos y se permite a la F_2 que se cruce libremente entre sí en gran número ¿cuál será el aspecto de la F_3 , en lo que al color de los ojos se refiere, - suponiendo igual viabilidad y fertilidad de todos los genotipos? (Sinnot et al).

CAPITULO 11

DETECCION DE GENES LETALES
(segun Sinnot et al)

CONCEPTOS BASICOS.- El estudio de la detección de genes letales, se dividirá en dos partes:

1.- DETECCION DE GENES LETALES LIGADOS AL SEXO.-

En el método ClB de Muller se emplea un cromosoma X de D. melanogaster M. que contiene el gene dominante bar (ojos estrechos, un letal recesivo (1) sin expresión en los heterocigotos y una inversión (C) que elimina el entrecruzamiento. Las hembras portadoras del cromosoma ClB tienen los ojos "bar". Un macho que reciba este cromosoma muere a causa del gene letal.

Supongamos que una hembra ClB se cruza con un macho normal; la mitad de la descendencia masculina morirá y la proporción de los sexos será 2 hembras : 1 macho en los supervivientes. La mitad de las hembras serán portadoras del cromosoma ClB y pueden reconocerse por sus ojos "bar". Por otra parte, si los espermatozoides de machos irradiados o expuestos a sustancias mutagénicas contiene un cromosoma X con un gene mutante recesivo, en la progenie de la cruce de una hembra ClB por un macho irradiado, la mitad de los machos mueren debido al letal del cromosoma ClB y la otra mitad también mueren debido al letal recesivo recién formado (fig. 8).

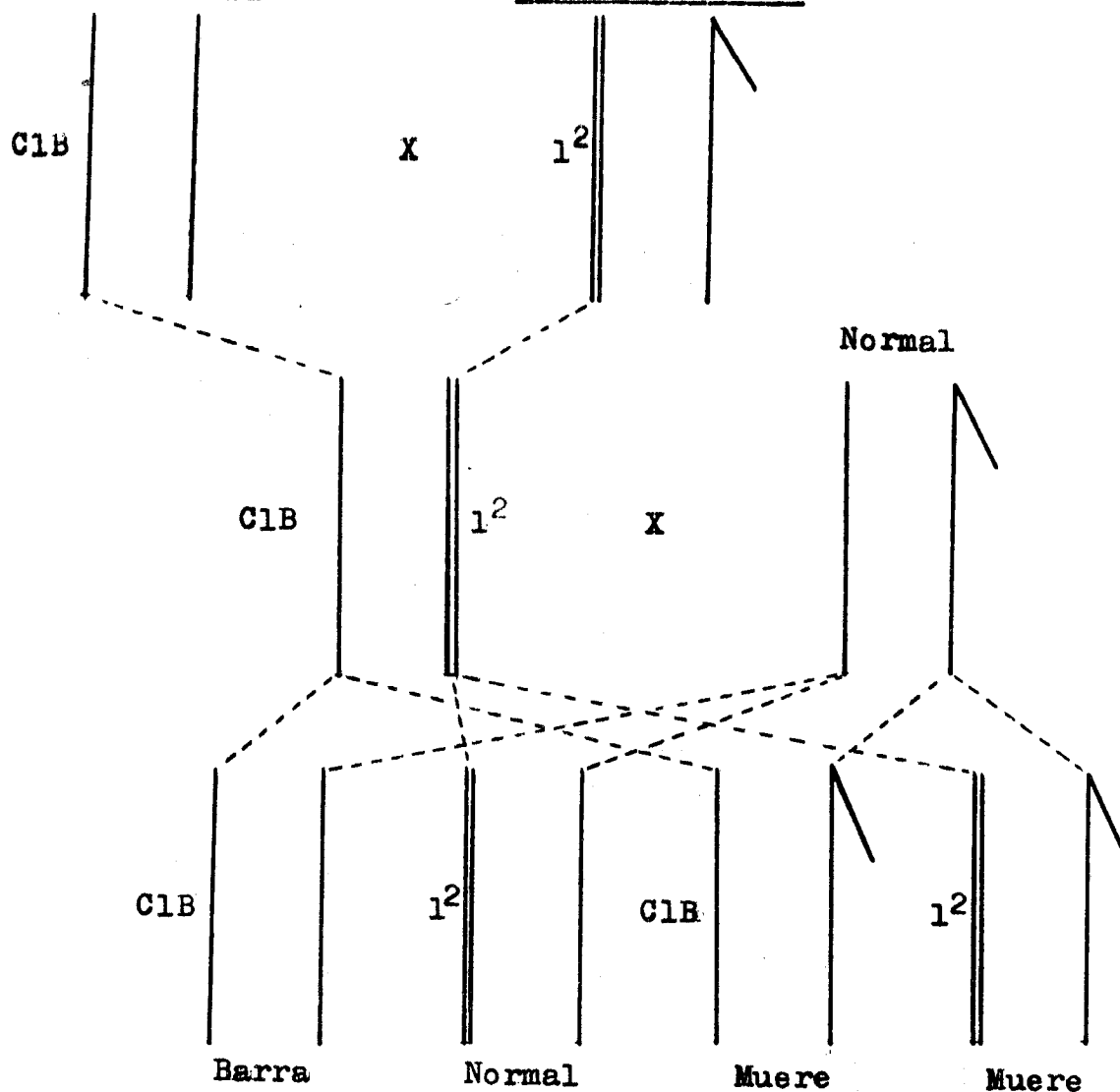


Fig. 8. Método ClB para detectar las mutaciones letales del cromosoma X en *D. melanogaster* M.

En estos últimos años se ha empleado otra técnica análoga a la ClB basada en el llamado cromosoma "MULLER 5" para medir las frecuencias de mutación del cromosoma X. La secuencia de cruzamientos es igual a la ClB.

2.- DETECCION DE GENES LETALES PARA EL CROMOSOMA II DE *DROSOPHILA melanogaster* M..

En esta técnica se emplea una cepa que contiene genes letales balanceados como curly, lobe y plum; ambos cromosomas contienen también inversiones que suprimen el entrecruzamiento. A pesar de que estas moscas son heterocigóticas para los

tres genes mutantes CyL/Pm , la cepa se mantiene pura y todas las moscas que la forman llevan los tres mutantes en condición heterocigótica; pues resulta letal la combinación homocigótica. (fig. 9)

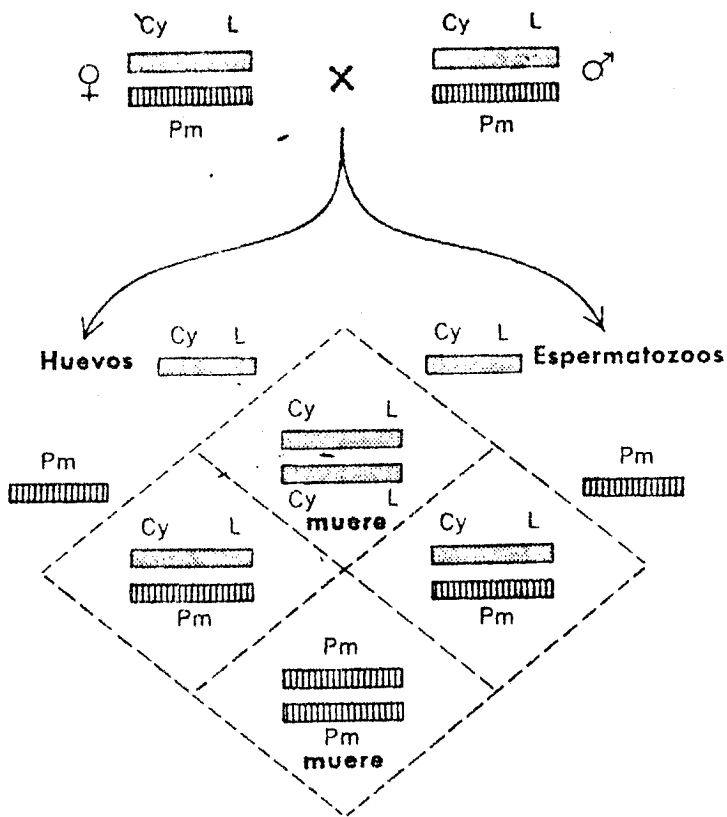


Fig. 9 "Sistemas letales equilibrados". Cada cromosoma es portador de un marcador dominante y de inversiones que impiden la recombinación. Aunque muere la mitad de la descendencia, la cepa puede conservarse pura debido a que todos los descendientes supervivientes son iguales que los padres. (Sinnot et al).

En la determinación de la proporción de letales en el cromosoma II, consecuencia de la acción de algún agen-

PRACTICA NUM. 19

DETECCION DE GENES LETALES LIGADOS AL SEXO

Objetivo:.- Dar la metodología técnica del diagnóstico de genes letales en el cromosoma sexual X de D. melanogaster M.

Materiales:

- a).- Agente mutagénico (se sugiere utilizar rayos X - con dosis hasta 3500 r.. Tambien se puede emplear el etil metano sulfonato, para tal efecto consulte el apéndice de este manual).
- b).- Línea silvestre.
- c).- Línea marcadora ClB.
- d).- Pomos de cultivo.
- e).- Utensilios de manejo.

METODOLOGIA DE PRACTICA.-

- 1.- Se toman 50 machos juvenes y se exponen al agente mutagénico.
- 2.- Se aislan hembras vírgenes de la línea portadora ClB.
- 3.- Se hace el apareamiento introduciendo 10 hembras con 10 machos por pomo.
- 4.- Al octavo día se eliminan los progenitores.
- 5.- Al décimo día se aislan hembras vírgenes de ClB (se pueden identificar porque las hembras heterocigóticas presentan ojo arrifionado).
- 6.- Se aparean las hembras vírgenes F_1 con machos normales introduciendo una hembra con tres machos - provenientes de líneas no tratadas en cultivos separados (procurando sujetar a estudio 200 hembras

- distribuidas en equipos).
- 7.- Al octavo día se eliminan los progenitores.
 - 8.- Al décimo quinto día se analiza a la generación resultante y se registran los datos en el cuadro. Cada progenie F_2 proviene de un cromosoma tratado de la generación P_1 . Si no aparecen machos en un cultivo, nos indica la letalidad en un cromosoma X; de aparecer en un número significativamente menor que el esperado, indicaría la presencia de genes subletales.
 - 9.- Se hacen los cálculos necesarios para cada equipo.
 - 10.- Se suman los resultados de todos los equipos y se obtienen las conclusiones.

NOMBRE. _____

CALIF. _____

GRUPO O SECCION _____

PRACTICA NUM. 19

P₁... _____ X _____

FECHAS CONTEO	HEMBRAS VIRGENES	CLB
TOTAL		

P₁...

EQUIPO Num. _____

TABLA DE CONCENTRACION DE DATOS

No. POMO	HEMBRAS		MACHOS		No. POMO	HEMBRAS		MACHOS	
	BARRA	+	BARRA	+		BARRA	+	BARRA	+

Resultados totales (suma de resultados parciales)
 Número de cultivos observados _____
 % de letales _____
 % de subletales _____

Conclusiones:

Nota: Se sugiere aplicar X^2 para los resultados que se sospecha se apartan significativamente de los esperados, con el fin de detectar subletales.

DETECCION DE GENES LETALES PARA EL CROMOSOMA II

Objetivo.- Dar la metodología técnica del diagnóstico de genes letales para el cromosoma II de D. melanogaster M.

Materiales:

- a).- Agente mutagénico (se sugiere utilizar rayos X con dosis hasta de 3500 r.. Tambien se puede emplear - el etil metano sulfonato, para tal efecto consulte el apéndice de este manual).
- b).- Línea silvestre.
- c).- Línea marcadora CyL/Pm.
- d).- Pomos para cultivo.
- e).- Utensilios de manejo.

METODOLOGIA DE PRACTICA.-

- 1.- Se toman 50 machos de la línea silvestre y se exponen al agente mutagénico.
- 2.- Se aislan hembras vírgenes de la línea CyL/Pm.
- 3.- Se aparean las hembras vírgenes con los machos tratados.
- 4.- Al octavo día se eliminan los progenitores.
- 5.- Al décimo día, se toman machos CyL de la F₁ y se aparean individualmente con hembras vírgenes de la línea CyL/Pm (un macho con tres hembras) con 10 repeticiones, (por equipo) hasta estudiar 200 machos.
- 6.- Al octavo día después de la siembra se eliminan los progenitores.

- 7.- Al décimo día se toman 5 parejas hermanas, CyL procedentes del mismo cultivo F_2 (hembras vírgenes y machos jóvenes) y se pasan a pomo nuevo para evaluar F_3 , esto se hace para cada uno de los pomos de los 200 machos en estudio.
- 8.- Al octavo día de la siembra anterior, se eliminan los adultos.
- 9.- Al décimo quinto día se evalúa la F_3 y se registran los datos en la tabla correspondiente. En esta F_3 , la cuarta parte de los cigotos morirá debido a que son homocigóticos para CyL. Entre los cigotos supervivientes, dos tercios llevarán el cromosoma CyL y el segundo cromosoma que se está probando. Mientras que una tercera parte serán homocigóticos para el cromosoma que se está probando. Si este cromosoma contiene algún gene mutante que se haya originado en el gameto del padre originario, una tercera parte de las moscas F_3 deben ser homocigóticas para este mutante. (por lo tanto morirán).

De acuerdo al diagrama de la fig. 10, se espera en la F_3 una proporción de 2 CyL : 1 (+); los cultivos que no muestren moscas del fenotipo silvestre, representan genes letales inducidos -

en un cromosoma II tratado en P_1 .

10.- Se hacen los cálculos necesarios y se obtienen las conclusiones. (por equipo).

11.- Se suman los datos de los equipos y se obtienen - los resultados finales.

PREGUNTAS:

- 1.- ¿Cómo se clasifican los genes letales?
- 2.- ¿Todos los agentes mutagénicos producen la misma proporción de aberraciones cromosómicas en relación con mutaciones de punto?
- 3.- ¿Qué importancia tienen las mutaciones naturales en el proceso evolutivo de las especies?
- 4.- ¿Por qué se dice que la mayoría de las mutaciones son del tipo deletereo?
- 5.- ¿En *Drosophila*, qué sexo transmite un gene letal recesivo ligado al sexo?
- 6.- ¿Qué es un individuo trisómico y cite ejemplos?
- 7.- ¿Cómo actúan las radiaciones sobre el material biológico?
- 8.- ¿Qué entiende por herencia extracromosómica?
- 9.- ¿Cómo se replica el A.D.N.?
- 10.- ¿Qué efecto tendría un gene letal dominante en una población?

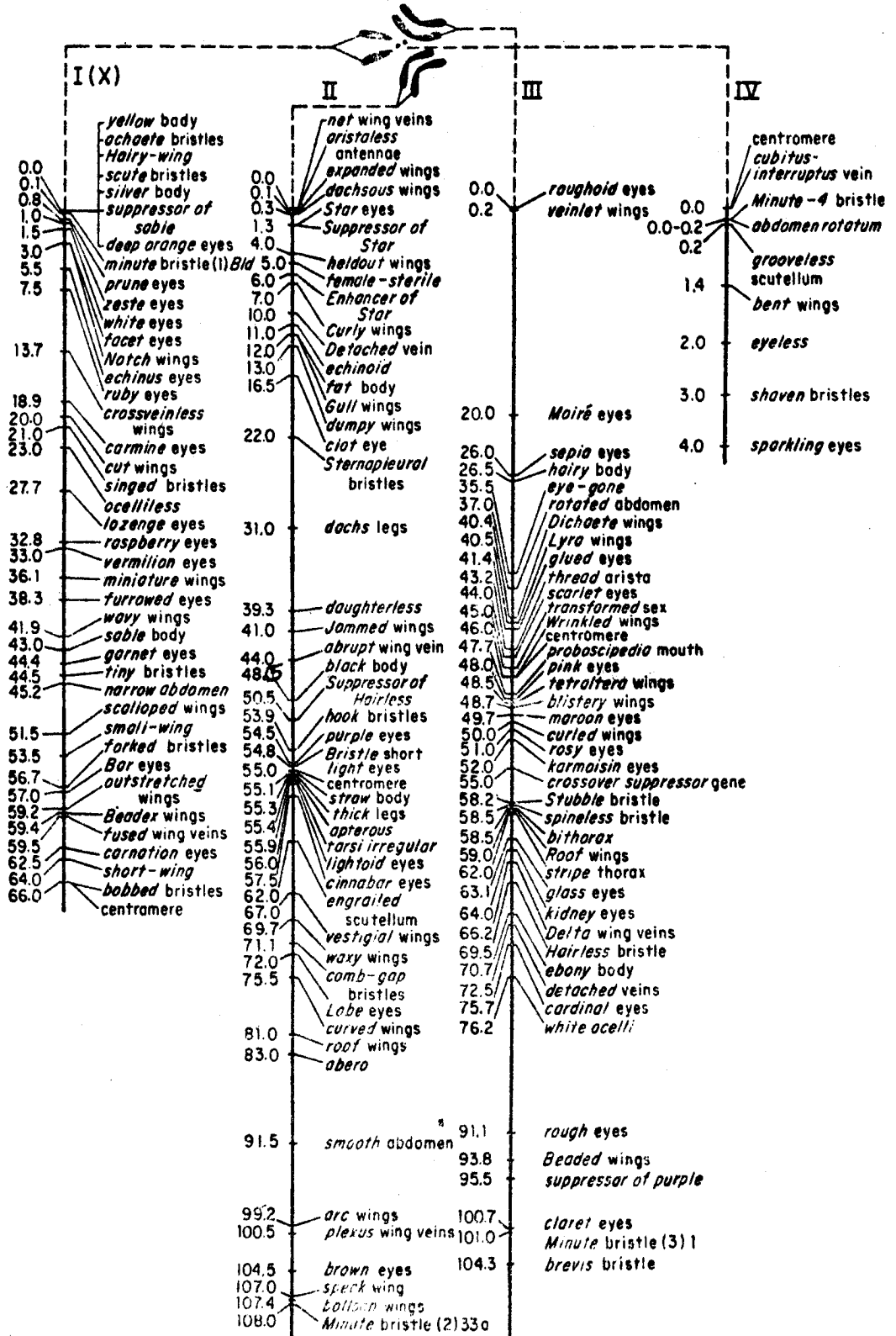
PROBLEMA.- Del cruce entre parejas de moscas F_2 CyL, habiendo se obtenido las distintas parejas a partir de distintos P_1 , se encontraron las siguientes moscas - por cultivo:

<u>Cultivo</u>	<u>CyL</u>	<u>Tipo salvaje</u>
1	281	142
2	210	112
3	180	0
4	199	18
5	211	115

¿Qué puede decirse acerca del segundo cromosoma de los 5 machos P_1 ? (Sinnot et al).

A P E N D I C E

MAPAS GENETICOS



Mapas genéticos de *Drosophila melanogaster* M. (segun Strickberger)

CUADRO SINOPTICO DE MUTANTES DE DROSOPHILA melanogaster M.

MUTANTE	SIM-BOLO	CARACTERISTICA DISTINTIVA	CROMO-SOMA	POSI-CION
SILVESTRE	(+)	Posee todos los alelos del fenotipo normal	----	----
BLACK BODY	(b)	Cuerpo oscuro	II	48.5
CROSSVEINLESS	(cv)	Alas sin venas cruzas	I	13.7
CURLY	(Cy)	Alas rizadas	II	7.0
DUMPY	(dp)	Alas escotadas	II	13.0
EBONY	(e)	Cuerpo oscuro	III	70.7
FORKED	(f)	Setas furcadas	I	56.7
LOBE	(L)	Ojo con muesca	II	72.0
PLUM	(Pm)	Ojo color ciruela	II	104.5
SCUTE	(sc)	3 o menos setas en el escu telum.	I	0.0
SEPIA	(se)	Ojo café oscuro	III	26.0
SPINELESS	(ss)	Sin setas	III	58.5
VERMILION	(v)	Ojo de color rojo brillante	I	33.0
VESTIGIAL	(vg)	Alas vestigiales	II	67.0
WHITE	(w)	Ojo blanco	I	1.5
YELLOW	(y)	Cuerpo amarillo	I	0.0

TABLA DE DISTRIBUCION DE χ^2

GRADOS DE LIBERTAD	PROBABILIDAD											SIGNIFICATIVO
	0.09	0.90	0.80	0.70	0.50	0.30	0.20	0.10	0.05	0.01	0.001	
1	0.004	0.02	0.06	0.15	0.46	1.07	1.64	2.71	3.84	6.64	10.83	
2	0.10	0.21	0.45	0.71	1.39	2.41	3.22	4.60	5.99	9.21	13.82	
3	0.35	0.58	1.01	1.42	2.37	3.66	4.64	6.25	7.82	11.34	16.27	
4	0.71	1.06	1.65	2.20	3.36	4.88	5.99	7.78	9.49	13.28	18.47	
5	1.14	1.61	2.34	3.00	4.35	6.06	7.29	9.24	11.07	15.09	20.52	
6	1.63	2.20	3.07	3.83	5.35	7.23	8.56	10.64	12.59	16.81	22.46	
7	2.17	2.83	3.82	4.67	6.35	8.38	9.80	12.02	14.07	18.48	24.32	
8	2.73	3.49	4.59	5.53	7.34	9.52	11.03	13.36	15.51	20.09	26.12	
9	3.32	4.17	5.38	6.39	8.34	10.66	12.24	14.68	16.92	21.67	27.88	
10	3.94	4.86	6.18	7.27	9.34	11.78	13.44	15.99	18.31	23.21	29.59	
NO SIGNIFICATIVO											SIGNIFICATIVO	

PROVEEDORES DE LINEAS MUTANTES DE DROSOPHILA melanogaster M..

COLEGIO DE GRADUADOS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
DE CHAPINGO ESTADO DE MEXICO.

COLEGIO DE GRADUADOS DE LA UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO".

COLEGIO DE GRADUADOS DE LA ESCUELA SUPERIOR DE AGRICULTURA
"HERMANOS ESCOBAR".

PROVEEDORES DE MATERIAL Y EQUIPO

Bioxon de México, S. A.

Dr. Liceaga Num. 117

Oaxaca, Oax.

Casa Nireles

Washington Pte. 2744

Apdo. postal 1429

Tels. 46-02-42

Monterrey, N. L.

Casa Roca

Cuauhtémoc 483 Sur

Apdo. postal 233

Monterrey, N. L.

Productos Químicos de Monterrey, S. A.

Apdo. postal 195

Monterrey, N. L.

Proveedora del Hogar (P H).

Allende Num. 220 Nte.

Saltillo, Coah.

Sigma Chemical company

P. O. Box 14508

St. Louis, Missouri 63178

U. S. A.

Sigma de México S. A.

Durango 104

Apdo. postal 24-336

México 7 D. F.

Vidriera Monterrey S. A.

PREPARACION DE COLORANTES

1.- ACETO-CARMIN.-

Preparar 100 ml. de ácido acético al 45 % en agua y colocarlo en un matraz Erlenmeyer para ebullición; al iniciarse ésta, se retira del fuego y se agrega un gramo de carmín, con sumo cuidado, a fin de evitar un derrame. El matraz se coloca nuevamente en la flama, y en la boca de éste se coloca un frasco pequeño, o bien un sistema condensador (serpentín enfriado por una corriente de agua fría), y a fuego lento se deja hervir por espacio de 3 a 4 horas; se deja enfriar y se filtra. Después se almacena en un frasco color ámbar bajo refrigeración.

Para la elaboración de carmín-propiónico, se procede de igual manera, cambiando unicamente el ácido acético por ácido propiónico.

2.- ACETO-ORCEINA.-

Puede procederse como en el caso anterior, o bien, se prepara una solución madre, para lo cual se disuelven -- 2.25 g. de orceína sintética en 100 ml. de ácido acético glacial y se hierve lentamente de 2 a 3 horas, dejándose enfriar y se filtra. Deberá almacenarse bajo refrigeración. Cuando se desee utilizar se toman 4.5 ml. de esta solución y se mezclan con 5.5 ml. de agua destilada.

PREPARACIONES PERMANENTES

(de cromosomas politénicos)

Al hacer este tipo de preparaciones el cubreobjetos se despega después de presionar las glándulas, por lo que es necesario adherir en alguna forma los cromosomas al portaobjetos. Para este propósito se tratan los portaobjetos previamente con una solución de albúmina preparada con los siguientes ingredientes: 100 cc. de agua destilada, 25 gramos de albúmina de huevo en polvo y 0.5 gramos de timol (como preservativo). Se deja en reposo a la mezcla durante varios días preferentemente en lugar frío, hasta que la albúmina no disuelta se haya precipitado. Se separa por decantación la parte clara superior que se va a usar. La dispersión uniforme de una gota de esta albúmina sobre el portaobjetos se hace con otro portaobjetos que se desliza sobre uno de los bordes. La película de albúmina debe estar perfectamente seca antes de colocar las glándulas; mientras tanto los portaobjetos se almacenan en un receptáculo libre de polvo

Se hace la disección de la larva, se obtienen las glándulas y se colocan sobre un portaobjetos albuminado con una pequeña gota de colorante. La extensión de los cromosomas se obtiene en la forma tradicional. Las preparaciones se colocan después en un recipiente con papel absorbente cubierto con alcohol a 95° (baño de vapores de alcohol) de tal manera que el borde inferior del cubreobjetos ape--

nas toque el alcohol. Después de 12 horas se sumerge la preparación en alcohol a 95°. El cubreobjetos se desprende por su peso o bien se despega con un instrumento afilado que puede ser una hoja de afeitar, al insertar ésta cuidadosamente en uno de los bordes del cubreobjetos. A continuación las preparaciones se pasan sucesivamente por alcohol y xilol u otro agente aclarador para después montarlas con bálsamo, después de deshidratar con alcohol de 95°; también se emplea un tipo similar de solución que se prepara disolviendo goma de Sandarac en una mezcla de 2 partes de aceite de eucalipto y una parte de paraldehido hasta obtener un líquido de consistencia semejante a la miel espesa. Las tres substancias se disuelven en alcohol de 95°. Inmediatamente después de remover el cubreobjetos con alcohol, se cubren las células de las glándulas salivales con una gota del medio de montaje euparal o bálsamo de Canadá que se extiende al aplicar un cubreobjetos limpio. El medio de montaje se endurece lentamente -con más rapidez- si se coloca la preparación cerca de un radiador caliente. La preparación está lista para su examen y se conserva así por tiempo indefinido. (Demerec y Kaufmann 1962).

APLICACION DE ETIL METANO SULFONATO ($\text{CH}_3 - \text{SO}_3 - \text{OCH}_3$)

Para emplear el etil metano sulfonato como agente mutagénico en D. melanogaster M., se recomienda tomar las precauciones pertinentes de seguridad para evitar contactos con la piel.

En la exposición del material biológico a la acción de este agente, puede procederse de la siguiente manera:

- a).- Se prepara el alimento necesario para el número de pomos deseados. En función del agua, se determina la cantidad de E. M. S. que habrá de aplicarse, procurando que no exceda del .1 %. La adición del agente mutagénico se realiza cuando la temperatura del alimento (antes de vaciarse) se encuentre a 50°C , agitando perfectamente por 5 minutos, y se procede a vaciar en los pomos.
- b).- Se deja enfriar por 6 horas.
- c).- Se introducen 10 parejas de la línea silvestre por pomo (no necesariamente hembras vírgenes).
- d).- A las 48 horas se eliminan a los adultos.
- e).- Al décimo día en adelante se obtienen los machos tratados para sujetarse a estudio.

R E F E R E N C I A S

- Altenburg, E. and L. S. Browning 1961. The relatively high frequency of whole - body mutation compared with fractionals induced by X rays in Drosophila sperm. Genetics 46: 203 - 212.
- Bridges, C. B. 1917. Deficiency. Genetics 2: 445 - 465.
- Bridges, C. B. 1919. Vermilion - Deficiency. Jour. Gen. Physiol. 1: 645 - 656.
- Bridges, C. B. 1923. The translocation of a section of chromosome II upon chromosome III in Drosophila. Anat. Rec. 24: 426 - 427.
- Bridges, C. B. 1932. Apparatus and metodos for Drosophila culture. American naturalist Vol. 66 pp. 250-273.
- Bridges, C. B. and K. S. Brehme 1944. The mutants of Drosophila melanogaster, Washington: Carnegie Institution of Washington, publication 552.
- Buzzati-Traverso, A. A. 1955. Evolutionary changes in components of fitness and others poligenic traits in Drosophila melanogaster. Genetics 62: 811 - 818.
- Chetverikov, S. S. 1926. Cumulative effects of evolutionary factors from the modern genetic standpoint. Jour. Biol. exp. Ser A, 2(1): 3 - 54.
- Delgado de la Flor, B. F. 1972. Frecuencia de mutaciones inducidas por radiación gamma y metano sulfonato de etilo en diferentes estados de germinación de las semillas de frijol (Phaseolus vulgaris L.). Universidad Nacional Técnica del Altiplano, Puno, Perú.
- Demerec, M. and M. E. Hoover 1936. Deficiencies in the forked region of the X-chromosome of Drosophila melanogaster. Amer. Nat. 70: 47.
- Demerec, M. and B. P. Kaufmann 1962. Introducción a la Genética y Citología de Drosophila melanogaster. Traducción del Inglés por R. Felix Estrada. Comisión Nacional de Energia Nuclear. México. 56 pp.

- Dyer, K. F. and M. G. Lamb 1971. The effect of radiation on small competing population of Drosophila melanogaster IV changes in longevity. Genetics 68:559-569.
- Espinoza, V. J. 1975. Componentes genéticos de una población natural de Drosophila melanogaster de Culiacan, Sinaloa. Tesis de Maestro en Ciencias. Escuela Nacional de Agricultura. Colegio de Posgraduados, Chapingo, México. 47 p.
- Felix, Salceda, Ramirez y Garay _____ Informe "C" Programa de Genética y Radiobiología. Comisión Nacional de Energía Nuclear.
- Gowen, J. W. and J. Stadler 1951. Irradiation effects on viability of Drosophila melanogaster. Anat. Record 111:122.
- Hochman, B. 1970. Analysis of chromosome IV in Drosophila melanogaster II ethyl methane sulfonate induced lethals. Genetics 67:235-252.
- Jenkins, J. B. 1967. Mutagenesis at a complex locus in Drosophila with the monofunctional alkylating agent, ethyl methane sulfonate. Genetics 57(4): 783-793.
- Levine, L. and N. M. Schwartz 1973. Laboratory exercises in Genetics the C. V. Mosby company.
- Lewis, E. B. and F. Bacher 1968. Method of feeding ethyl methane sulfonate (E.M.S.) to Drosophila males. Drosophila inform. Serv. 43:193.
- Mohr, O. 1923. A genetic and cytological analysis of a section deficiency involving four units of the X chromosomes of Drosophila melanogaster. Z. Ind. Abst. Vererb 32:108-232.
- Morgan, T. H. 1910. A the method of inheritance of two sex-limited characters in the same animal. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. Vol. 8, p 17.
- Morgan, T. H. 1910. Sex limited inheritance in Drosophila Science, 32:120-122.

- Morgan, T. H. 1911. An attempt to analyze the constitution of the chromosomes on the basis of sex-limited inheritance in Drosophila. Jour. Exp. Zool., vol. 11, p 365.
- Morgan, T. H. 1911. Random segregation versus coupling in Mendelian inheritance. Science, 34:384.
- Mukai, T. and T. Yamazaki 1964. Position effect of spontaneous mutant polygenes controlling viability in Drosophila melanogaster. Proc. Japan Acad. 40: 840-845.
- Mukai, T. and T. Yamazaki 1968. The genetic structure of natural populations of Drosophila melanogaster. V. coupling-repulsion effect of spontaneous mutant polygenes controlling viability. Genetics 59:513-539.
- Mukai, T. 1969. Viability mutations induced by ethyl methanesulfonate in Drosophila melanogaster. Genetics 65:335-348.
- Muller, H. J. 1927. Artificial transmutation of the gene Science 66:84-87.
- Muller, H. J. 1950. Our load of mutations. Am. J. Hum. Genetics 2:111-176.
- Robles, S. R. 1971. Terminología, Fitogenética y Citogenética. Ed. Herrero Hnos., Sucesores S. A. México.
- Salceda, V. M. 1970. Algunos componentes genéticos de cuatro poblaciones experimentales de Drosophila melanogaster. Tesis Doctoral, México. UNAM. 61 p.
- Sankaranarayanan, K. 1964. Genetic loads in irradiated experimental populations of Drosophila melanogaster. Genetics 50:131-150.
- Sinnot, E. W. Dunn, L. C. y Dobzhansky T. 1958. Principles of Genetics 5th Ed. New York: Mc. Graw-hill book company Inc.
- Sinnot, E. W. Dunn, L. C. y Dobzhansky T. 1970. Principios de Genética. Cuarta edición. Ed. Omega.

- Sturtevant, A. H. 1913. The linear arrangement of six sex-linked factor in Drosophila, as shown by their mode of association. *Journal of Experimental Zoology* 14:43-59.
- Sturtevant, A. H. and C. R. Plunkett 1926. Sequence of corresponding third chromosome genes in Drosophila melanogaster and D. simulans. *Biol. Bull.* 50:56-60.
- Tobari, I. and M. Murata 1970. Effects of X ray on genetic loads in a cage population of Drosophila melanogaster. *Genetics.* 63:107-119.
- Umaerus, Magnhild 1967. Somatic aberrations in Solanum tuberosum induced by ethyl methane sulfonate an X-irradiation. *Hereditas* 57(3):447-448.
- Wallace, B. and J. C. King 1951. Genetics changes in populations under irradiation. *Amer. Nat.* 85:209-222.