

PRÁCTICAS
PRINCIPIOS DE GENÉTICA
Y
MEJORA VEGETAL

3º I.A. 08/09

Gumer Pérez Garrido

Departamento Producción Agraria

Universidad Pública de Navarra

Indice:

1. Mitosis
2. Control cromosómico
3. Cariotipo
4. Meiosis
5. Ciclo de *Drosophila melanogaster*
6. Herencia de un gen autosómico
7. Herencia ligada al sexo
8. Casos prácticos leyes de Mendel. Mendelismo simple y complejo
9. Prueba de bondad de ajuste

Mitosis

La división celular es el fenómeno por el cual una célula origina 2 células hijas, cada una de las cuales recibe, en condiciones normales, idéntica información genética.

La mitosis, comprende 2 mecanismos: La **cariocinesis**, es decir, la división del núcleo, que asegura el reparto equitativo del material hereditario y la **citocinesis**, que reparte los orgánulos y componentes citoplasmáticos a las células hijas, separándolas e independizándolas. Normalmente, la cariocinesis y la citocinesis son mecanismos sincronizados en ese orden, constituyendo juntos el proceso de división celular, aunque no siempre se produce esa sincronización.

La división celular origina 2 células genéticamente idénticas entre sí e idénticas a la célula que les dio origen, manteniendo el número cromosómico de la célula parental preexistente. Para dividirse la célula, primeramente es necesario que se duplique su material genético contenido en el núcleo, para luego repartirlo en partes iguales a las células hijas. También tiene que aumentar su contenido citoplasmático para poderlo repartir entre las dos nuevas células. Sin embargo, la división del citoplasma no es tan exacta o equitativa como la del núcleo.

1. Mitosis o cariocinesis

La mitosis consta de las siguientes fases: profase, metafase, anafase y telofase. La mitosis es un proceso continuo, la separación en distintas fases se ha realizado para la comodidad de estudio.

Interfase

No es una fase de la mitosis, es el período entre 2 mitosis sucesivas. En la interfase se distingue el núcleo con la cromatina y los nucleolos. La cromatina se definió, en principio, como la sustancia que constituye el núcleo interfásico y muestra ciertas propiedades de tinción por colorantes básicos. La mayoría de los autores la definen como la asociación de ADN e histonas. La interfase se divide en tres subfases:

G_1 , período anterior a la duplicación de la cromatina.

S, período de síntesis de la cromatina o de replicación del ADN y síntesis de histonas.

G_2 , fase posterior a la duplicación de la cromatina y anterior al inicio de la siguiente mitosis.

La duración relativa de G_1 , S y G_2 varía de una especie a otra y depende así mismo de la célula de la que se trate. Durante estos 3 períodos se produce la síntesis de proteínas. La síntesis de ARN se produce sobre todo en los periodos G_1 y G_2 . Cuando una célula no va a dividirse de nuevo y el núcleo interfásico no entra en el período S se dice que la célula se halla en período G_0 .

1.1. Profase

La cromatina comienza a condensarse y espiralizarse formando los cromosomas. Durante toda la profase los cromosomas van acortándose debido a este proceso progresivo de espiralización. Los cromosomas desde el principio aparecen formados por **dos cromátidas hermanas** que son, **genética y morfológicamente idénticas**. Ambas cromátidas se mantienen unidas por el **centrómero**. Mientras la membrana nuclear esté intacta y el o los nucleolos sean visibles, se dice que la célula está en profase.

Al final del periodo profásico el nucleolo o nucleolos se desorganizan y la membrana nuclear se desintegra. Los cromosomas quedan libres en el espacio celular. Mientras tanto, en el citoplasma, los centriolos se han duplicado y cada diplosoma (par de centriolos), ha emigrado a un polo de la célula. Entre ambos se forma y se extiende el huso acromático o mitótico, constituido por filamentos (fibras del áster), en los que se insertan los cromosomas por el centrómero y comienzan a emigrar hacia la placa ecuatorial. Este período desde que desaparece la membrana nuclear hasta que los cromosomas se localizan en el plano ecuatorial se denomina **prometáfase**.

1.2. Metafase

Los cromosomas han alcanzado su máximo grado de espiralización. Se disponen en círculo en la placa ecuatorial con los centrómeros perfectamente orientados, con cada cromátida hacia un polo celular. Esta orientación asegura la correcta separación en la fase siguiente.

La acción de determinados tratamientos como la colchicina, la colcemida, la mescalina, la hidroxiquinoleína, el bromonaftaleno, el paradiclorobenceno etc. o agua con hielo, inhiben la formación de los microtúbulos y por tanto la migración hacia los polos en anafase. Estos tratamientos se utilizan en citogenética experimental para acumular células en metafase, que resultan apropiadas para el análisis cariotípico.

1.3. Anafase

En esta fase las cromátidas de cada cromosoma se separan y emigran hacia los polos, de manera que a cada uno van $2n$ cromátidas. Este movimiento se realiza gracias al huso acromático. Como ambas cromátidas son idénticas, porque se formaron por duplicación de la fase S de la interfase, los polos celulares reciben, exactamente el mismo material genético. La anafase concluye cuando todos los cromosomas han alcanzado los polos.

1.4. Telofase

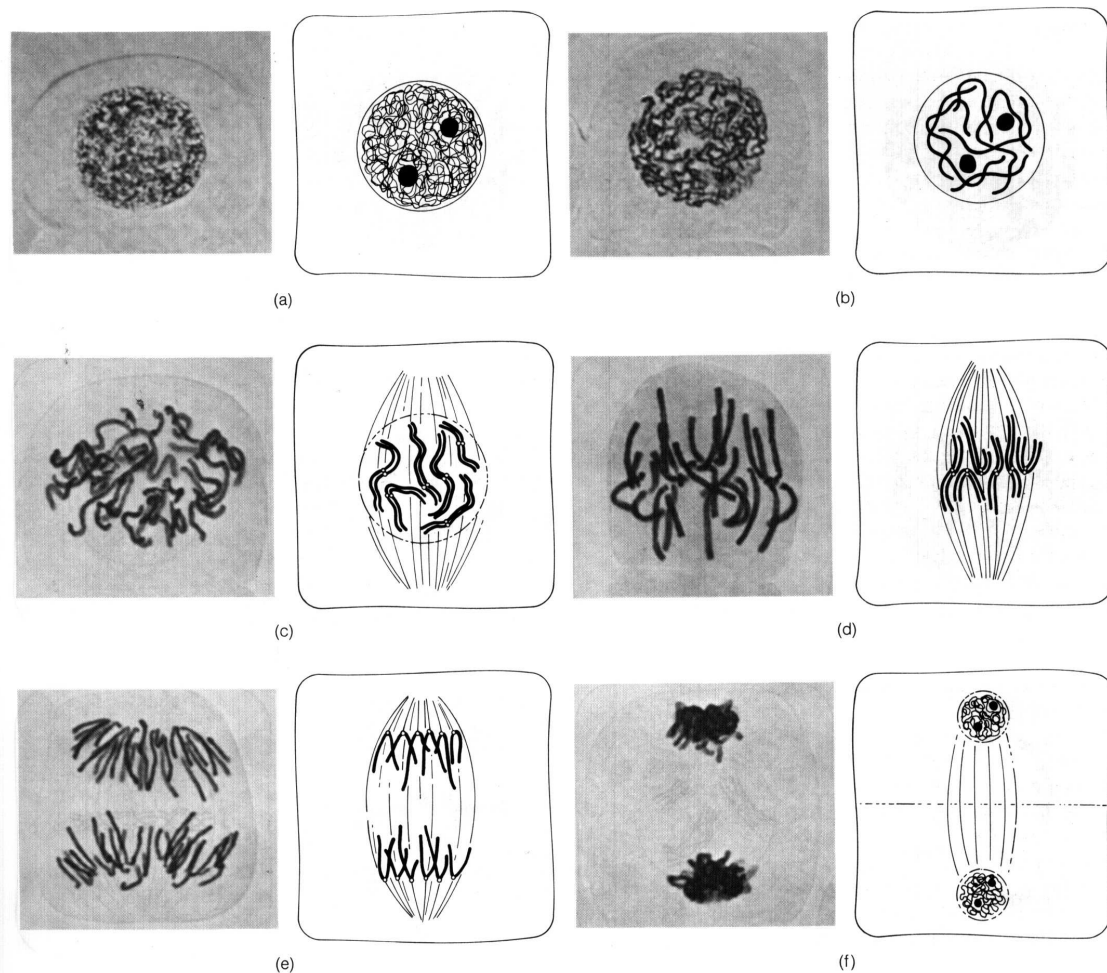
Las cromátidas han terminado su migración hacia los polos. La membrana nuclear se reconstruye alrededor de las cromátidas, los nucleolos vuelven a formarse y las cromátidas se desespiralizan volviendo a formar la cromatina. Se han formado 2 núcleos hijos.

2. Citocinesis

La **citocinesis** es el proceso por el cual el citoplasma de la célula madre queda distribuido entre las 2 células hijas y estas se independizan por la formación de la membrana celular. La separación de las 2 células hijas es diferente en células animales y vegetales.

En las **células animales** se produce la plasmocinesis, en la que a partir de la periferia de la célula el citoplasma se va estrangulando hasta que las células hijas se ponen en contacto.

En las **células vegetales** se forman vesículas membranosas en la zona comprendida entre los núcleos hijos. Estas vesículas se fusionan unas con otras dando origen a la membrana plasmática, quedando entre las membranas el contenido de las vesículas que constituirá la pared celular.



Mitosis en células de la punta de la raíz de *Lilium regale*. a) Interfase, b) Profase temprana, c) Profase tardía, d) Metafase, e) Anafase, f) Telofase. (De J. McLeish y B. Noad, *Looking at chromosomes*. Copyright. 1958. Macmillan.)

3. Variaciones en el proceso de división celular

3.1. Variaciones en la replicación y reparto del material hereditario.

3.1.1. Endorreduplicación.

Es el fenómeno en el cual después de un periodo de síntesis (S) **el núcleo no entra en mitosis**, sino que vuelve a experimentar otro periodo S. Los cromosomas vuelven a reproducir sus cromátidas formándose **cromosomas con 4 cromátidas** (duplocromosoma), con ocho (cuadрупlocromosomas), si vuelve a producirse el proceso, etc.

El caso extremo de la endorreduplicación es la **politenia**, que da lugar a los **cromosomas gigantes** o **cromosomas politénicos** encontrados en glándulas salivales y otros tejidos de gran actividad metabólica en dípteros e incluso en vegetales. Los cromosomas politénicos resultan de procesos de síntesis ininterrumpidos.

3.1.2. Haplocromosomas

Es el fenómeno contrario a la endorreduplicación. Los núcleos telofásicos con cromosomas de una sola cromátida entran en división sin haber pasado por el periodo de síntesis. En este caso los **cromosomas metafásicos tendrán una sola cromátida** y el proceso mitótico se detiene en metafase.

3.2. Variaciones en los estadios mitóticos.

3.2.1. Endomitosis.

Es el proceso en el cual al final de la profase **no desaparece la membrana nuclear**, continuando el proceso mitótico en el interior de la misma. Las cromátidas en la endoanafase se separan pero no emigran a los polos, ni hay citocinesis (separación de citoplasmas). Al entrar en interfase en el período S siguiente darán lugar a **4n cromosomas**. Este fenómeno se conoce como **endopoliploidía**.

3.2.2. Variaciones en la anafase. C-Mitosis.

Algunos tratamientos como la colchicina, desorganizan los microtúbulos, impidiendo la emigración de las cromátidas hacia los polos y la citocinesis. En la anafase las cromátidas se separan pero no emigran a los polos. Por tanto, en la siguiente división celular las 4n cromátidas aparecerán como **4n cromosomas**. Las células serán **autotetraploides**.

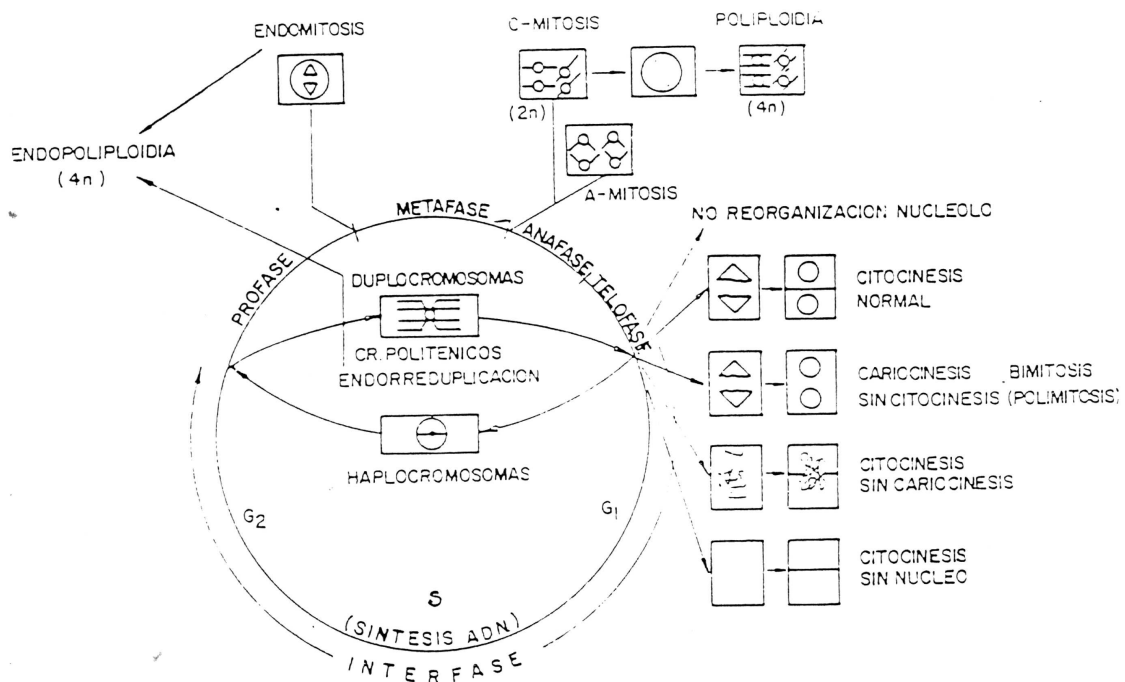
3.3. Variaciones que afectan a la citocinesis en relación con la cariocinesis.

3.3.1. Cariocinesis sin citocinesis.

Se producen células binucleadas, por aplicación de tratamientos físicos o químicos como la cafeína aplicada en telofase.

3.3.2. Citocinesis sin cariocinesis.

Se producen células anucleadas, por la aplicación de bromuro de etidio.



TRABAJO PRÁCTICO

Observación de distintas fases de la mitosis en ápices radiculares de cebolla.

1. Obtención del material.

Se cortan raíces jóvenes de cebolla, aproximadamente unos 20 mm, comprobando que conservan el ápice radicular, que se distinguirá por el cambio de color.

2. Fijación.

Se prepara la mezcla fijadora. Existen diversos fijadores:

- 3 Etanol:1 Acético (Carnoy).

- 3 Metanol:1 Acético

- 7 Metanol:3 Acético

- 3 Metanol:1 Propiónico

- 4 Etanol:1 Acético:1 Cloroformo

Según el fijador utilizado el tiempo y temperatura de la fijación varía. Las raicillas de cebolla se han fijado en 3 Metanol:1 Acético a 4°C.

3. Conservación

Se lava el material varias veces con la mezcla fijadora y se conserva a 4°C.

4. Preparación

Las raicillas de cebolla que se hallan en mezcla fijadora se hidrolizan en HCl 1N durante 10 minutos a 60°C.

Transcurridos los 10 minutos de la hidrólisis, se lavan las raicillas en agua destilada y se colocan las raicillas sobre una gota de orceína acética o de orceína lactopropiónica para su tinción, durante 10 a 15 minutos. A continuación se realiza la preparación. Primeramente, se toma una raicilla y se coloca sobre un vidrio portaobjetos y se corta el ápice radicular con un bisturí. Para realizar esta operación se utiliza la lupa. Este ápice radicular redondeado se deposita sobre una pequeña gota de colorante en el portaobjetos. Seguidamente se coloca un cubreobjetos sobre el material que deseamos observar. Con la ayuda de un bastoncillo de madera se golpea y extiende el material. A continuación se presiona con el dedo pulgar y se retira el exceso de colorante con un papel de filtro.

5. Observación.

Se observa al microscopio empezando con el objetivo de menor aumento. No es necesario utilizar el objetivo de inmersión. Se deben distinguir y dibujar, tal y como se ven, todas las fases de la mitosis.

Cuestionario de prácticas

1. Dibuje cada una de las distintas fases de la mitosis, además de la interfase.
2. ¿Por qué se encuentra mayor número de células en interfase que en división en las preparaciones de raíz de cebolla?
3. La cebolla *Allium cepa* es una especie vegetal con $2n=16$ cromosomas ¿Cuántas cromátidas recibe cada polo en anafase?
4. ¿Cuántas cromátidas tiene uno de los cromosomas de cebolla en telofase?
5. Un individuo diploide y homocigótico AA, ¿Cuántas copias del alelo A tiene en el periodo G1 de la interfase y cuántas en metafase?
6. Un individuo diploide y heterocigótico Aa, ¿Cuántas copias del alelo A tiene en el periodo G1 de la interfase y cuántas en metafase?
6. ¿Existe alguna diferencia entre endomitosis y endoreduplicación?
7. ¿Por qué se bloquea la continuación de la mitosis en metafase en especies que presentan haplocromosomas?.

Control cromosómico

Según hemos visto, el ciclo celular comprende dos periodos fundamentales, interfase y división celular. La mayor parte de la vida de una célula transcurre en interfase. La división celular es el fenómeno citológico por el que una célula eucariótica origina dos células hijas con idéntica información genética nuclear. La función esencial de los cromosomas es conservar, transmitir y expresar la información genética que contienen. Los cromosomas no se observan como tales al examinar al microscopio los núcleos en reposo. Durante la profase mitótica, los cromosomas se van constituyendo en cuerpos. En metafase, los cromosomas se encuentran perfectamente individualizados, adquieren su mayor grado de compactación lo cual los hace más fácilmente observables a microscopio de luz; además se encuentran situados en el ecuador de la célula, unidos al huso acromático por el centrómero. Cada cromosoma interfásico debe experimentar una serie de fenómenos que le convierten en un cromosoma metafásico, con una morfología característica.

Por todo ello, para visualizar y contar el número de cromosomas de una especie, es imprescindible disponer de un material celular en división. Al realizar un control cromosómico interesa, por una parte, detener la división celular en metafase, de manera que el número de células en las que se observan cromosomas sea mayor, y por otra parte, inducir a la compactación máxima de los cromosomas.

Los tratamientos que se aplican para detener la mitosis en metafase se denominan C-mitóticos, actúan de dos maneras, destruyendo el huso acromático o disminuyendo la energía. Desorganizando el huso acromático se impide que los cromosomas se separen por el centrómero y las cromátidas emigren a los polos, es decir que no se produce la anafase. Por otra parte, al destruir el huso acromático, los cromosomas quedan sueltos y es más fácil visualizarlos.

TRABAJO PRÁCTICO

Control del número de cromosomas de distintas especies vegetales.

1-Obtención del material

Se cortan raíces jóvenes de distintas especies, de manera similar que en la práctica de mitosis.

2-Tratamiento c-mitótico

Las raicillas se colocan en agua destilada con hielo dentro de una cámara frigorífica (0-4°C) durante 24 horas.

3. Fijación

Antes de aplicar el fijador se debe colocar el material en agua. La fijación debe ser inmediata, durante 2 horas mínimo. Se utilizará el mismo fijador que en prácticas anteriores.

4. Conservación

5. Hidrólisis

6. Tinción

7. Preparación

De manera similar que en la práctica de mitosis.

CUESTIONARIO

1-Dibuje una célula metafásica de cebolla y otra de lenteja.

2-¿Qué diferencia existe entre las células metafásicas observadas en la práctica de mitosis y en esta práctica de control cromosómico?

3-¿Qué número de cromosomas tiene cada una de las especies utilizadas en esta práctica?

Meiosis

La meiosis es un proceso celular, ligado a la reproducción sexual, por el cual, la célula madre de naturaleza **diploide**, da origen a los gametos de naturaleza **haploide**, de tal manera que en la fecundación se reestablece el número diploide de cromosomas. Así, mientras la mitosis es un proceso de división celular con formación de dos núcleos hijos con el mismo número de cromosomas que la célula original, en la meiosis en cambio hay dos divisiones celulares con reducción del número de cromosomas a la mitad.

Fases de la meiosis

La meiosis es un proceso citológico que comprende dos divisiones celulares. En la primera división meiótica ocurre una serie de intercambios de material genético entre los cromosomas homólogos. Este fenómeno es un proceso complejo que comprende una larga profase en la que, para su mejor estudio y comprensión, se distinguen los estadios: Leptoteno, Cigoteno, Paquiteno, Diploteno y Diacinesis.

Profase I

Leptoteno. El comienzo de la profase I de la célula se caracteriza porque los cromosomas que se encuentran completamente desenrollados en el núcleo, debido a los procesos de síntesis de los momentos premeióticos, comienzan a estructurarse según un doble modelo de espiralización, que conduce en definitiva a un aumento del volumen nuclear.

Cigoteno. La célula diploide presenta en estos momentos $2n$ cromosomas homólogos completamente espiralizados (contraídos), los cuales se aparean cada uno con su homólogo. Es una sinapsis perfecta, cromómero a cromómero, formando por tanto **n bivalentes**.

Paquiteno. En este estadio se terminaliza el apareamiento de los cromosomas homólogos n -bivalentes se visualizan engrosados, y cada uno de los cromosomas compuestos de dos cromátidas, hace que el bivalente se presente como una **tétrada**.

Diploteno. Las dobles parejas de cromátidas homólogas comienzan a separarse, permaneciendo unidas por ciertos puntos que son los **quiasmas**, los cuales constituyen la visualización citológica del mecanismo de intercambio de material genético denominado **sobrecruzamiento (crossing-over)**.

Diacinesis. En este estadio las tétradas aparecen muy condensadas con bucles unidos por los quiasmas; al mismo tiempo que se terminalizan hacia los extremos de la tétrada.

Metafase I

A lo largo de la profase I, los centriolos duplicados se orientan dos a dos, hacia cada uno de los polos de la célula, visualizándose ya en la metafase I el aparato mitótico, al mismo tiempo que las tétradas se disponen en la placa ecuatorial del aparato mitótico.

Anafase I

En este estadio ocurre la rotura y desaparición de la membrana nuclear y la migración de **n cromosomas** a cada polo. Es importante señalar en primer lugar que la repartición de n cromosomas homólogos a cada polo ocurre al azar, y en segundo lugar que a diferencia con la mitosis, en esta primera división meiótica no hay división longitudinal del centrómero, y por lo tanto separación de las cromátidas, sino que éstas permanecen unidas por sus respectivos centrómeros. Por lo tanto, esta división meiótica I es una **división reduccional**.

Telofase I

Ocurre la individualización de las dos células de la división meiótica I, con la aparición de la membrana plasmática que las separa, y la reaparición de la membrana nuclear.

División meiótica II

Entre la telofase I y el comienzo de la segunda división meiótica, a diferencia con la mitosis, no hay un período de síntesis y duplicación del ADN, por lo demás la división meiótica II, tiene lugar como la mitosis normal en cada una de las células haploides (**meiocitos de segundo orden**), resultantes de la división meiótica I.

Profase II

En este estadio los centriolos aparecen duplicados y migran dos a dos hacia los polos, constituyendo el huso mitótico.

Metafase II

Los n cromosomas de cada una de las células hijas, se disponen en la placa ecuatorial del huso, al mismo tiempo que desaparece la membrana nuclear.

Anafase II

Ocurre la división longitudinal del centrómero y repartición al azar de n cromátidas a cada uno de los polos, de modo que las cromátidas hermanas (que no serán idénticas por el sobrecruzamiento) van siempre a lados opuestos.

Telofase II

En esta fase tiene lugar la individualización de las cuatro células hijas, con aparición de las membranas plasmática y nuclear. Ahora bien, a diferencia con la mitosis, las dos células resultantes de cada meiocito de segundo orden son diferentes, porque sus cromátidas han intercambiado material genético previamente en la profase I. A continuación, ocurre la desespiralización de las cromátidas y el periodo de síntesis y duplicación del ADN. No obstante, se presentan numerosas excepciones a este esquema general de la meiosis, según sean los ciclos haplontes, diplontes o diplohaplontes de las especies, o en una misma especie en la espermatogénesis y ovogénesis.

Diferencias entre mitosis y meiosis

La mitosis es un proceso de división celular con formación de dos núcleos hijos con el mismo número de cromosomas, y por tanto la misma constitución genética. Constituye así el fundamento de la multiplicación de los organismos unicelulares y del crecimiento en los pluricelulares. En cambio, la meiosis da origen a cuatro células hijas con la mitad del número de cromosomas todos ellos distintos entre sí, debido al intercambio de material hereditario y a la distribución al azar de las parejas de cromosomas, lo cual explica la variabilidad genética de la especie; es además el fundamento de la reproducción sexual entre los individuos de una especie.

Mitosis	Meiosis
1-Ocurre tanto en la línea somática como en la línea germinal.	1-Sólo ocurre en la línea germinal.
2-Ocurre en células diploides o haploides	2-Ocurre sólo en células diploides
3-No hay apareamiento de cromosomas en la profase.	3-Hay apareamiento con intercambio de material genético en la profase I.
4-Hay división longitudinal del centrómero en la anafase, de manera que se separan las cromátidas hermanas (del mismo cromosoma).	4-No hay división longitudinal del centrómero en la anafase I, se separan cromosomas homólogos; las cromátidas hermanas se separan en una división ecuacional de la anafase II.
5-Como resultado se forman 2 células hijas haploides o diploides, según sea la constitución genética de la madre.	5-Como resultado se pueden formar hasta cuatro células siempre haploides a partir de una célula madre.
6-Los productos mitóticos normalmente son capaces de efectuar otras divisiones mitóticas.	6-Los productos meióticos no pueden experimentar otra división meiótica, aun cuando puedan realizar divisiones mitóticas.
7-Por lo general, se lleva a cabo en todas las células somáticas.	7-Sólo se da en células especializadas de la línea germinal.
8-Las primeras mitosis se producen en el cigoto y durante toda la vida del organismo, las células sufrirán mitosis.	8-En los organismos superiores, se efectúa después que el individuo ha comenzado a madurar.

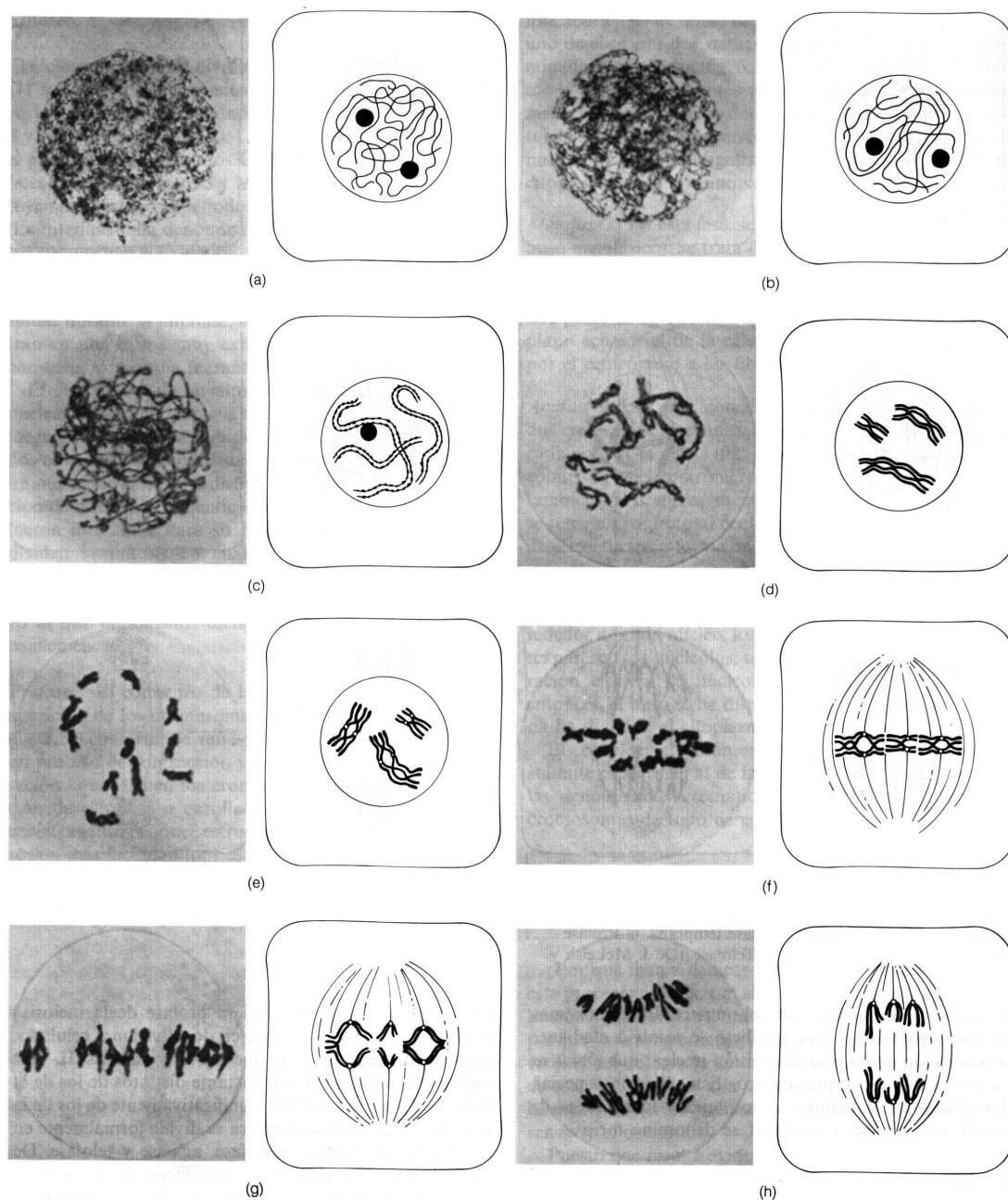
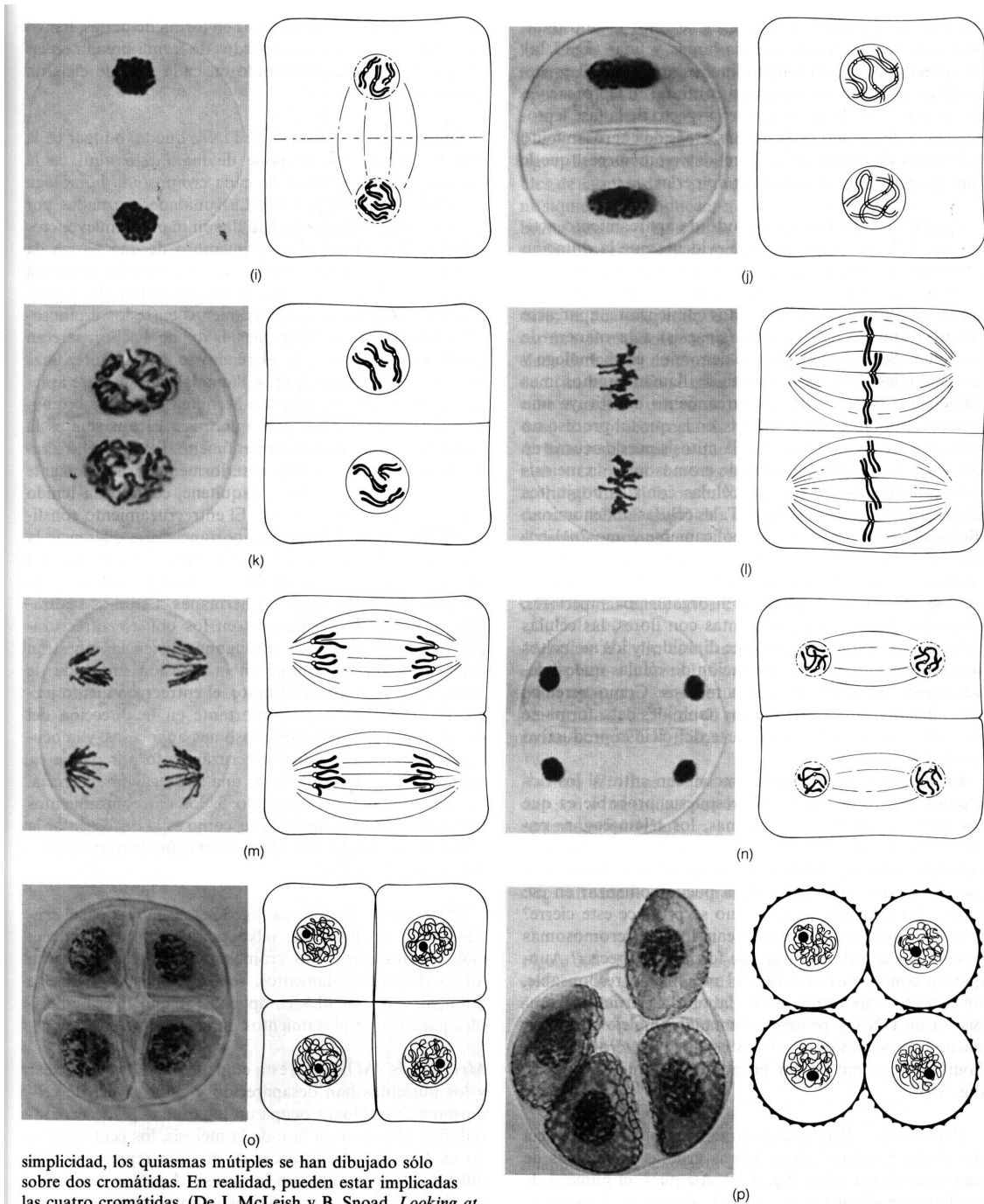


Figura 3.3. Meiosis y formación de granos de polen en *Lillium regale*. a) Leptotene. b) Ligotene. c) Paquitene. d) Diplotene. e) Diacinesis. f) Metafase I. g) Anafase I

temprana. h) Anafase I tardía. i) Telofase I. j) Interfase. k) Profase II. l) Metafase II. m) Anafase II. n) Telofase II. o) Una tetrada. p) Granos de polen jóvenes. Nota: Para mayor



CUESTIONARIO

- 1-Dibuje cada una de la fases de la meiosis
- 2-¿Qué es un bivalente? ¿En qué fase o fases se observa?
- 3-¿Qué diferencia existe entre anafase I y anafase II?
- 4-La cebada tiene $2n = 14$ cromosomas, ¿cuántos cromosomas tiene una célula de cebada en una metafase de una mitosis, en una metafase I y II de una meiosis?
- 5-Si tiene una preparación en la que observa células anafásicas en las que se separan cromátidas ¿cómo sabrá si se trata de anafase de una mitosis o de anafase II de una meiosis?

Guía sobre Meiosis

Problema 1: Número de cromosomas

Una célula humana tiene 46 en total o 23 pares de cromosomas. A continuación de la mitosis, las células hijas tendrán cada una un total de _____ cromosomas. Después de la meiosis I, las dos células hijas tendrán _____ cromosomas, y después de la meiosis II _____ cromosomas.

- A. 46, 46, 46
- B. 46, 23, 23
- C. 23, 23, 23
- D. 46, 12, 12

Problema 2: Cuatro células diferentes

El proceso de meiosis produce cuatro células con cromosomas no idénticos. Esta diversificación ocurre durante:

- A. telofase 1
- B. profase 1
- C. metafase 2
- D. profase 2

Problema 3: Mitosis vs. Meiosis

¿Cuál de lo siguiente es único a la mitosis y no una parte de la meiosis?

- A. Cromosomas homólogos se aparean formando bivalentes
- B. Cromosomas homólogos intercambian segmentos
- C. Las cromátidas se separan durante anafase
- D. Cromosomas homólogos se comportan independientemente

Problema 4: Uvas Thompson sin semillas

Las uvas Thompson sin semillas son triploides, con tres copias de cada cromosoma. ¿Qué fase del ciclo celular, las células triploides serán incapaces de completar?

- A. meiosis 1
- B. S
- C. meiosis 2
- D. G2

Problema 5: Reproducción asexual vs. sexual

Algunos organismos son capaces de reproducirse asexual o sexualmente. Bajo condiciones favorables, la reproducción procede asexualmente. Cuando las condiciones se vuelven más estresantes la reproducción cambia al modo sexual. ¿Por qué?

- A La reproducción sexual es simple y más rápida permitiendo producir un número mayor de descendientes.
- B. La reproducción sexual requiere dos individuos separados, quienes pueden mutuamente proveer apoyo nutritivo durante el estrés.
- C La reproducción asexual requiere más energía.
- D La reproducción sexual produce individuos con nuevas combinaciones de cromosomas recombinados incrementando la diversidad.

Problema 6: Células haploides

El estado de meiosis dónde las células se vuelven haploide.

- A. profase I
- B. profase II
- C. anafase I
- D. anafase II

Problema 7: Eventos de la Meiosis

Uno de los más tempranos eventos que distingue la meiosis ocurre en profase I e involucra:

- A. Condensación de los cromosomas
- B. Perdida de la membrana nuclear
- C. Movimiento de los cromosomas hacia el plato de metafase
- D. Apareamiento de cromosomas homólogos

Problema 8: Coral marino

El coral en el océano crece por gemación, donde el nuevo organismo crece del viejo por mitosis. Esta forma de replicación es un ejemplo de:

- A. meiosis para producir un cigoto
- B. reproducción asexual
- C. reproducción sexual
- D. formación de gametos

Problema 9: Fases de la Meiosis

_____ más se parece a los eventos de la mitosis excepto que las células son_____.

- A. interfase, diploide
- B. meiosis II, diploide
- C. interfase, haploide
- D. meiosis II, haploide

Analogías y diferencias entre mitosis y meiosis:**Ejercicio 1:**

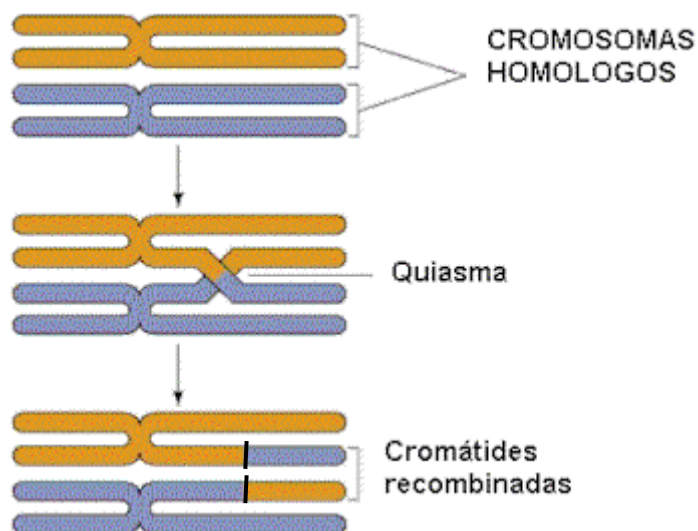
En la tabla que se muestra a continuación, haga **una "X"** en los lugares correspondiente para indicar la presencia de cromosomas con una sola cromátida y la presencia de pares de cromosomas homólogos en las diversas fases de una célula normal en división

	Cromosomas con 1 cromátida	Pares de cromosomas homólogos
Interfase anterior a Mitosis		
Telofase Mitosis		
Interfase anterior a Meiosis		
Profase II Meiosis		
Telofase II Meiosis		

Ejercicio 2:

En la siguiente tabla, haga **una “X”** en la casilla apropiada para indicar la presencia de cromosomas apareados y si los cromosomas están a nivel de dos cromátidas, en las siguientes fases de una célula normal en división.

	Cromosomas apareados	Cromosomas con dos cromátidas
Interfase anterior a Mitosis		
Mitosis Profase		
Mitosis Anafase		
Meiosis Metafase I		
Meiosis Metafase II		



Cariotipo

Cromosomas

Durante la vida, toda célula pasa por dos periodos que constituyen un ciclo:

- a) Período de interfase
- b) Período de división, que conduce a la formación de 2 células hijas.

Este ciclo se repite de generación en generación celular siendo el mismo para un tipo de célula, pero pudiendo variar en función del tejido que se trate. Durante el ciclo celular el núcleo de la célula sufre una serie de cambios complejos: desaparición de membrana nuclear y de los nucleólos y condensación de la cromatina en los cuerpos llamados cromosomas. En los cromosomas, estructuras responsables de la transmisión de los caracteres hereditarios, se localizan los genes.

Las células del cuerpo, o células somáticas, de cualquier organismo superior tienen un número cromosómico definido y característico de la especie, representado por el número cromosómico $2n$ o número diploide. Este número significa que los cromosomas en las células somáticas existen formando pares, recibiendo cada miembro del par el nombre de homólogo.

Los gametos o células reproductoras, se forman por **meiosis** y tienen un número cromosómico “ n ” o haploide (del griego: haplos que significa mitad).

En las especies en las que el sexo está determinado por cromosomas se pueden distinguir:

- a) un par de **cromosomas sexuales**
- b) **autosomas** o cromosomas no sexuales

Cariotipo

Las características más importantes que identifican los cromosomas durante la mitosis son su número, tamaño relativo, estructura, comportamiento y organización interna.

Cariotipo es el complemento o conjunto cromosómico típico del individuo o de la especie en el que se describe el número, forma y tamaño de los mismos. El cariotipo se perpetúa normalmente en la progenie (Battaglia, 1953). Es decir, en términos generales, se admite la constancia en forma, tamaño y número de los cromosomas, en todas las células que componen el núcleo de un individuo y en los individuos de cada especie.

En el cariotipo se ordenan los pares de homólogos en series, de acuerdo a su longitud, en forma creciente.

La representación esquemática del cariotipo se conoce con el nombre de **Idiograma**.

El análisis de la morfología cromosómica se lleva a cabo en el estado de metafase que es el momento en el que los cromosomas presentan el mayor grado de espiralización, y compactación. Es en este estado también cuando muestra las mejores condiciones de tinción con tintes que presentan afinidad por los ácidos nucleicos; razón que favorece aún más el estudio citogenético de una determinada especie en esta fase del ciclo de división celular.

Para confeccionar un cariotipo se deben tener en cuenta:

- 1.-**Número básico de cromosomas.**
- 2.-**Morfología cromosómica**

1.-Número básico de cromosomas

En principio, todos los individuos de una especie tienen el mismo número de cromosomas. Dos especies distintas pueden tener el mismo número de cromosomas.

2.-Morfología de los cromosomas

En la morfología de los cromosomas distinguimos:

- 2.1.-Posición del centrómero
- 2.2.-Localización de satélites y constricciones secundarias
- 2.3.-Distribución de regiones hetero y eucromáticas

2.1.-Posición del centrómero

La morfología depende de la posición del centrómero. Según sea la posición del centrómero: Posición media, submedia, subterminal o terminal los cromosomas se clasificarán en:

- a) **metacéntricos o isobraquiales** (centrómero equidistante de los extremos, brazos de igual longitud).
- b) **submetacéntricos o heterobraquiales** (centrómero muy próximo al centro)
- c) **acrocéntricos o cefalobraquiales** (centrómero muy próximo a un extremo)
- d) **telocéntricos** (centrómero terminal, no se puede hablar propiamente de constricción, ni de brazos, sólo existe un brazo)

La posición del centrómero o constricción primaria se calcula teniendo en cuenta los siguientes parámetros:

- c= largo total del cromosoma
- l= largo del brazo mayor
- s= largo del brazo menor

y la posición será igual a: $c = l + s$

El índice centromérico es:

$$i = (s \times 100) / c$$

2.2. Localización de satélites y constricciones secundarias.

Se llama satélite al cuerpo esférico de igual o menor diámetro que el del cromosoma y al que está unido por un filamento que representa la constricción nucleolar o secundaria. Según la posición que ocupen, los satélites se clasifican en:

a) **Terminales**: cuando el satélite se une al extremo de un brazo cromosómico a través de la constricción secundaria.

b) **Intercalares**: cuando el satélite se encuentra entre dos constricciones secundarias.

2.3. Distribución de regiones hetero y eucromáticas.

El grado de espiralización de los cromosomas varía en función del ciclo celular. Así se puede observar que no todo el cromosoma se espiraliza al mismo tiempo. Existen zonas que permanecen condensadas durante la interfase celular o que se condensan precozmente. Dichas zonas se conocen como regiones heterocromáticas constitutivas. Se localizan, por lo general, en las regiones pericentroméricas y teloméricas de los cromosomas y son ricas en ADN con pares G-C.

Las regiones de los cromosomas que en interfase se espiralizan más tardíamente reciben el nombre de regiones heterocromáticas facultativas. La localización de estas regiones es variable en función del tejido que se trate y el estado de desarrollo que se analiza.

La localización de la heterocromatina (tanto constitutiva como facultativa) puede llevarse a cabo analizando cromosomas en placas metafásicas procedentes de cualquier organismo previo tratamiento y tinción específica de las mismas.

Las bandas de **heterocromatina constitutiva, o bandas G**, son observables con la tinción de Giemsa y su posición es constante en los cromosomas a lo largo de todo el ciclo celular, razón por la cual se utilizan para la comparación de genomas de especies emparentadas.

NUMERO CROMOSÓMICO DE ALGUNAS ESPECIES

Nombre científico	Descripción	2n
<i>Drosophila melanogaster</i>	Mosca del vinagre	8
<i>Zea Mays</i>	Maíz	20
<i>Triticum dicoccum</i>	Trigo para pasta	28
<i>Triticum aestivum</i>	Trigo para pan	42
<i>Triticum monococcum</i>	Trigo escaña menor	14
<i>Sorghum sp.</i>	Sorgo	10,20,40
<i>Spinacea oleracea</i>	Espinaca	12
<i>Allium cepa</i>	Cebolla	16
<i>Raphanus sativus</i>	Rábano	18
<i>Columbia livia</i>	Paloma	80
<i>Canis familiaris</i>	Perro	78
<i>Gallus domesticus</i>	Gallo	78
<i>Equus caballus</i>	Caballo	64
<i>Homo sapiens</i>	Hombre	46
<i>Ascaris megalocephala</i>	Un nemátodo	2
<i>Lysandra nivescens</i>	Un lepidóptero	380

TRABAJO PRÁCTICO

Se utilizarán una fotografía de una placa metafásica de centeno (*Secale cereale*) $2n = 2x = 14$ que ha sido tratada previamente con un ácido una base e incubada con solución tamponada antes de teñirse con un colorante especial para ácidos nucleicos.

El tratamiento permite la visualización de bloques heterocromáticos de posición terminal, intersticial y pericentromérica a lo largo del cromosoma. La posición de los bloques heterocromáticos (bandas C) es constante aunque el tamaño de los mismos puede variar bastante.

En el trabajo práctico Vd. Deberá identificar:

- 1.-Los diferentes tipos de cromosomas que presenta el centeno, en función de su morfología.
- 2.-La/s constricción secundaria y lo/s satélites.
- 3.-Los bloques heterocromáticos

y también deberá:

- 4.-Confeccionar el cariotipo del centeno atendiendo a los requisitos enunciados anteriormente.

Para ello:

- a) Recorte cada uno de los cromosomas de la fotografía dejando un reborde de 2mm.
- b) Identifique como par 1 al de mayor longitud. Coloque los siguientes pares de acuerdo a este criterio.

CUESTIONARIO

1. Realice el cariotipo de centeno con la fotografía de una placa metafásica, que se adjunta en el guión.
2. Calcule el índice centromérico de cada par de cromosomas homólogos.
3. ¿En qué fase del ciclo celular se observan los cromosomas para el análisis cariotípico? ¿Por qué?
4. ¿Las cromátidas de un cromosoma son idénticas a las cromátidas de su homólogo? ¿Por qué?
5. ¿Dos cromosomas homólogos, pueden tener bloques heterocromáticos de distinto tamaño? ¿Por qué?
6. ¿Qué tienen en común dos cromosomas homólogos?
7. El centeno es una especie alógama (fecundación cruzada) con $2n = 14$ cromosomas, mientras que la cebada es una especie autógena (autofecundación) también con $2n = 14$ cromosomas. ¿Qué diferencias existirán entre un cariotipo de cebada y uno de centeno?



***Drosophila melanogaster*: Ciclo vital. Morfología. Identificación de mutantes**

La *Drosophila melanogaster* es una mosca de tamaño pequeño (3mm en estado adulto) ampliamente extendida por todo el mundo y abundante en frutas, especialmente si están en fermentación, por lo que se conoce como la “mosca de la fruta o del vinagre”. Se ha utilizado como organismo experimental en estudios genéticos desde principios de siglo. Ha sido el organismo más utilizado por los genéticos, debido a que presenta grandes ventajas:

- facilidad de cultivo
- tiempo generacional corto (9 a 11 días a 25°C)
- progenie prolífica
- pequeño tamaño
- número reducido de cromosomas $2n=8$
- cromosomas politénicos en glándulas salivales
- numerosos mutantes

Medio de cultivo

Existen varios medios de cultivo para *D.melanogaster*, a continuación describimos el que hemos utilizado. Los ingredientes son:

- Agua:2000ml
- Harina de maíz:137 g
- Levadura en polvo:49 g
- Agar:25 g
- Sacarosa:50 g
- Glucosa:97 g
- Medio ácido:25 ml (ácido propiónico + ácido fosfórico)
- Nipagina

Se mezclan perfectamente todos los ingredientes, excepto el medio ácido y la nipagina. Se calienta a “baño María” durante 45 minutos, removiendo para evitar grumos. Se retira la mezcla del fuego y se agrega el medio ácido y la nipagina. Los componentes del medio ácido se preparan y conservan por separado y se mezclan en partes iguales en el momento de añadirlo. El medio ácido y la nipagina sirven para evitar la contaminación por hongos y bacterias.

Ciclo vital

La *D.melanogaster* tiene un ciclo biológico que incluye varios estados: huevo, larva, pupa, imago y adulto (ver figura). La duración del ciclo de vida varía con la temperatura ambiental. A 25°C, el ciclo de vida completo dura de 9 a 10 días, mientras que a 20°C la duración es de 15 días. La exposición continua a temperaturas superiores a 30°C puede conducir a la esterilización y muerte de las moscas. Así mismo, las bajas temperaturas, inferiores a 20°C hacen decrecer la viabilidad de las moscas y prolongan su ciclo vital. La temperatura óptima para el cultivo es de 25°C.

1-Huevo

La **fecundación** tiene lugar dentro del útero. A partir de la formación del cigoto, comienza el desarrollo embrionario. El embrión se desarrolla dentro de las membranas del huevo, permaneciendo durante los estados iniciales del desarrollo en el cuerpo de la madre y siendo depositado después.

Una hembra puede empezar a depositar huevos después del segundo día de emerger y la puesta puede continuar hasta unos 10 días después.

El **huevo** es de forma ovoide, cubierto por una fuerte membrana quitinosa, el **corion**, con la cara dorsal más aplastada que la ventral que es redondeada. La superficie del corion presenta unas marcas o relieves hexagonales. El huevo viene a tener un tamaño de 0,5mm. De su parte anterior se proyectan dos apéndices en cuyo extremo se encuentran una especie de palas, a modo de remos, cuya función es la de hacer de flotadores para prevenir el hundimiento del huevo en la superficie semilíquida en que son depositados. En la parte anterior, entre los dos apéndices, hay un poro diminuto, el **micropilo**, que es precisamente por donde penetra el espermatozoide para fecundar a la célula huevo.

2-Larva

Terminado el desarrollo embrionario emerge del huevo la **larva**, que es un pequeño gusanillo de gran movilidad, blanco, segmentado, con unas piezas negras en su región anterior, **mandíbulas**. En las regiones anterior y posterior tiene un par de espiráculos de función traqueal.

La larva sufre dos mudas hasta alcanzar el tamaño adulto, a cada periodo entre muda y muda se le denomina **estadio larvario**. El cambio se produce cuando se rasga la piel del estadio anterior y sale de ella una larva un poco mayor. El primer estadio larvario es el periodo comprendido entre el nacimiento y la primera muda, el segundo estadio larvario comprende el periodo entre las mudas primera y segunda y el tercer estadio larvario va desde la segunda muda hasta la inmovilización de la larva para dar lugar a la **pupa**. En el tercer estadio larvario la larva llega a alcanzar una longitud de 4,5 mm.

Las larvas constituyen el material idóneo para el estudio de los cromosomas politénicos presentes en las células de las glándulas salivales, de ahí la necesidad de conocer sus características y desarrollo.

Todo el periodo larvario es de gran movilidad, la larva no cesa de moverse y alimentarse formando unos canalillos característicos por todo el medio de cultivo. La distinción entre los estadios larvarios se puede hacer fijándose tanto en el tamaño de la larva como en el número de piezas mandibulares. El estado larval se extiende aproximadamente 4 días a 25°C.

3-Pupa

La larva en el tercer estadio cambia sus espiráculos por las antenas pupales y un poco después se va inmovilizando y acortando su longitud, la cutícula se oscurece y fortalece formando el **puparium**. A esta prepupa se le puede considerar también como el cuarto estadio larvario que termina con una muda.

A partir de entonces comienza el periodo de **pupa** o **crisálida** en el que se producen grandes cambios histolíticos e histológicos para dar lugar a los tejidos adultos. Las estructuras del adulto que se van adquiriendo van tomando más forma y color conforme avanza el estado de pupa. Los tejidos localizados en el preadulto se llaman **discos imaginales** y, debido a la facilidad de su aislamiento se han utilizado mucho en Genética del Desarrollo o Epigenética. El metabolismo pupal se centra en la sustitución de los tejidos larvarios por los del adulto.

4-Imago.

Las transformaciones histológicas dan lugar a un individuo adulto, pero sexualmente inmaduro, llamado **imago**. Si el medio en el que se desarrolla el animal está a 25°C, entre el cuarto y quinto día de la vida pupal se rasga el puparium y surge el imago. La *Drosophila* recién emergida es muy clara y tiene las alas sin desplegar. Una hora más tarde despliega las alas y a las 12 horas ya tiene su pigmentación normal de adulto.

5-Adulto

El adulto es el estadio reproductivo del ciclo. Los adultos serán sexualmente maduros después de seis horas de emerger del pupario. En los machos, la formación tiene lugar en los testículos. Las cuatro células derivadas de la meiosis de una célula madre son gametos viables y se acumulan en el saco eyaculador.

En las hembras la célula madre de los gametos femeninos se divide en 16 células, de las cuales sólo una experimenta meiosis, las otras se convierten en células nutritivas. La meiosis se detiene en metafase I. El esperma se almacena en las espermatecas y el receptáculo seminal de la hembra será descargado gradualmente en el oviducto, a medida que los huevos pasan a través del mismo a la vagina.

Cuando el espermatozoide penetra en el óvulo inmaduro (fecundación) continúa la meiosis con la formación de los corpúsculos polares y la cariogamia. A continuación el núcleo del huevo comienza a dividirse activamente.

La hembra comienza a depositar huevos al 2º día de haber emergido de la pupa; aproximadamente entre 50 y 70 huevos por día, durante los primeros días. La producción de huevos decrece con el tiempo.

El promedio de vida de la mosca adulta es de 37 días a 25°C.

Cronología del desarrollo de *Drosophila melanogaster* a 25°C

Por día (aprox.)	Por hora (aprox.)	Fase
0	0	Huevo depositado
0-1	0-22	Embrión
1	22	Eclosión del huevo (primer estadio)
2	47	Primera muda (segundo estadio)
3	70	Segunda muda (tercer estadio)
5	118	Formación del pupario
5	122	Muda “prepupal” (cuarto estadio)
5.5	130	Pupa: eversión de cabeza, alas y patas
57	167	Pigmentación de ojos pupales
9	214	Adulto emerge del pupario con alas dobladas
9	215	Las alas se expanden al tamaño adulto

Morfología externa

El cuerpo de la mosca adulta se divide en: cabeza, tórax y abdomen.

La **cabeza** está compuesta por 6 segmentos fusionados. En ella se distinguen:

- Antenas, un par, cada una formada por 3 segmentos
- Probóscide, lengua
- Ojos compuestos, constituidos por numerosas facetas u omatidios (780 en las hembras, 740 en los machos)
- Ocelo, tres, localizados entre los ojos compuestos, sobre la superficie dorsal de la cabeza.
- Quetas o cerdas, órganos de los sentidos, de distinto tamaño.

El **tórax** está compuesto por tres segmentos fusionados. En él se distinguen:

- Protórax, que lleva el primer par de patas. Cada pata consta de: Coxa, trocanter, fémur, tibia y 5 segmentos tarsales.
- Mesotórax, que porta las alas y el 2º par de patas. Las alas tienen una estructura membranosa con 5 venas longitudinales y dos transversales cada una.
- Metatórax, que lleva los halterios o balancines y el 3^{er} par de patas.

El **abdomen** consta de 7 segmentos visibles en la hembra y 5 en el macho.

Identificación del sexo en la mosca adulta

Las diferencias en los adultos son las siguientes:

- Tamaño. La hembra es ligeramente mayor que el macho.
- Abdomen. La hembra tiene 7 segmentos visibles y el extremo posterior alargado, cada segmento abdominal tiene en la superficie dorsal una banda de color más oscuro. El macho tiene 5 segmentos visibles y el extremo posterior redondeado; los dos últimos segmentos están fusionados.
- Región genital. La hembra tiene en la cara ventral del abdomen una placa anal y la placa vaginal. El macho tiene una placa anal y un arco genital de color pardo.
- Peine del sexo. Se encuentra sólo en los machos. Es un conjunto de cerdas sobre cada segmento tarsal proximal del 1^{er} par de patas.

Técnica de manipulación

Eterización de las moscas

Es necesario inmovilizar las moscas para poder observarlas y transferirlas a los tubos con el medio de cultivo. Se utiliza el éter etílico como anestésico, durante 30 a 60 segundos. Las moscas sobreeterizadas mueren, se distinguen porque presentan el cuerpo encorvado y las alas extendidas, formando ángulo recto con el cuerpo y las patas también extendidas.

Recolección de hembras vírgenes

Las hembras de *D. Melanogaster* pueden acumular y utilizar el esperma de una inseminación para una gran parte de su vida reproductiva. Por consiguiente, solamente hembras vírgenes deben ser usadas en cruzamientos predeterminados.

Para obtenerlas, se vacía un tubo de cultivo de modo que no quede ningún adulto. Transcurridas menos de 8 horas se eterizan las moscas emergidas en ese periodo de tiempo, separando los machos de las hembras, que serán vírgenes.

Identificación de mutantes

Se han descrito más de 1000 mutantes diferentes de *D. Melanogaster*. Nosotros contamos con dos de ellos: ebony y white. La mutación ebony produce un color muy oscuro, negro brillante en el cuerpo de la mosca. Se trata de una mutación somática que mapea en el cromosoma número 3. La mutación white se caracteriza por producir individuos de ojos blancos, en vez de rojos del genotipo silvestre. Esta mutación se encuentra en el cromosoma sexual X.

Descripción de alelos mutantes

La siguiente lista de mutantes de *D. melanogaster* es una versión abreviada de los cuatro grupos de ligamiento correspondientes a los cuatro pares de cromosomas que posee esta especie.

Cromosoma 1

Locus	Símbolo	Nombre	Descripción
0.0	y	yellow	cuerpo amarillo
0.0	sc	scute	ausencia o marcada reducción de ciertas quetas, especialmente las escutelares
0.8	pn	prune	color de ojos ciruela
1.5	w	white	color de ojos blanco, ocelos, tubos de Malpighi y testículos incoloros
1.5	w ^a	White-apricot	color de ojos naranja amarillento, alelo del white
13.7	cv	Cross-veinless	venas transversales ausentes o presentes sólo como trazos
21.0	sn	singed	quetas enrolladas y acortadas, hembras estériles
23.1	oc	ocelliless	ocelos ausentes, tamaño del cuerpo reducido, hembras estériles
27.5	t	tan	color de cuerpo canela o tostado
33.0	v	vermillion	color de ojos rojo bermellón brillante, ocelos incoloros
36.1	m	miniature	alas reducidas a 2/3 de su longitud normal
56.7	f	forked	cerdas cortas y retorcidas y el extremo hendido
57.0	B	Bar	(duplicación) reducción en el tamaño del ojo que adopta la forma de una barra en los machos y en las hembras homocigotas; las hembras heterocigotas tienen ojos arriñonados
66.0	bb	bobbed	quetas escutelares posteriores más cortas y delgadas que las normales.

Cromosoma 2

Locus	Símbolo	Nombre	Descripción
13.0	dp	dumpy	alas reducidas a 2/3 del tamaño normal, truncadas
72.0	L	Lobe	ojo lobulado, con 75% de penetrancia y expresividad variable
48.5	b	black	cuerpo negro
57.5	cn	cinnabar	ojos de color rojo brillante que se oscurecen con la edad
67.0	vg	vestigial	alas y halterios muy reducidos
104.5	bw	brown	color de ojos marrón claro al emerger, oscureciéndose con el tiempo, produce ojos blancos en combinación con v, cn ó st

Cromosoma 3

Locus	Símbolo	Nombre	Descripción
26.0	se	sepia	color de ojos sepia que se oscurece en el adulto
40.4	D	Dichaete	(inversión) alas separadas en ángulo de 45° del eje del cuerpo y 30° hacia arriba, letal en homocigosis
63.1	gl	glass	aspecto vidrioso del ojo, debido a la fusión de facetas, los machos tienen ojos rojizos y las hembras ojos anaranjado amarillento, en el centro rodeado de un anillo incoloro; ocelos incoloros.
70.7	e	ebony	cuerpo muy oscuro, negro brillante

Cromosoma 4

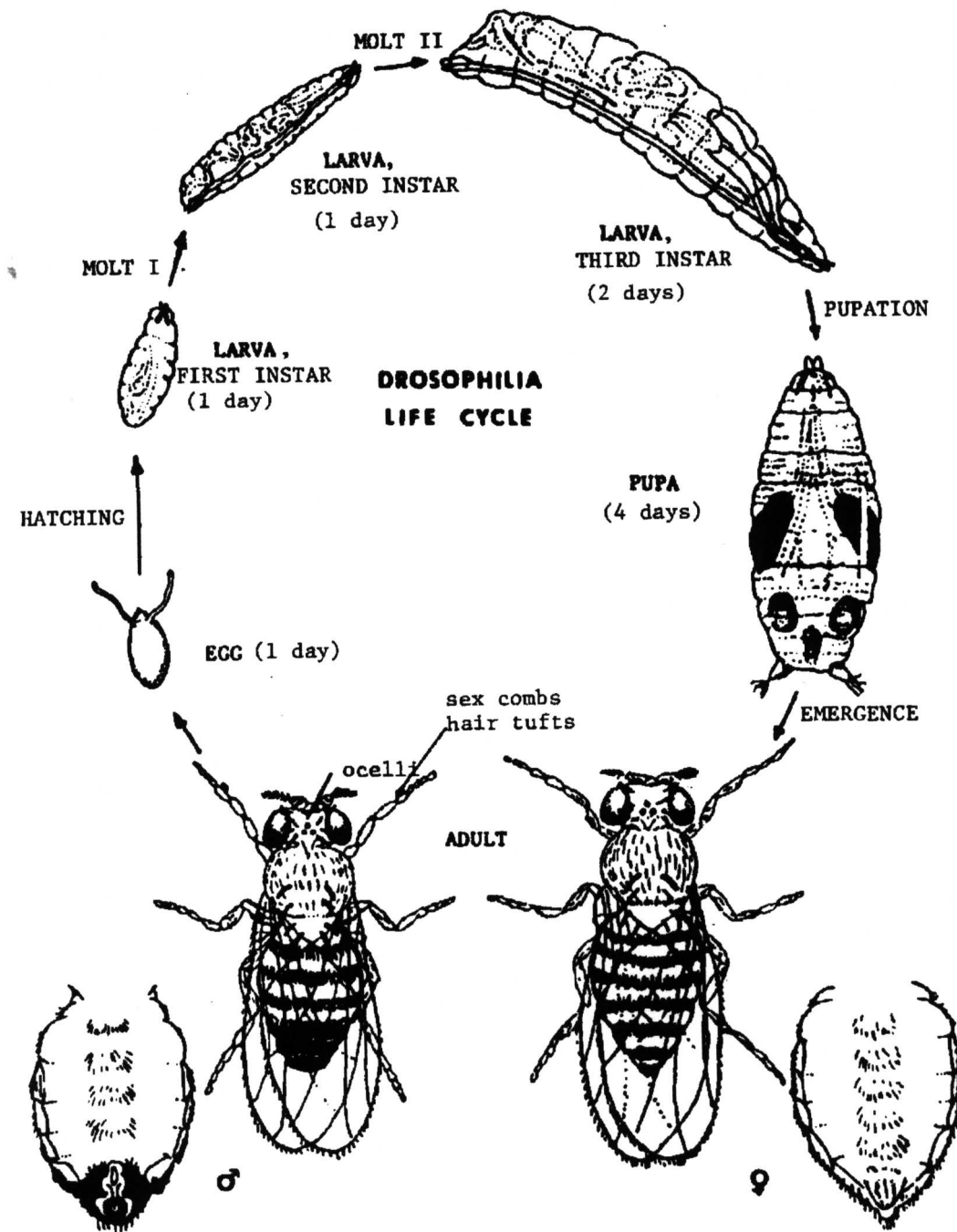
Locus	Símbolo	Nombre	Descripción
0.0	ci	cubitus-interuptus	vena longitudinal IV del ala con varias muescas, cerca de la transversal posterior
2.0	ey	eyeless	ojos reducidos a los 3/4 del ojo normal
3.0	svn	shaven	quetas del abdomen muy reducidas
4.0	spa	sparkling	ojos muy brillantes en hembras

TRABAJO PRACTICO

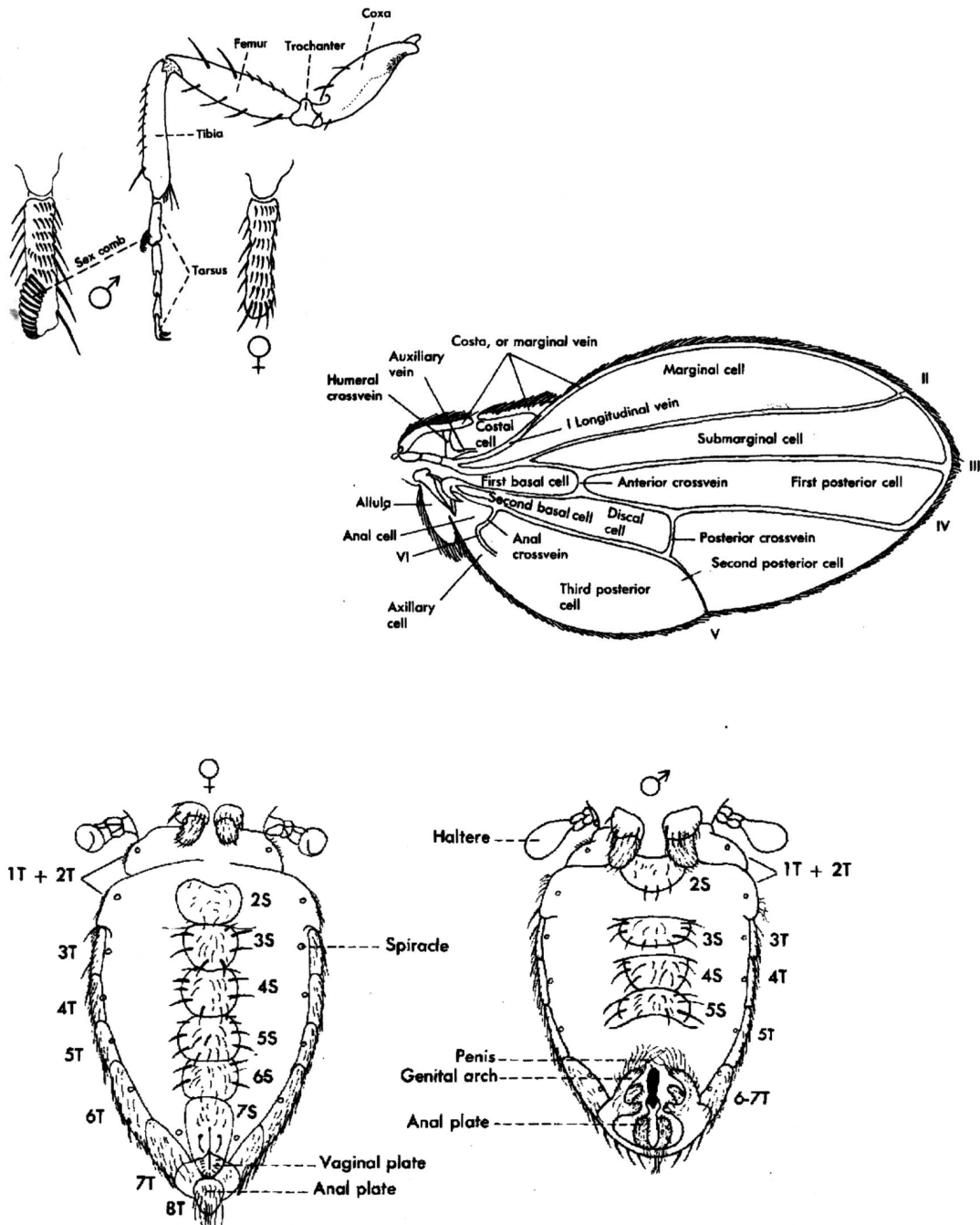
- 1-Observación de las distintas partes del cuerpo de *D.melanogaster*
- 2-Observación de larvas, pupas y adultos
- 3-Distinción entre machos y hembras
- 4-Distinción entre individuos:
 - silvestres
 - ebony
 - white

Cuestionario

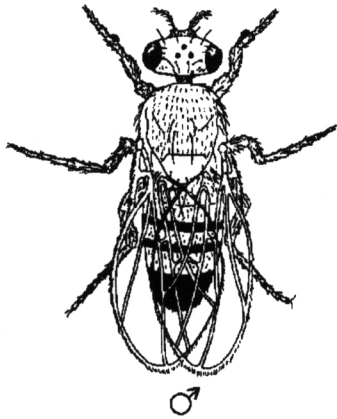
- 1-¿De qué color son los ojos del mutante “ebony”?
- 2-¿De qué color es el cuerpo de los mutantes “white”?
- 3-Cite tres diferencias entre machos y hembras de *D. Melanogaster*
- 4-¿En qué cromosoma se encuentra la mutación “white” y en qué cromosoma la mutación “ebony”?
- 5-¿Qué le sucede a los individuos de *D. Melanogaster* a más de 30°C?

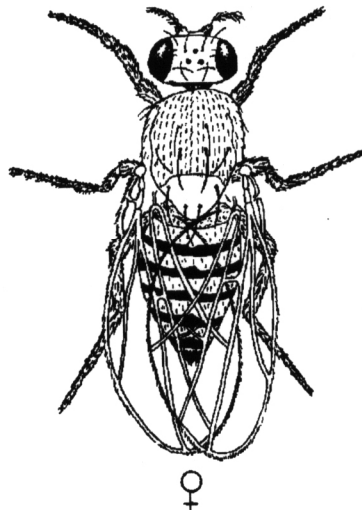


Ciclo de vida con tiempos en días de *Drosophila melanogaster* a 25°C



Estructura externa de *Drosophila melanogaster*





Diferencias entre macho y hembra

Herencia de un solo gen autosómico.

En *Drosophila* la mutación “ebony” produce el color de cuerpo negro brillante. Esta mutación es recesiva (ee) frente a su alelo dominante (e^+e^+) que produce individuos de fenotipo silvestre.

Se han analizado 10 cruzamientos de hembra “ebony” por macho silvestre y otros 10 recíprocos, de hembra silvestre por macho “ebony”. Los cruzamientos se hicieron con líneas puras. Se aislaron hembras vírgenes, siguiendo el procedimiento descrito en la práctica anterior.

La F_1 resultó toda de fenotipo silvestre, como estaba previsto. Se cruzaron individuos machos y hembras F_1 para producir la F_2 . Las proporciones esperadas en esta descendencia son de : $1/4 e^+e^+ : 1/2 e^+e : 1/4 ee$. Los fenotipos esperados son: $3/4$ silvestres: $1/4$ “ebony”. Las proporciones esperadas son exactamente iguales para ambos tipos de cruzamientos recíprocos, ya que se trata de un gen autosómico.

hembra e^+e^+ (silvestre) x macho ee (ebony)

F_1 : e^+e (silvestre)

F_2 : $1/4 e^+e^+ : 1/2 e^+e : 1/4 ee$
($3/4$ silvestre : $1/4$ ebony)

hembra ee (silvestre) x macho e^+e^+ (ebony)

F_1 : e^+e (silvestre)

F_2 : $1/4 e^+e^+ : 1/2 e^+e : 1/4 ee$
($3/4$ silvestre : $1/4$ ebony)

TRABAJO PRÁCTICO

Cada pareja de alumnos tendrá una placa con moscas F_2 . Se contarán el número de individuos, distinguiendo el número de silvestres y el número de “ebony”. Los datos se utilizarán para la práctica de chi-cuadrado.

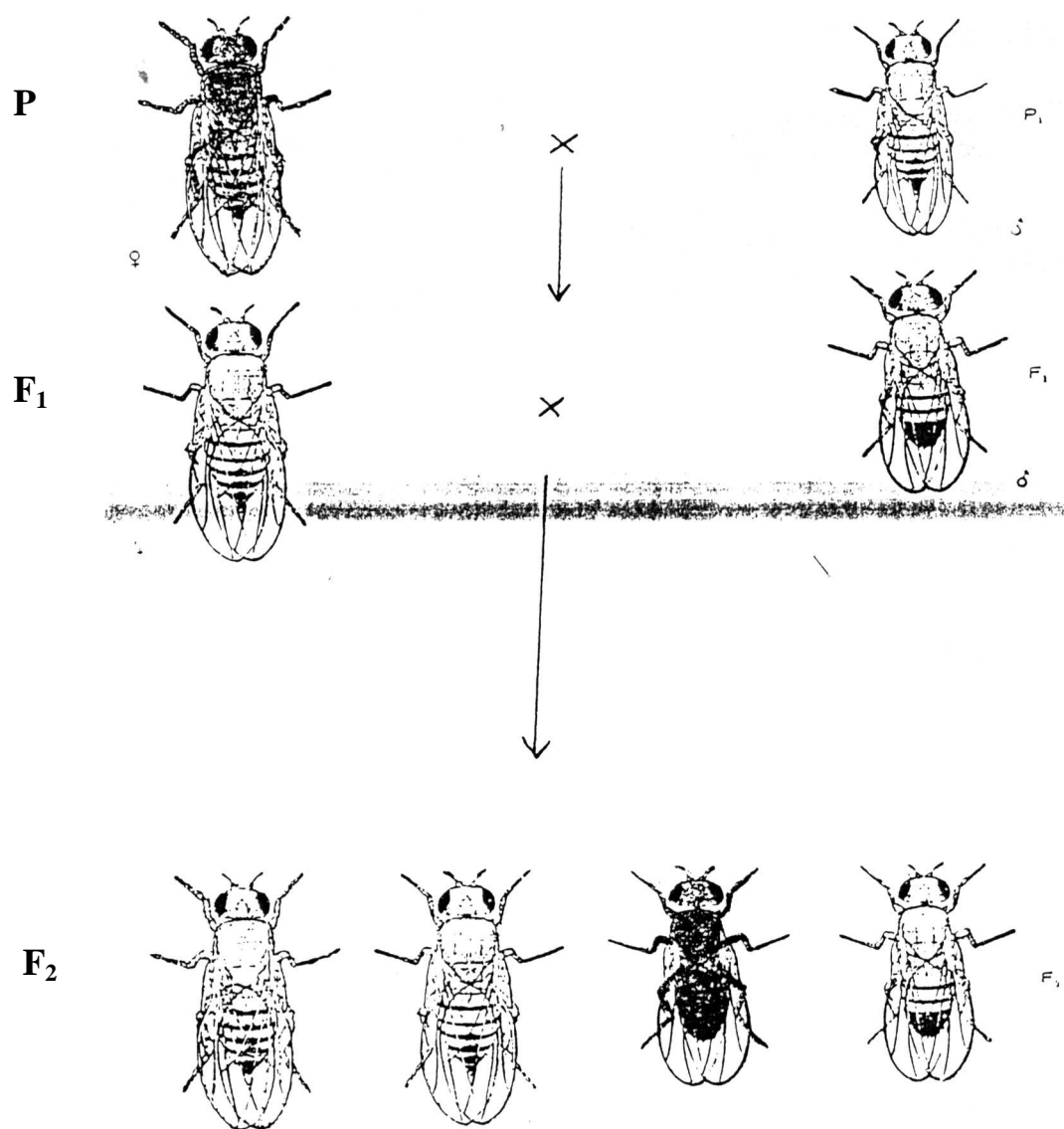
Cuestionario

1-Complete la siguiente tabla:

Nº Placa	
Nº de silvestres	
Nº de “ebony”	

2-¿Por qué se utilizan hembras vírgenes para la realización de los cruzamientos?

3-¿Existe alguna diferencia en los cruzamientos recíprocos “ebony” x silvestre, en F_1 y en F_2 ?



HERENCIA LIGADA AL SEXO

INTRODUCCIÓN

El análisis genético de los hechos de la transmisión de caracteres ligados al sexo conllevó al descubrimiento experimental del enlace de los genes con los cromosomas. De esta manera, el propio concepto de sexo de los organismos y los procesos de su transmisión obtuvieron una explicación inesperada a la luz del estudio sobre el papel de los cromosomas en los fenómenos hereditarios.

La investigación sobre la citología de las diferencias sexuales demostró que un sexo contiene dos cromosomas XX idénticos y el otro, una pareja heteromórfica de cromosomas XY.

En el análisis del curso de la herencia de una multitud de caracteres de los organismos, resultó que algunos de ellos son transmisibles.

OBJETIVO

Comprobar la correlación entre determinados genes y los cromosomas sexuales de ciertos mutantes de *D. melanogaster*.

MATERIALES

Mutantes de *D. melanogaster*
Moscas silvestres de *D. melanogaster*
Medio de cultivo para moscas

METODOLOGÍA

1. De los frascos recibidos para el experimento de *Drosophila*, espere la F₁ y si alguna característica esta ligada al sexo se presentarán proporciones 1:1 en una de las características.
2. Si esto no sucede quiere decir que ninguna de las mutaciones está ligada al cromosoma X o el sexual.
3. Si obtiene una proporción 1:1 en la F₁ haga un conteo de las moscas que presentan esta mutación teniendo el cuidado de determinar el sexo de estas.
4. Elabore un reporte completo de por qué se da esta proporción de 1:1 de moscas *Drosophila* mutantes y silvestres.

EVALUACIÓN

Cuadro. Informe de las cruzas

P	Hembra con mutación		Macho silvestre	
F ₁	#HM	#MM	#HS	#MS

Donde

P = parental

F = filial

HM = hembras con mutación

MM = machos con mutación

HS = hembras silvestres

MS = machos silvestres

Aplicar a los resultados la prueba de Chi cuadrado, discuta y concluya para cada cruce.

¿En qué influye que la característica mutante sea introducida por el macho o la hembra en la cruce? Ver los dos siguientes casos:

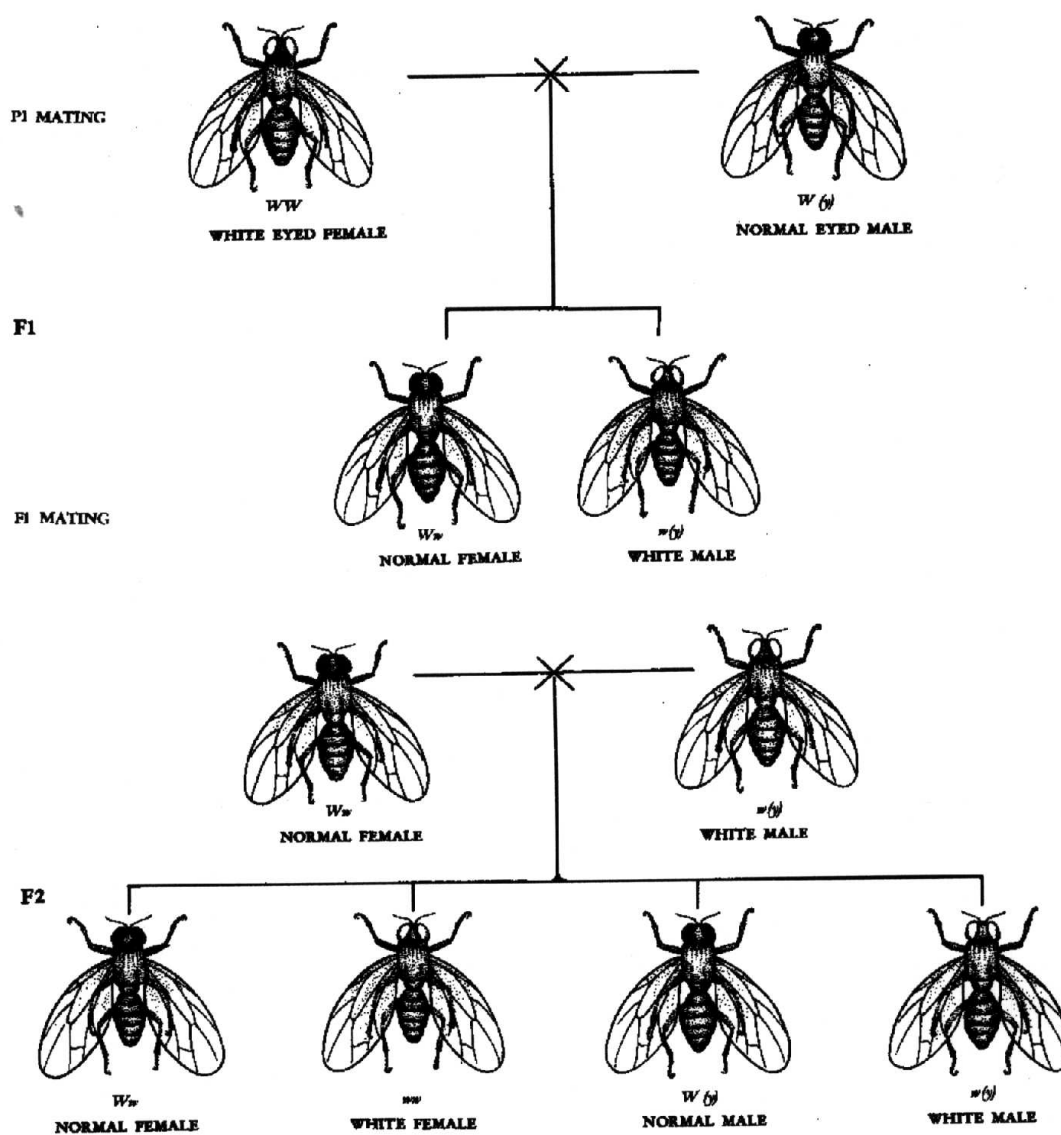


Figura 5-1. Cruza ligada al sexo **Caso I**. Tomado de productos Turttox

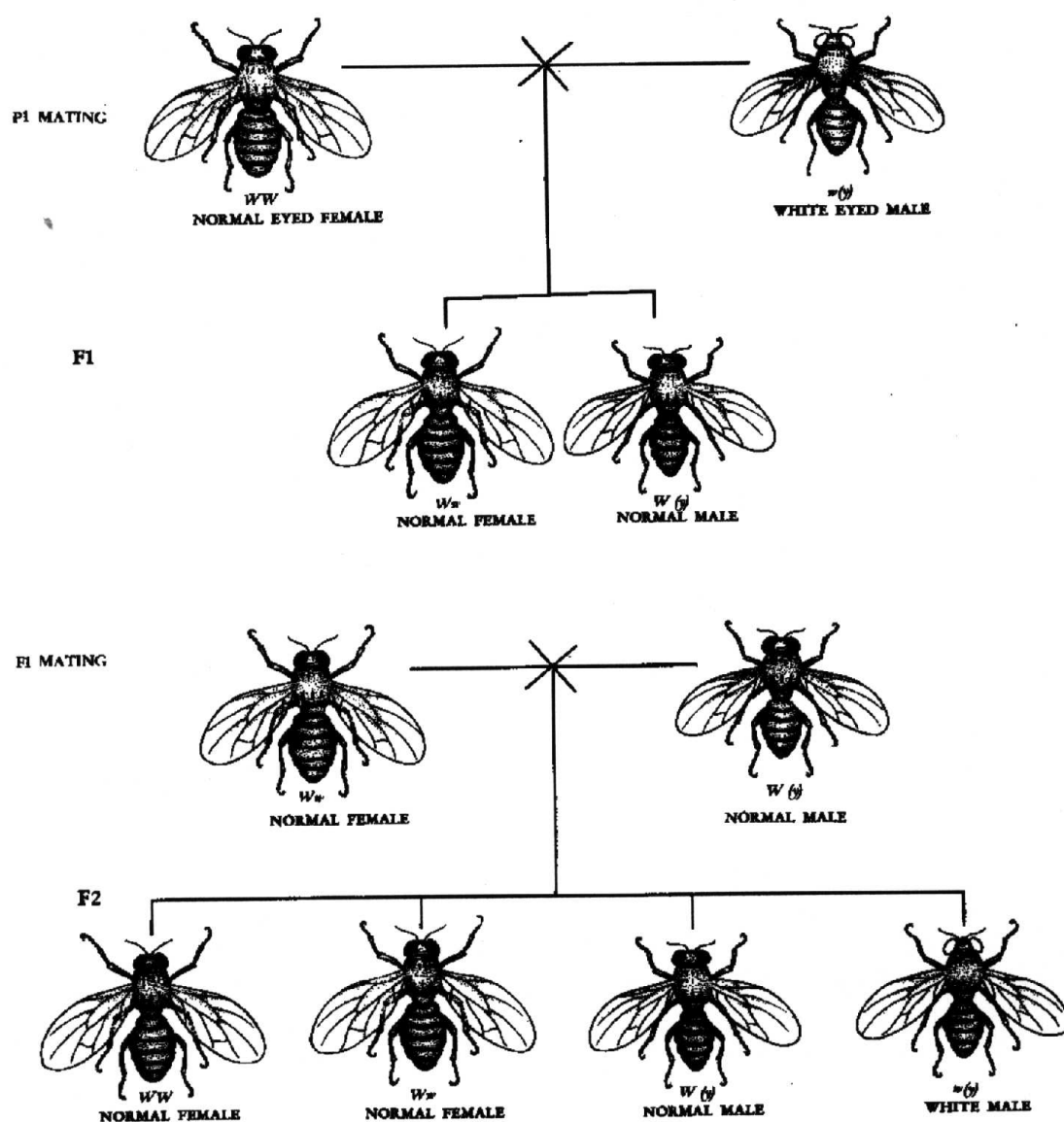


Figura 5-2. Cruza ligada al sexo **Caso II**. Tomado de productos Turtox

Prueba de Bondad de Ajuste o de Homogeneidad: χ^2

La prueba de χ^2 (chi o gi cuadrado) se utiliza para establecer en qué medida los resultados obtenidos en una experiencia se ajustan a los valores esperados según una hipótesis establecida previamente. Con esta prueba se puede determinar si las discrepancias existentes entre proporciones fenotípicas observadas y esperadas, para un determinado patrón de herencia, son estadísticamente significativas o son tan pequeñas que se pueden atribuir al azar. Además, toma en consideración el tamaño de la muestra y el número de variables.

Vamos a estudiar su aplicación práctica con un ejemplo. La hoja ancha normal del café (normofolia) es dominante sobre la hoja angosta (angustifolia). Se cruzó una planta de café normofolia homocigótica NN con una planta angustifolia nn, toda la F_1 fue normofolia. En la F_2 se produjeron 84 plantas de hoja normal y 20 de hoja angosta. La proporción esperada era de 3:1.

Para comprobar esta suposición primeramente se formula una hipótesis que se llama **hipótesis nula** (H_0), que sostiene que la herencia se debe a un solo gen con dominancia completa y no existe diferencia significativa entre las proporciones observadas y esperadas. La **hipótesis alternativa** (H_a) defiende que las diferencias son significativas y la proporción no es de 3:1.

Se aplica la fórmula:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(o_i - e_i)^2}{e_i} = \frac{(o_1 - e_1)^2}{e_1} + \frac{(o_2 - e_2)^2}{e_2} + \dots + \frac{(o_n - e_n)^2}{e_n}$$

o = valor observado

e = valor esperado

El valor esperado se calcula multiplicando la proporción teórica por el total de individuos observado. En el ejemplo:

Proporción fenotípica	Observada	Esperada	o-e	(o-e) ²	(o-e) ² /e
3	84	78	6	36	36/78=0,46
1	20	26	-6	36	36/26=1.28
4	104	104			1,84

$$\chi^2 = 1,84$$

El número de grados de libertad es igual al número de clases fenotípicas menos 1. En nuestro ejemplo las clases fenotípicas son 2: normofolia y angustifolia, luego tendremos 1 grado de libertad.

A continuación se mira en la tabla, para 1 grado de libertad, entre qué valores está 1,84. Está entre 1,662 y 2,706, que corresponde a las probabilidades 0,20 y 0,10, que se encuentran arriba de las columnas respectivas. El valor de χ^2 se convierte en la tabla en la probabilidad de que las desviaciones ocurridas se deban al azar.

Convencionalmente una hipótesis nula en la mayor parte de los experimentos biológicos es rechazada cuando la desviación es tan grande que puede ser explicada por azar, menos del 5% de las veces. Es decir, la zona de rechazo o de diferencias significativas en la tabla está del 0,05 hacia la derecha. Por lo tanto, en nuestro caso, aceptaremos la hipótesis nula, la proporción observada se ajusta a la esperada 3:1, ya que la probabilidad (entre 10 y 20%) supera el valor crítico del 5%.

Este nivel de significación nos da la probabilidad sobre la que podemos rechazar o aceptar una hipótesis, pero no nos da una prueba absoluta de que la hipótesis sea cierta o falsa.

Limitaciones de la prueba de χ^2

- 1-Debe ser usada con datos numéricos absolutos, nunca en porcentajes derivados de los datos.
- 2-No puede ser usada con propiedad en los experimentos donde la frecuencia esperada dentro de cualquier clase fenotípica sea menor de 5.
- 3-Se usa sólo para datos de carácter cualitativo, no cuantitativo.

Prueba de Homogeneidad

Por regla general, una experiencia se repite varias veces, pudiéndose comparar entre sí, las diferentes repeticiones mediante el método de X^2 . La prueba de homogeneidad se realiza para comparar si todas las experiencias son semejantes, es decir, si todas las muestras provienen de una misma población. El valor total de X^2 representará un valor global, siempre que se hayan obtenido muestras tomadas de una misma población.

Para aplicar esta prueba se debe determinar:

- a)Discrepancia total
- b)Discrepancia dentro de las muestras
- c)Discrepancia entre muestras

a) Discrepancia total

El sumatorio de todas las X^2 de las muestras da la discrepancia total (DT).

Ejemplo:

Experiencia	9	3	3	1	X ²	g.l.
1	124	41	38	11	0,662	3
2	140	51	49	12	1,278	3
3	85	30	29	12	0,626	3
4	71	22	18	9	1,392	3
5	77	32	35	11	2,870	3
6	118	51	42	12	2,732	3
7	72	31	28	5	3,137	3
8	72	32	28	9	1,940	3
Total	759	290	267	81	14,637	24

$DT = X^2 = 14,637$ para 24 g.l.

En la tabla nos da una probabilidad entre 95 y 90 % de diferencias debidas al azar.

b) Discrepancia dentro de las muestras

La discrepancia dentro de una muestra (DD) es la X^2 considerando que la experiencia fuera una sola , sumando los resultados.

Prop.	Observ.	Espera.		(o-e)	(o-e) ²	(o-e) ² /e
9	759	785,81	786	-27	729	0,927
3	290	261,94	262	28	787	2,992
3	267	261,94	262	5	25	0,095
1	81	87,31	87	-6	36	0,413
16	1397	1397	1397	0		$X^2 = 4,427$

$X^2 = 4,427$ para 3 g.l.

P = 20-30%

c) Discrepancia entre las muestras

Es la diferencia entre la discrepancia total y la discrepancia dentro de las muestras.

DE = DT – DD $X^2 = 12,937 - 4,427 = 8,510$
 Para 24-3 = 21 g.l. P = 99-100 %.

TRABAJO PRÁCTICO

Se recogerán los datos de las F_2 de los cruzamientos monofactoriales de la práctica de “herencia de un solo gen autosómico”. Se contarán por separado los cruzamientos recíprocos. Se realizará la prueba de homogeneidad de X^2 , calculando la discrepancia total, la discrepancia entre las muestras y la discrepancia entre muestras.

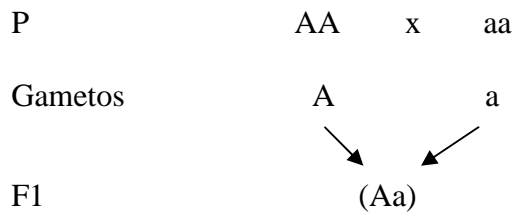
Se recogerán los datos de la práctica de las leyes de Mendel, Mendel simple y Mendel complejo; de los cruzamientos monofactoriales y bifactoriales y se realizará la prueba de homogeneidad de X^2 .

LOS EXPERIMENTOS DE MENDEL

El concepto de gen fue propuesto por primera vez en 1865 por Gregorio Mendel. El trabajo de Mendel constituye el prototipo del análisis genético.

En uno de sus primeros experimentos, Mendel utilizó polen de una planta de flores blancas para polinizar una planta de flores púrpuras. Estas plantas de líneas puras constituyen la **generación parental** (P). Todas las plantas resultantes de este cruzamiento tenían las flores de color púrpura. Esta generación de descendientes se denomina primera **generación filial** (F1).

1. Plantas que difieren en un carácter (cruzamiento monohíbrido)



F2

	A	a
A	AA	Aa
a	Aa	aa

$\frac{1}{4}$ AA: $\frac{1}{2}$ Aa: $\frac{1}{4}$ aa

2. Plantas que difieren en dos caracteres (cruzamiento dihíbrido), en el que las líneas puras parentales difieren en dos genes que controlan dos diferencias de caracteres distintas.



F2 Genotipos

	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB	AABb	AaBB	AaBb
Ab	AABb	AAbb	AaBb	Aabb
aB	AaBB	AaBb	aaBB	aaBb
ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb

F2 Fenotipos

9 A_B_ 3 A_bb 3 aaB_ 1 aabb

INTERACCIONES GENICAS

Razones mendelianas dihíbridas modificadas por interacciones génicas

Tipo de interacción génica	A-B-	A-bb	aaB-	aabb
Cuatro fenotipos distintos	9	3	3	1
Acción génica complementaria	9	7		
Supresión dominante de A sobre el gen B	13 (9+3+1)		3	
Epistasia recesiva de aa sobre los alelos B/b	9	3	4	
Epistasia dominante de A sobre los alelos B/b	12		3	1
Genes duplicados	15			1

Diferentes conceptos:

Gen (factor heredable que determina una característica biológica de un organismo)

Alelo (son los dos genes individuales de un par génico)

Cruzamiento prueba (es el cruce de un individuo con el homocigoto recesivo)

Retrocruzamiento (es el cruce entre un individuo por cualquiera de sus parentales)

Material de trabajo

	Color	Endospermo
<i>Purple starchy</i>	Morado	Almidonado
<i>White Starchy</i>	Blanco	Almidonado
<i>Yellow waxy</i>	Amarillo	Cereo
<i>Yellow sweet</i>	Amarillo	Rugoso
<i>Red Starchy</i>	Rojo	Almidonado
<i>Yellow starchy</i>	Amarillo	Almidonado

Trabajo práctico

Identificar varias mazorcas (generación filiar 2: F2) con cruzamientos monohíbridos, dihíbridos o interacciones génicas (Epistasias).

En la práctica se os comunicará el tipo de parentales utilizados y los caracteres en estudio de cada mazorca de maíz.