

LABORATORIO: GENETICA DE *DROSOPHILA*

SEGUNDA PARTE

EXPERIMENTO SOBRE SEGREGACION DE UN PAR DE GENES ALELOS CON DOMINANCIA COMPLETA DE LA CARACTERISTICA NORMAL

Por: Margarita Zuleta (1) y
Mauricio Camargo (2)

INTRODUCCION

En el Número 4 de "Actualidades Biológicas" se publicó la primera parte del laboratorio de Genética, en el que se trató lo relacionado con el manejo de *Drosophila* y su ciclo vital.

En el presente experimento se hace un cruce monohibrido para estudiar la herencia de un solo par de alelos autosómicos. El ejercicio es similar a uno de los experimentos realizados por Gregorio Mendel. Con este cruce será posible obtener los resultados que le sirvieron a Mendel para deducir la ley sobre la segregación de genes.

Para este cruce se pueden utilizar dos cepas de *Drosophila* (moscas de las frutas) que solo difieren en la conformación de las alas. Una de las cepas tiene ala normal (+) que es una característica dominante. La otra cepa tiene ala vestigial (*vg*), esta característica es recesiva y solo se observa en moscas homocigóticas (Fig. 1).

En este experimento se utilizarán las siguientes abreviaturas para determinar las generaciones:

P_1 = Padres de la primera generación
 F_1 = Primera generación filial (los hijos de P_1)
 F_2 = Segunda generación filial (los hijos de F_1)

MATERIALES

1. Cultivo de *Drosophila* salvaje.

2. Cultivo de *Drosophila* con mutación visible: ala vestigial.
3. Frasco anestesiador.
4. Eter.
5. Pedazo de cartulina.
6. Una lupa o un estereomicroscopio.
7. Pincel suave.
8. Esponja de caucho.

I. PREPARACION DEL CRUCE PARENTAL $P_1 \times P_1$

- a) Para el efecto se obtienen machos con ala vestigial y hembras vírgenes con alas normales.

Se duermen en el eterizador y se colocan tres machos y tres hembras en cada frasco pequeño con alimento. Este número de moscas se utiliza en el caso de contar con frascos pequeños cilíndricos cuya boca no pase de 3 cm de diámetro. Pero si solo se tienen frascos grandes de mermelada, se deben depositar en el alimento unos seis machos y seis hembras.

(1) Profesor, Depto. de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín - Colombia.

(2) Id.

Rotule el frasco de la siguiente manera: $3\text{♀}(+) \times 3\text{♂}(vg)$ fecha:

Cada estudiante recibe uno de los cruces el cual debe mantener a una temperatura de 25°C a 26°C .

- b) Después de seis o siete días de verificado el cruce, los estudiantes deben sacar las moscas que sirven de padres, P₁. Antes de matarlas se anestesian y examinan para comprobar que poseen las características mencionadas.

Además, deben estar seguros de que el cruce se llevó a efecto con éxito. En tal caso, el cultivo aparece perforado y con larvas. (Si después de seis días no observa larvas, repita el cruce).

- c) Los estudiantes deben anotar los siguientes datos:
1. Fecha del cruce
 2. Tipos de las moscas que se cruzaron
 3. Fecha en que se retiraron los padres del cultivo

II. PREPARACION DEL CRUCE $F_1 \times F_1$

- a) Aproximadamente después de 11 días de efectuado el cruce $P_1 \times P_1$, empezarán a nacer los hijos. Estos forman la primera generación filial (F_1). A la segunda semana, de haberse iniciado el cruce, los estudiantes, examinarán y clasificarán la progenie F_1 . Para ésto, se anestesian las moscas F_1 , se ordenan en filas y se clasifican en relación con el sexo y conformación de las alas.

En una tabla como la que aparece a continuación anote los datos de la descendencia F_1 .

TABLA 1 *

Fecha	Alas normales		Alas vestigiales	
	♀	♂	♀	♂
1er. contaje	4	3	—	—
2o. contaje	2	8	—	—
3o. contaje	6	1	—	—
Total	12	12		

Después de un cuidadoso examen de la progenie F_1 se efectúa el cruce $F_1 \times F_1$. Para ésto, escoja cinco moscas F_1 de cada sexo y coloque los cinco machos y las cinco hembras vírgenes en un frasco con alimento fresco.

Rotule el frasco con los siguientes datos: $5 F_1 \text{♀} \times 5 F_1 \text{♂}$ Fecha:

- b) Después de seis o siete días de haber hecho el cruce $F_1 \times F_1$ retire y mate las moscas F_1 que sirvieron de padres pero antes observe si el alimento aparece perforado y con larvas, lo que indica que el cruce se está desarrollando con éxito.

III. CONTAJE Y CLASIFICACION DE LA F_2 .

Después de dos días de haber nacido las primeras moscas F_2 , inicie el contaje de las mismas. Esto debe hacerse durante un período máximo de ocho días. (Si cuenta hijos por más de ocho días, puede incluir moscas de la próxima generación).

Un método para contar y clasificar las moscas es colocarlas en fila y luego separarlas de acuerdo a su fenotipo. Luego se hace una segunda separación de acuerdo con el sexo.

Anote estas observaciones en una tabla similar a la utilizada para los datos de la F_1 .

Procure examinar al menos un total de 80 moscas de la generación F_2 .

TABLA 2 *

Fecha	Alas normales		Alas vestigiales	
	♀	♂	♀	♂
1er. contaje	3	4	1	
2o. contaje	8	7	2	3
3o. contaje	3	1	1	1
Total	14	12	4	4

IV. EVALUACION DE LOS RESULTADOS

Para facilitar al estudiante la presentación de los resultados y análisis de los mismos, se sugiere el esquema que aparece en la figura 1.

* Para ayudar a comprender el experimento se colocaron resultados hipotéticos en las tablas 1 y 2.

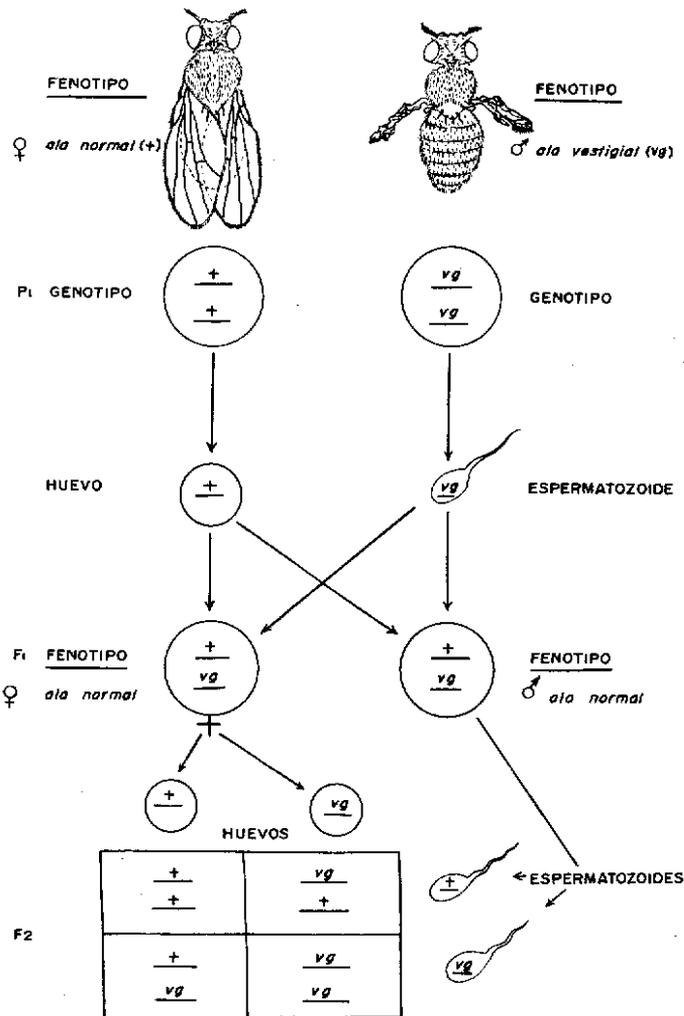


Fig. 1. INFORME SOBRE CRUCE MONOIBRIDO

V. PRESENTACION DE LOS RESULTADOS EN LA F₂.(1)

EJEMPLO TEORICO:

- Fenotipo de P₁ (padres): Machos con alas vestigiales y Hembras con alas normales.
- Número de moscas con alas normales en la F₂: 26
- Número de moscas con alas vestigiales en la F₂: 8

(1) Todo lo que está en bastardilla es para uso exclusivo del profesor.

- Número de fenotipos diferentes observados en la F₂: 2
- Proporciones fenotípicas observadas en la F₂: 26:8 = 3.25:1
- Número total de moscas en la F₂: 34

IV. INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

- Explicación Teórica* (Para el profesor).

En la F₁ desapareció la característica ala vestigial y solo aparecen moscas con ala normal; de esto se puede deducir que la característica ala vestigial es recesiva y ala normal es dominante.

En la F₂ se observan dos fenotipos: ala normal y ala vestigial en las proporciones aproximadas de 3:1. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Gregorio Mendel en su cruce monohibrido. La característica recesiva reaparece lo cual quiere decir que el factor recesivo no se diluyó en la F₁ sino que permaneció "enmascarado" por el dominante.

De los resultados de la F₂ se concluye, como lo hizo Mendel, que los individuos de la F₁ poseen dos factores (genes), uno recesivo para ala vestigial y otro dominante para ala normal, que se separan (segregan) el uno del otro durante la producción de gametos y luego se reencuentran al azar (durante la fecundación) produciendo la progenie F₂ en una proporción aproximada 3:1 (3/4 para los organismos de fenotipo dominante y 1/4 para los organismos de fenotipo recesivo). (Fig. 1).

- Explicación Numérica.*

- Cálculo del número de moscas esperado en la F₂ (este valor se predice con base en la interpretación de los resultados o sea de acuerdo con la primera ley de Mendel y la existencia de dominancia y teniendo en cuenta el número total de moscas en la F₂). En nuestro caso tendríamos:

Moscas con alas normales $3/4$ de 34 = 25.5

Moscas con alas vestigiales: $1/4$ de 34 = 8.5

- A continuación compare los resultados observados (en nuestro caso 26 y 8 respectivamente) con los esperados (o sea 25.5 y 8.5) utilizando la prueba de signifi-

cancia, conocida también como Chi cuadrado, X^2 . (SRB, Owen y Edgar, 1968 y Strickberger, 1962) Chi cuadrado se calcula así:

$$X^2 = \frac{\text{Suma (No. observado - No. esperado)}^2}{\text{No. esperado}}$$

o lo que es lo mismo en nuestro caso:

$$X^2 = \frac{(8-8.5)^2}{8.5} + \frac{(26-25.5)^2}{25.5} = 0.0392$$

Calculado X^2 , se examina la probabilidad (P) de que se obtengan en otros experimentos similares desviaciones por efectos del azar iguales a los observados en este experimento.

En efecto, al buscar en las tablas pertinentes (Tabla 3) se encuentra que a un $X^2 = 0.0392$ con un solo grado de libertad corresponde una (P) de 0.80 a 0.90 (Strickberger, 1962).

En otras palabras, existe una probabilidad del 80o/o al 90o/o de que la desviación observada en este caso se deba al azar y no a errores de interpretación.

Ahora bien, se ha tomado como criterio para aceptar o rechazar una hipótesis que explique los resultados obtenidos, lo siguiente: Si el valor de la probabilidad (P) es mayor que 0.05 se acepta la hipótesis estadísticamente. Si (P) está entre 0.05 y 0.01 se considera significativo. Si (P) es menor que 0.01 se rechaza la hipótesis. (Strickberger, 1968).

- 3) Si en su experimento particular las desviaciones entre los resultados observados y los esperados son muy grandes indique dos o tres factores que podrían ser las causas de dichas desviaciones.

Para el Profesor:

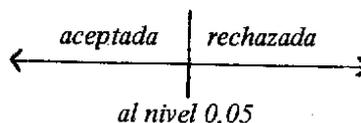
Posibles causas:

1. Menor viabilidad de los homocigóticos recesivos para ala vestigial.
2. Error en el conteo.
3. No haber retirado los padres del cruce $F_1 \times F_1$.

TABLA 3 *

Las probabilidades de diferentes valores de X^2 para grados de libertad de 1 a 50.

PROBABILIDADES										
gl	.95	.90	.70	.50	.30	.20	.10	.05	.01	.001
1	.004	.016	.15	.46	1.07	1.64	2.71	3.84	6.64	10.83
2	.10	.21	.71	1.39	2.41	3.22	4.61	5.99	9.21	13.82
3	.35	.58	1.42	2.37	3.67	4.64	6.25	7.82	11.35	16.27
4	.71	1.06	2.20	3.36	4.88	5.99	7.78	9.49	13.28	18.47
5	1.15	1.61	3.00	4.35	6.06	7.29	9.24	11.07	15.09	20.52
6	1.64	2.20	3.83	5.35	7.23	8.56	10.65	12.59	16.81	22.46
7	2.17	2.83	4.67	6.35	8.38	9.80	12.02	14.07	18.48	24.32
8	2.73	3.49	5.53	7.34	9.52	11.03	13.36	15.51	20.09	26.13
9	3.33	4.17	6.39	8.34	10.66	12.24	14.68	16.92	21.67	27.88
10	3.94	4.87	7.27	9.34	11.78	13.44	15.99	18.31	23.21	29.59
11	4.58	5.58	8.15	10.34	12.90	14.63	17.28	19.68	24.73	31.26
12	5.23	6.30	9.03	11.34	14.01	15.81	18.55	21.03	26.22	32.91
13	5.89	7.04	9.93	12.34	15.12	16.99	19.81	22.36	27.69	34.53
14	6.57	7.79	10.82	13.34	16.22	18.15	21.06	23.69	29.14	36.12
15	7.26	8.55	11.72	14.34	17.32	19.31	22.31	25.00	30.58	37.70
20	10.85	12.44	16.27	19.34	22.78	25.04	28.41	31.41	37.57	45.32
25	14.61	16.47	20.87	24.34	28.17	30.68	34.38	37.65	44.31	52.62
30	18.49	20.60	25.51	29.34	33.53	36.25	40.26	43.77	50.89	59.70
50	34.76	37.69	44.31	49.34	54.72	58.16	63.17	67.51	76.15	86.66



* Tomado de: Strickberger, N. W. *Genetics*. New York, McMillan Co; 1968.

BIBLIOGRAFIA

- Gabriel, L. M. y S. Fogel. *Great Experiments in Biology*. Englewood Cliffs. N. Y. Prentice-Hall, Inc., 1955 (pp 228-233).
- Hudock, G. A.: *Experiments in Modern Genetics*, New York, John Wiley and Sons, Inc. 1967.
- King, R. C.: *Genetics*. New York, Oxford University Press. 1962.
- SRB, A. M. Owen, R. D. y Edgar, R. S.: *Genética General*. Barcelona Omega, S. A., 1968.
- Stansfield, W. D.: *Teoría y Problemas de Genética*. México. Serie de Compendio Schaum. McGraw-Hill, 1971.
- Strickberger, M. W.: *Experiments in Genetics with Drosophila*, New York John Wiley and Sons., Incl., 1962.
- Strickberger, M. W. *Genetics*. New York, McMillan Co. 1968.