



## Análisis genético de dos caracteres en *Drosophila melanogaster*

### 1.- Elección de progenitores.

Los progenitores (**P**) con las diferentes mutaciones deben ser líneas puras. Estos se encuentran en el laboratorio mantenidos como stocks. Deberán elegirse como progenitores dos líneas que difieran en dos caracteres (por ejemplo, una de ellas *Ab* y la otra *aB*; o bien una de ellas normal (*AB*) y la otra doble mutante (*ab*). Con objeto de identificar claramente los dobles mutantes, es conveniente que las dos mutaciones elegidas afecten a distintas partes de las moscas (que, p. ej., una de ellas afecte al color del cuerpo y otra al color de los ojos).

### 2.- Obtención de la F<sub>1</sub>

Para asegurar que los cruzamientos se desarrollan de la forma deseada, las hembras deben ser vírgenes. Para ello se deben seleccionar tales hembras pocas horas después de su emergencia de las pupas (a partir de las 6 h. pueden ser sexualmente maduras y aparear). Estas hembras, con los machos escogidos, se colocan en un medio con cultivo fresco. A los dos días empiezan a tener descendencia (la **F<sub>1</sub>**) que pasa por los diferentes estadios de su desarrollo: huevos  $\emptyset$  larvas  $\emptyset$  pupas  $\emptyset$  adulto. Los progenitores deberán eliminarse del cultivo antes que aparezca su descendencia (si se observa suficiente cantidad de larvas, 6 días después de su colocación en la botella puede ser un tiempo razonable). El tiempo entre generaciones es aproximadamente de 22 días a 21°C y 15 días a 24°C.

Anote el fenotipo que presentan los individuos de la **F<sub>1</sub>**. Esta generación deberá ser genéticamente homogénea (en todo caso, podrán aparecer diferencias entre sexos, pero no entre individuos del mismo sexo), por lo tanto no se necesita examinar un tamaño de población grande. La anotación de los fenotipos de 20 ♂ y 20 ♀ es suficiente.

### 3.- Obtención de la F<sub>2</sub>

La siguiente generación (**F<sub>2</sub>**) se forma a partir del cruzamiento entre hermanos de la **F<sub>1</sub>**, por lo tanto no es necesario seleccionar hembras vírgenes. Para obtener la **F<sub>2</sub>** deberán colocarse aproximadamente 20 ♂ y 20 ♀ de la **F<sub>1</sub>** en una botella con medio de cultivo fresco. A los 6 días se eliminarán estos progenitores y se mantendrá el cultivo hasta que empiecen a aparecer los primeros adultos.

### 4.- Análisis de la segregación en la F<sub>2</sub>

A medida que vayan apareciendo adultos en la **F<sub>2</sub>** se anotará el número de individuos perteneciente a cada clase fenotípica para cada sexo (200 individuos de cada sexo).

En principio, si en el cruzamiento original están implicadas las mutaciones *a* y *b*, podrán aparecer cuatro clases fenotípicas: normales (*AB*), mutantes sólo para *a* (*aB*), mutantes sólo para *b* (*Ab*) y dobles mutantes (*ab*). Los resultados obtenidos podrán anotarse en tablas de contingencia del siguiente tipo (una tabla para cada sexo):

		Fenotipo para el carácter A,a		Segregación para el carácter B,b
		A	a	
Fenotipo para el carácter B,b	B	<b>n<sub>1</sub></b> (número de individuos con fenotipo AB)	<b>n<sub>2</sub></b> (número de individuos con fenotipo aB)	$n_1 + n_2 = \mathbf{T_B}$
	b	<b>n<sub>3</sub></b> (número de individuos con fenotipo Ab)	<b>n<sub>4</sub></b> (número de individuos con fenotipo ab)	$n_3 + n_4 = \mathbf{T_b}$
Segregación para el carácter A,a		$n_1 + n_3 = \mathbf{T_A}$	$n_2 + n_4 = \mathbf{T_a}$	$n_1 + n_2 + n_3 + n_4 = \mathbf{T}$

#### 4.1.- Análisis de las segregaciones para cada carácter, considerados individualmente

Las frecuencias observadas de las clases en las segregaciones para cada carácter, considerado individualmente, son  $T_A$  y  $T_a$  para el carácter A,a; y  $T_B$  y  $T_b$  para el carácter B,b. Estas frecuencias pueden compararse mediante una prueba  $\chi^2$  con las correspondientes frecuencias esperadas (que serán unas u otras dependiendo del tipo de herencia de que se trate: autosómica o ligadas al sexo con el cruzamiento original en uno u otro sentido). La falta de ajuste entre las distribuciones observada y esperada puede explicarse, generalmente, por la menor viabilidad de los mutantes.

#### 4.2.- Test de independencia (contingencia)

Las frecuencias de las clases fenotípicas de la distribución de los dos caracteres considerados conjuntamente son  $n_1, n_2, n_3,$  y  $n_4$ . Los correspondientes valores esperados para estas cuatro clases en el supuesto de independencia ( $e_1, e_2, e_3,$  y  $e_4$ ) pueden derivarse de la tabla anterior:

		Fenotipo para el carácter A,a		Segregación para el carácter B,b
		A	a	
Fenotipo para el carácter B,b	B	$e_1 = (T_A \times T_B)/T$	$e_2 = (T_a \times T_B)/T$	$T_B$
	b	$e_3 = (T_A \times T_b)/T$	$e_4 = (T_a \times T_b)/T$	$T_b$
Segregación para el carácter A,a		$T_A$	$T_a$	<b>T</b>

Si  $T_A, T_a, T_B$  y  $T_b$  son distintos de 0, podrán compararse las distribuciones observada y esperada (supuesto de independencia) mediante un  $\chi^2$  de contingencia:

$$\chi^2 = \sum ((n_i - e_i)^2 / e_i)$$

con un grado de libertad.

Los análisis de los apartados 4.1 y 4.2 deberán hacerse para cada sexo por separado. Sólo en el caso de que los resultados obtenidos en machos y hembras sean similares, podrán sumarse.

#### 5.- Estimación de la fracción de recombinación ( $p$ )

Podrá estimarse la fracción de recombinación en los siguientes casos:

- Si los dos genes considerados son autosómicos y el cruzamiento original es del tipo AB x ab (F1 formada por heterocigotos en fase de acoplamiento).
- Si los dos genes considerados están ligados al sexo (podrá estimarse  $p$  a partir de la segregación de los machos en la F2).

#### 6.- Presentación del trabajo realizado.

Para obtener el aprobado en las prácticas de Genética, deberá presentar un informe que contenga los siguientes apartados:

- Introducción y objetivos del trabajo
- Material y Métodos (Descripción de las mutaciones empleadas, condiciones ambientales del experimento: temperatura, alimento, análisis estadístico empleado)
- Resultados. (Exposición de los resultados). Nota: no limitarse a presentar solo tablas. Las tablas, figuras o esquemas han de ir con un pie numerado y con texto explicativo.
- Discusión (Indique si las mutaciones analizadas son dominantes o recesivas; si son autosómicas o ligadas al sexo y cómo llega a esa conclusión; las posibles causas de las desviaciones entre valores observados y esperados en las segregaciones; si los genes están o no ligados, cómo ha estimado la fracción de recombinación o por qué no fué posible estimarla; etc.)
- Bibliografía (referencia de los artículos o libros que **hayan sido citados** en el trabajo).