



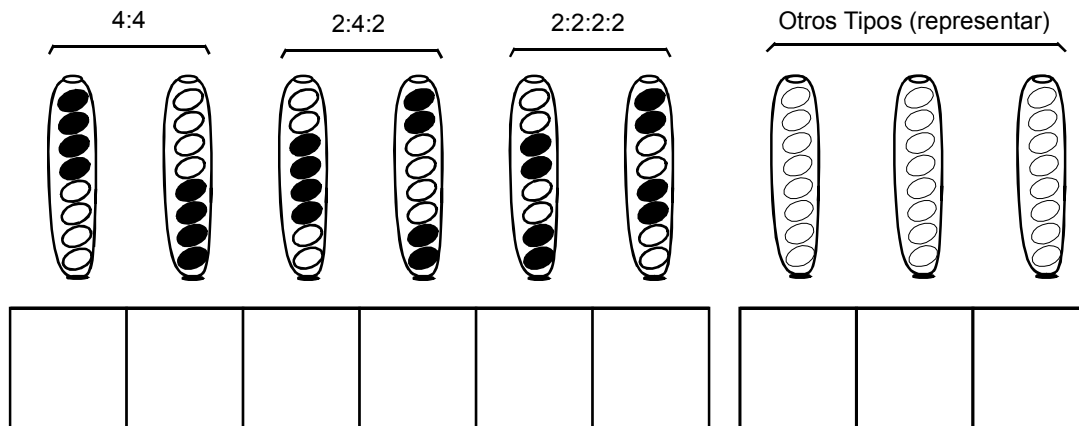
Análisis de Tétradas Ordenadas

El objetivo de la practica es familiarizarse con el ciclo biológico de los hongos, aprender las técnicas para realizar cruzamientos en medio sólido y estimar la frecuencia de recombinación entre un gen y el centrómero a partir del análisis de tétradas ordenadas. La especie utilizada es *Sordaria fimicola*, un ascomiceto que, como todos los hongos, desarrolla la mayor parte del ciclo vital en estado haploide (ver parte posterior de este guión). El medio de cultivo está compuesto de 17 gr de agar con extracto de cereales (corn-meal agar), 2 gr de glucosa, 1 gr de extracto de levadura y 1 litro de agua destilada. La mezcla se esteriliza en el autoclave a 120 °C durante 20 minutos y se sirve en placas petri.

Cada grupo de trabajo dispone de una placa previamente inoculada con dos cepas distintas: una lleva la mutación *tan* mientras que la otra lleva el alelo normal. Las esporas con la mutación presentan una coloración clara frente al fenotipo normal que es oscuro. Cada cepa está sembrada en una de las dos mitades de la superficie de la placa. Los micelios de las dos cepas se extienden por el medio de cultivo desde los dos puntos de inoculación y se encuentran en la zona central de la placa petri. Cada grupo tomará una muestra de peritecios de cada uno de las dos cepas parentales en las zonas próximas a los dos puntos de inoculación del cultivo. Las muestras se depositan sobre un portaobjetos. No importa si con ellos se levanta una pequeña porción de medio. A continuación se añade una gota de ácido acético, se coloca el cubreobjetos y se presiona suavemente sobre él con la punta de la lanceta para romper los peritecios y extender las ascas que contienen las esporas. Se observará la diferencia de pigmentación de las esporas de las dos cepas.

Despues se toma una muestra de peritecios de la parte central de la placa donde los micelios de las dos cepas se encuentran. Se observa al microscopio buscando ascas mixtas con esporas de los dos fenotipos. En ocasiones es necesario realizar varias preparaciones antes de encontrar ascas mixtas. Los peritecios con estas ascas son resultado del cruzamiento entre las dos cepas. Las ascas resultantes del cruzamiento se pueden clasificar en distintos tipos. Cada grupo de prácticas deberá clasificar 100 ascas y, a partir de estos datos, calculará la frecuencia de recombinación entre el gen *tan* y el centrómero.

TIPOS



Totales:

$r =$

En la segunda parte de la practica, cada alumno recibirá una placa con la que realizará una replica del cruzamiento de las dos cepas *tan* y normal. Para ello se tomarán muestras del cultivo de la placa en la que crecen las dos cepas usando un asa de siembra convenientemente esterilizada: una muestra de la cepa *tan* con la que inoculará una mitad del cultivo y otra con la normal con la que se inocula la otra mitad. La placa sembrada con las dos cepas se sella con cinta adhesiva para evitar la contaminación. Cada alumno se llevará su placa y observará el crecimiento de los hongos fijándose en la duración del ciclo que aproximadamente es igual al numero de días que tardan en aparecer los peritecios y liberarse las esporas.