TERCERA UNIDAD
¿CÓMO SE TRANSMITE Y MODIFICA LA INFORMACIÓN GENÉTICA EN LOS SISTEMAS VIVOS?

Aprendizajes

- Explica diferentes mecanismos hereditarios.
- Resuelve problemas que involucren la transmisión de caracteres según distintos mecanismos hereditarios.

Mecanismos de la herencia

Herencia no mendeliana: dominancia incompleta, alelos múltiples y herencia ligada al sexo

Biolaboratorio

PRÁCTICA 11
EXPERIMENTAL

CROMOSOMAS POLITÉNICOS

América Nitxin Castañeda Sortibrán

Nombre del alumno:_____

Calificación:_____

OBJETIVOS

1. Que el alumno observe la evidencia citológica del proceso de politenización, el bandeo natural y las secuencias génicas en los cromosomas.
2. Que identifique las estructuras de los cromosomas politénicos.

ACTIVIDADES

1. Realizar una disección a larvas de Drosophila de tercer estadio y obtener las glándulas salivales.
2. Teñir los cromosomas politénicos.
3. Observar al microscopio óptico los cromosomas.

INTRODUCCIÓN

En 1881 Balbiani descubrió unas estructuras que se teñían diferencialmente en los núcleos de las glándulas salivales de algunos insectos hoy día denominadas cromosomas politénicos. Posteriormente se descubrieron cromosomas politénicos en tejidos secretores, tales como, los túbulos de Malpigio, recto, e intestinos. Los cromosomas politénicos presentan un patrón de bandas e interbandas que son el producto de replicaciones sucesivas sin una separación del material genético. En este proceso los cromosomas se replican pero la célula no se divide. En las células de las glándulas salivales de Drosophila los cromosomas homólogos se replican diez veces generando 1,024 fibras de cromatina (512 fibras por cada cromosoma homólogo) que se encuentran en apareamiento somático (Fig. 1). Conforme aumenta el número de réplicas, el cromosoma se alarga y ensancha, originando un distintivo patrón de bandeo en el que pueden reconocerse miles de bandas. Las bandas difieren en morfología y amplitud, tal que el patrón de bandeo de cada cromosoma es único, y característico. Este patrón condujo a Calvin Bridges (1935) a la construcción del mapa citológico proveniente de los cromosomas politénicos de las glándulas salivales de larvas de Drosophila. La mayoría de los genes activos residen en las zonas claras, en las zonas oscuras el DNA está más compactado. Las bandas se han contado por medio de la observación con microscopía de luz y electrónica. En varias regiones, se ha estimado el número de genes que residen en un determinado número de bandas, y se ha encontrado que el número de bandas es muy similar al número de genes, sin embargo, se han encontrado banda multigénicas y otras sin una función discernible. El 95 % del DNA genómico reside en las bandas. Las bandas se pueden descondensar para formar "ensanchamientos" o "puffs" que muestran que los genes están transcribiéndose en dichas zonas. Los cromosomas politénicos han sido una herramienta invaluable en los estudios citogenéticos, en particular, para el análisis de rearreglos cromosómicos y para la localización de genes por hibridación *in situ*. Debido a que el patrón de bandeo que presentan los cromosomas politénicos es un reflejo constante de las secuencias de ADN, las bandas sir-

Referencias: Castañeda, S.A. (2005) *Manual de prácticas de genética y cuaderno de trabajo.* México, D.F.: Facultad de Ciencias. UNAM. P.83

ven como marcadores para localizar varias características genéticas (lugar de los genes, o cambios en el genoma debido a reordenamientos cromosómicos, por ejemplo deleciones, duplicaciones de bandas, translocaciones, etc.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales:
- Agujas de disección
- Agujas de lencería o agujas de jeringas de insulina
- Toallas de papel
- Pinceles
- Eterizador
- Lápiz con goma
- Un par de agujas de lencería
- Suero fisiológico al 0.7%
- Caja de Petri
- Agua destilada

Figura 1. Arreglo de la cromatina en los cromosomas politénicos. Modificado de web.bro.utk.edu/general/sg0101/october4.hmtl.

- Pipeta Pasteur
- Portaobjetos
- Cubreobjetos

El maestro elaborará con anterioridad los siguientes reactivos:
- Aceto-orceína al 2%

Material biológico (proporcionado por el maestro):
- Cultivos de una cepa silvestre de *Drosophila virilis* con larvas de 3er estadio.
- Cultivos de una cepa con una serie de inversiones (TM3) de *Drosophila melanogaster* con larvas de 3er estadio.

Equipo:
- Microscopio estereoscópico
- Microscopio de observación.

Métodos (los alumnos guiados por el maestro deberán):

1. Colocar una gota de agua destilada o suero fisiológico al 0.7% en la caja de Petri (Fig. 2.).
2. Sacar con una aguja de disección o un pincel una larva de 3er estadio de *Drosophila virilis* , la cual se reconoce por ser proporcionalmente más grande que las de primero y segundo estadios. Generalmente estas larvas se encuentran en las paredes del frasco de cultivo. Elegir una que se encuentre activa (Fig. 3.).
3. Colocar a la larva en la caja de Petri (Fig. 4).

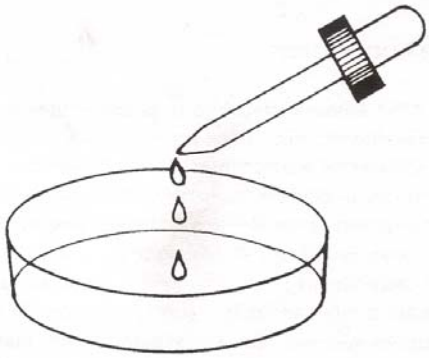

Figura 2. Colocación de agua destilada o suero fisiológico al 0.7% en la caja de Petri (Dibujo de Rosendo Martínez Becerril).

Referencias: Castañeda, S.A. (2005) *Manual de prácticas de genética y cuaderno de trabajo.* México, D.F.: Facultad de Ciencias. UNAM. P.83

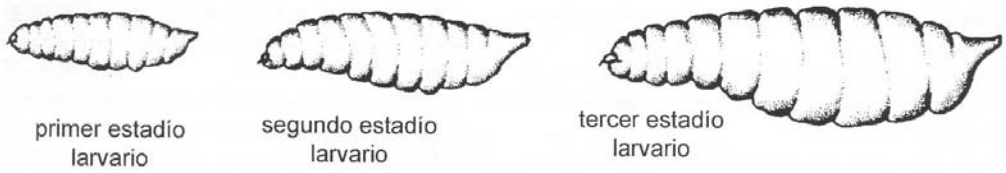

Figura 3. Estadíos larvarios de Drosophila (Dibujo de Rosendo Martínez Becerril).

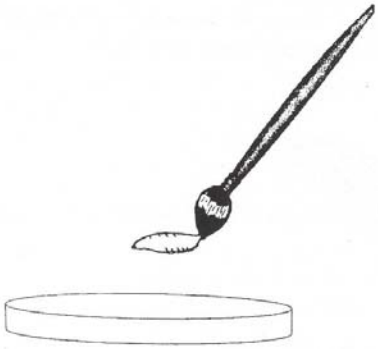

Figura 4. Colocación de la larva en la caja de Petri (Dibujo de Rosendo Martínez Becerril).

4. Comenzar la disección localizando primero las mandíbulas, las cuales se distinguen claramente por su forma y color negro (Fig. 5). Colocar la punta de una aguja en las mandíbulas y la punta de otra aguja en la región media del cuerpo de la larva.

5. Jalar en sentido opuesto las dos agujas al mismo tiempo desgarrando así la larva (Fig. 6).

6. Separar las glándulas salivales que se podrán distinguir del resto de los órganos por la forma característica de sacos alargados que aparentan estar formados por una red. Las glándulas generalmente se quedan adheridas a la región mandibular.

7. Las glándulas salivales están rodeadas por tejido adiposo opaco, de ser posible quite la mayor cantidad de tejido adiposo con ayuda de las agujas, para que las preparaciones queden más limpias (Fig. 7).

8. Una vez separadas las glándulas salivales, transportarlas con las agujas a un portaobjetos y dejarlas en agua destilada cuidando que no se sequen. No perder las glándulas en el transporte! (Fig. 8).

9. Cuando complete un total de cuatro glándulas,

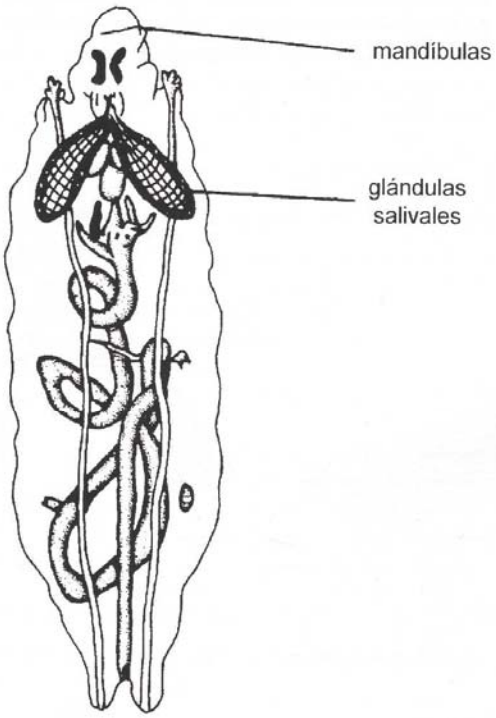

Figura 5. Anatomía de la larva (Dibujo de Rosendo Martínez Becerril).

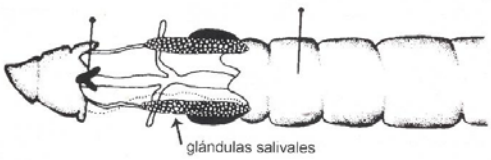

Figura 6. Posición de las agujas para la disección de la larva (Dibujo de Rosendo Martínez Becerril).

Referencias: Castañeda, S.A. (2005) *Manual de prácticas de genética y cuaderno de trabajo.* México, D.F.: Facultad de Ciencias. UNAM. P.83

agregar dos gotas de acetorceína y dejar teñir por veinte minutos.

10. Colocar la preparación bajo el microscopio estereoscópico y observar constantemente para asegurarse que no se seque.

11. Una vez transcurridos los veinte minutos, colocar el portaobjetos sobre un papel secante.

12. Colocar inmediatamente después un cubreobjetos encima de las glándulas salivales y papel absorbente encima del portaobjetos. En ese momento se puede colocar la preparación en el microscopio óptico y observar las glándulas (Fig. 9).

13. Una vez que se hayan observado las glándulas, retirar la preparación y volver a colocarla entre el papel secante.

14. Con la finalidad de romper las membranas nucleares y dejar libres a los cromosomas, con la goma de un lápiz ejercer una presión fuerte sobre el cubreobjetos haciendo movimientos rotatorios.

15. En el microscopio óptico, observar los cromosomas a 10, 40 y 100X.

16. Con el ocular de 100X y usando el aceite de inmersión observar el patrón de bandeo que debe ser semejante al del esquema de la figura 1.

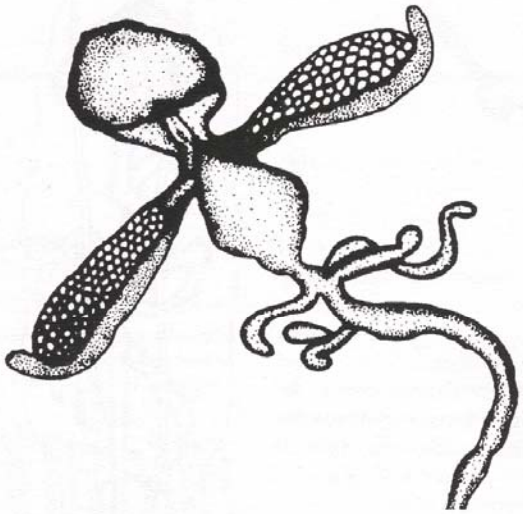

Figura 7. Disposición de los cuerpos grasos asociados a las glándulas salivales (Dibujo de Rosendo Martínez Becerril).

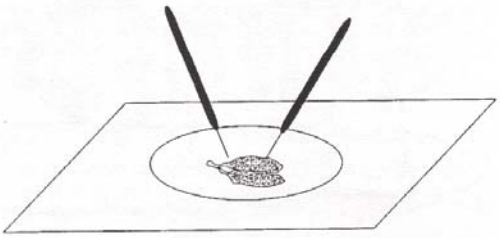

Figura 8. Transporte de las glándulas salivales a un portaobjetos (Dibujo América Castañeda).

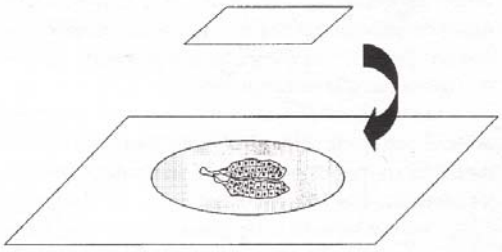

Figura 9. Colocación de las glándulas salivales en un portaobjetos (parte superior) y del cubreobjetos (parte inferior) para hacer el "squash" (Dibujo de Rosendo Martínez Becerril).

Referencias: Castañeda, S.A. (2005) *Manual de prácticas de genética y cuaderno de trabajo.* México, D.F.: Facultad de Ciencias. UNAM. P.83

REPORTE DE LA PRÁCTICA

(1) Resultados:

1. ¿Puede usted distinguir los núcleos en la preparación? Descríbalos.

2. ¿Puede ver usted el nucleolo?

3. ¿Puede usted determinar el número de cromosomas de *Drosophila virilis* a partir de la preparación? ¿Cuántos son?

4. Puede usted detectar el patrón de bandeo? Descríbalo.

5. Dibuje los cromosomas politénicos de acuerdo con lo que usted observe en la preparación.

Referencias: Castañeda, S.A. (2005) *Manual de prácticas de genética y cuaderno de trabajo.* México, D.F.: Facultad de Ciencias. UNAM. P.83