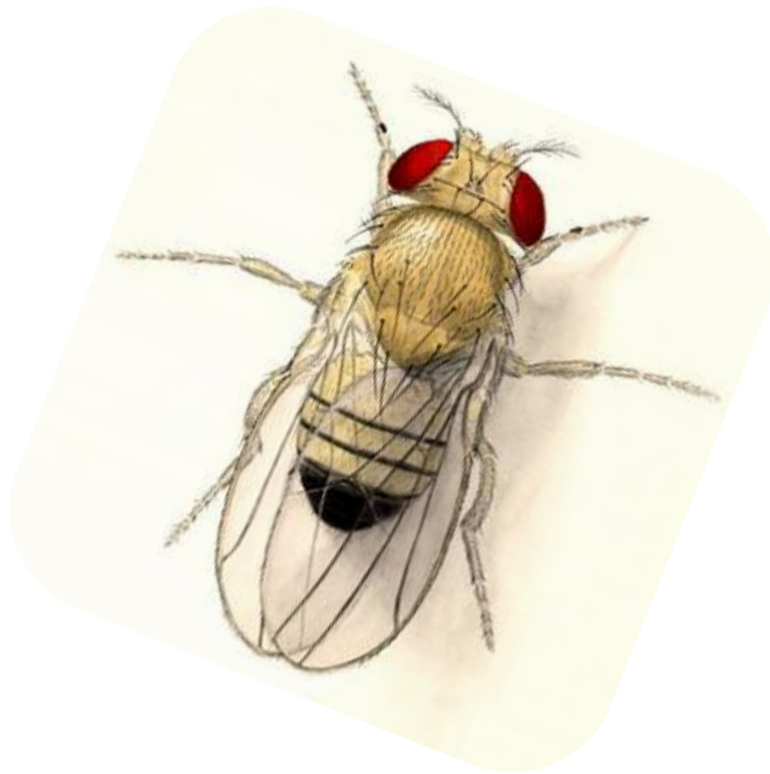


**Dihybridisme *ebony* sense
ulls a *Drosophila
melanogaster*: cas
d'herència independent o
l·ligada?**



“Abans pensàvem que el nostre futur estava a les estrelles.
Ara sabem que està als nostres gens.”

James Watson, Premi Nobel en Fisiologia o Medicina al 1962.

Agraïments

En primer lloc, vull agrair la dedicació, col·laboració i temps invertit en aquest treball, a la meva tutora del treball de recerca, Carme Samsó. M'has ajudat, m'has guiat i m'has fet espavilar a l'hora de realitzar una recerca d'aquest tipus.

A continuació, vull donar gràcies al Dr. Francesc Mestres, professor titular de genètica del Departament de Genètica de la Universitat de Barcelona, per haver-me contestat molt amablement als dubtes que han anat sorgint al llarg de la investigació i per haver-me facilitat les soques de *Drosophila melanogaster*. Sense aquestes, el treball no s'hagués pogut realitzar.

També vull destacar l'ajuda al laboratori de dos amics, en Sergi Gómez i la Patricia Saladrigas. Tots dos m'han ajudat a fer les feines de laboratori, acompanyant-me a l'hora del pati o per les tardes, a realitzar la preparació del medi de cultiu i tot el necessari per dur a terme els encreuaments.

També vull reconèixer el recolzament obtingut per part de la meva família.

Per últim, vull agrair la comprensió de tots els professors que em donen classe per deixar-me marxar o arribar més tard de l'hora a causa de l'observació exhaustiva de les drosòfiles.

A tots, GRÀCIES!

Índex

1. Introducció	3
1.1. Explicació de l'ordre dels capítols	4
1.2. Fonts d'informació	5
1.3. Límits del treball	5

Cos teòric

2. Gregor Mendel	6
2.1. Època anterior a Mendel.	6
2.2. Gregor J. Mendel.....	6
2.2.1. Les lleis de Mendel	8
3. La teoria cromosòmica de l'herència	13
3.1. El redescobriments de les lleis de Mendel	13
3.2. Els gens i els cromosomes, factors hereditaris	13
3.3. La confirmació de la teoria cromosòmica de l'herència	15
3.4. Teoria cromosòmica de l'herència.....	17
4. Independència vs lligament	17
4.1. El lligament.....	17
4.2. L'herència independent i l'herència lligada	18
4.2.1. Herència independent.....	18
4.2.2. Herència lligada	19
4.3. Independència vs lligament	21
5. Els mapes genètics	22
6. Drosophila Melanogaster	23
6.1. Fitxa sistemàtica	23
6.2 Morfologia.....	24
6.3 Cicle vital	25

Cos pràctic

7. Investigació pràctica	28
7.1 Metodologia.....	28
7.1.1. Material utilitzat.....	29
7.1.2. Manipulació de les mosques.....	29
7.1.3. Tècniques d'eterització	29
7.1.4. Observació i separació de mosques.....	30
7.1.5. Identificació de sexes	31
7.1.6. Obtenció de femelles verges.....	32
7.2. Encreuament: <i>ebony sense ulls x salvatge</i>	33
7.2.1. Estudi del patró hereditari	33
8. Conclusions	38
9. Bibliografia i webgrafia.....	39
10. Annexes.....	41
Document 1: Diari de laboratori	41
Document 2: Mapa genètic de <i>D. melanogaster</i>	44
Document 3: Prova del ji-quadrat.....	45
Document 4: Recepta medi de cultiu	48

1. Introducció

Aquest és un treball d'investigació sobre genètica, amb el qual pretenc obrir horitzons i adquirir nous coneixements sobre aquesta part tant important de la ciència. L'objectiu d'aquest treball és descobrir quin patró d'herència segueixen les mutacions *ebony* (cos més fosc de l'habitual) i *sense ulls* de la mosca de la fruita, científicament anomenada *Drosophila melanogaster*.

El motiu de la tria d'aquest tema és l'interès que tinc pel món de la genètica. Aquest interès em va sorgir quan, fa dos anys, vam estudiar Mendel a classe i em va fascinar. Però, en un inici, vaig apartar aquest tema perquè el veia molt teòric i jo buscava fer un treball de recerca que pogués ser pràctic. Parlant amb la tutora sobre si hi havia cap possibilitat de fer un treball pràctic i de genètica, em va donar l'opció de treballar amb l'herència de la mosca de la fruita. Així, després de rumiar sobre les possibilitats que tindria aquest tipus de treball, vaig decidir que seria perfecte: em permetria estudiar en profunditat tota la part teòrica de la genètica i fer una pràctica amb material biològic viu al laboratori.

Treballar amb éssers vius ha estat el més satisfactori ja que, després de dos anys sense poder fer pràctiques al laboratori per falta d'espai a l'aula, he pogut realitzar una recerca i, a més, de manera autònoma.

Realitzar aquesta investigació ha estat gratificant perquè a més de realitzar una pràctica, he adquirit molts coneixements nous sobre genètica i sobre com realitzar un treball d'aquestes característiques.

1.1. Explicació de l'ordre dels capítols

El treball consta d'una introducció on s'exposen els motius pels quals he escollit aquest tema a més de l'objectiu de la investigació. També, s'explica l'estructuració emprada i les limitacions del treball.

A continuació, el treball es divideix en dos grans blocs: el cos teòric i el cos pràctic. Al cos teòric es va fer un recorregut al llarg de la història explicant totes les aportacions fetes pels diferents científics, al món de la genètica. Els dos científics més importants que van fer aportacions són: Mendel i Morgan, aquest últim va tenir la col·laboració dels seus alumnes. Primer s'explica l'època anterior a Mendel i, tot seguit, es fa una breu biografia de Gregor Mendel amb l'explicació de les seves tres lleis. Després, passem a la teoria cromosòmica de l'herència de Sutton-Boveri on Morgan va ser qui va intentar confirmar-la fent diferents recerques i, gràcies a aquestes, va fer grans descobriments en genètica. A continuació, s'explica el concepte de lligament, d'herència independent i d'herència lligada, i es comparen les diferències. Per acabar, s'explica el mapa genètic i es fa una breu descripció de les característiques i la ubicació dins del regne animal del material biològic utilitzat: la *Drosophila melanogaster*.

Tot seguit s'aplica un mètode hipotètic-deductiu per poder establir el patró d'herència de l'encreuament i poder, així, validar o no la hipòtesi de patró d'herència inicial. En aquest mètode hipotètic-deductiu he tingut en compte els resultats obtinguts a partir de l'observació i els he comparat amb els diferents patrons d'herència del cos teòric del treball.

Tot seguit s'expliquen totes les conclusions obtingudes a partir de l'observació i comparació dels resultats amb el cos teòric del treball.

Per finalitzar, hi ha un apartat on es fa referència a tots els llibres i webs consultats per realitzar el treball. També consta d'un apartat d'annexos on apareix un seguit d'informació addicional per fer suport al treball.

1.2. Fonts d'informació

Aquest treball ha estat realitzat tant amb informació recopilada de llibres i de pàgines web, com la proporcionada per la meua tutora, Carme Samsó.

També m'ha aportat informació vital per dur a terme el treball el Dr. Francesc Mestres, professor titular de genètica del Departament de Genètica de la Universitat de Barcelona. A més de proporcionar-me informació, m'ha resolt els dubtes sorgits al llarg de la investigació i m'ha proporcionat les *Drosophiles salvatges* i els mutants *ebony sense ulls*.

Tota la informació recopilada en el cos teòric i les imatges utilitzades han estat extretes de pàgines web i del llibre de 2n de Batxillerat. La informació recopilada en el cos pràctic sobre el manteniment de les drosòfiles, l'obtenció de femelles verges, etc. ha estat extreta del web del CDEC (Centre de Documentació i Experimentació en Ciències).

1.3. Límits del treball

Un dels principals límits del treball ha estat el temps. Al començament vam haver d'esperar una generació de drosòfiles, i posar-les en uns altres flascons, perquè el medi de cultiu en el que estaven es queia quan el posaves cap per avall. Després, van trigar molt en sortir, en especial les doble mutants. Aquest fet l'hem atribuït al trasllat de les *Drosophiles*, des de la facultat fins al nostre laboratori i des del laboratori fins a casa, i que l'estufa estava a uns 21°C (una mica baixa, fet que provoca que el cicle vital sigui més lent).

L'altra limitació va ser trobar-se un dia l'estufa a 40°C, fet que va provocar que la investigació s'aturés de cop. Les drosòfiles no poden superar els 30°C, sinó moren, per tant, van morir totes. Per sort, vam poder enregistrar un nombre de 141 individus de la F2 abans de l'aturada i, així, poder realitzar el treball, però l'objectiu era trobar uns 300 individus en total.

Cos teòric

2. Gregor Mendel

2.1. Època anterior a Mendel.

Des de l'antiguitat, es considerava que els descendents presentaven les característiques intermèdies dels seus progenitors, és a dir, que les característiques del descendent depenien de les inicials (la dels progenitors). Aquesta concepció de l'herència es va anomenar teoria genètica de la mescla.

Durant milers d'anys els agricultors i els ramaders van seguir aquesta teoria, i van aconseguir, per mitjà d'encreuaments successius, individus amb noves característiques que els feien més rendibles.

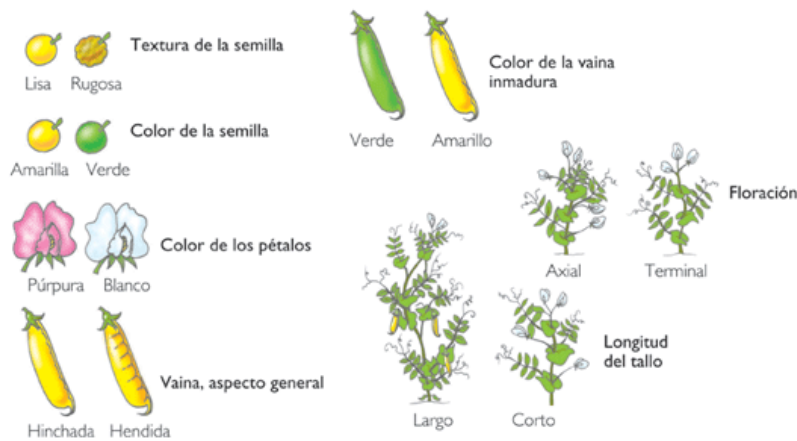
Els agricultors i ramaders utilitzaven el procés anomenat selecció artificial, procés que consisteix en escollir els descendents que manifestaven en major grau els caràcters desitjats i únicament utilitzar aquests com a reproductors per obtenir la generació següent. Utilitzaven aquest procés per aconseguir varietats o races pures, és a dir, buscaven obtenir individus de valor econòmic (que donessin molts fruits, molta llet...) i no estaven interessats en esbrinar quin era el mecanisme profund d'aquest resultat.

Amb Mendel tot va canviar, es va interessar pels mecanismes de descendència i va realitzar estudis.

2.2. Gregor J. Mendel

Johann Mendel va néixer a Heizendorf (l'actual Hynčice, República Txeca) el 22 de juliol de 1822 i va morir el 6 de gener de 1884 a Brünn (avui Brno, República Txeca) a causa d'una nefritis crònica. Al 1843 va ingressar a l'ordre dels agustins on quatre anys més tard es va convertir en sacerdot i va adoptar el nom de Gregor.

Al 1856 va iniciar l'experimentació estudiant set característiques de l'espècie de pèsol (*Pisum sativa*) i altres plantes, que encreuava (hibridacions) mitjançant pol·linització artificial al jardí del monestir de Brünn, amb l'objectiu d'estudiar la descendència de cada característica.



Imatge: característiques estudiades per Mendel.¹

Mendel va escollir el pèsol (*Pisum sativum*) com a material biològic perquè:

- Produïen molts descendents.
- Existien varietats diferents: color, forma, mida, etc. Per tant, presentaven variabilitat genètica.
- És una espècie autògama, és a dir, s'autopol·linitza, de manera que el pol·len de les anteres d'una flor cau sobre l'estigma de la mateixa flor.
- Era fàcil realitzar creuaments entre diferents varietats a voluntat. És possible evitar l'autopol·linització castrant les flors d'una planta (eliminant les anteres).

Per realitzar aquests experiments no servia qualsevol tipus de pèsol, si no que les plantes havien de reunir un conjunt de característiques específiques:

- Tenir caràcters diferencials constants.
- Els híbrids (heterozigots) entre varietats havien de protegir-se de la influència del pol·len estrany durant la floració (posant bosses a les flors).
- Les varietats usades havien de ser Línies Pures (individus idèntics pels caràcters estudiats). Per comprovar que ho eren feia un experiment control: les varietats usades les va sotmetre a prova durant 2 anys (dues generacions successives per autofecundació) per comprovar que totes produïen descendència constant.

Mendel interpretà els seus resultats d'una forma força semblant a com ho fem actualment. Aquest fet és extraordinari, tenint en compte que a l'època no es coneixien ni els cromosomes ni la meiosi².

¹ http://biologia-lacienciadelavida.blogspot.com.es/2010_10_01_archive.html

² Divisió cel·lular d'organismes diploides, el resultat de la qual són gàmetes.

Els principals encerts que va tenir Mendel a l'hora de fer els seus experiments van ser:

- Utilitzar una espècie autògama, així assegurava que les varietats que feia servir eren *línies pures* (individus idèntics o homozigots).
- Escollir caràcters qualitius (per exemple el color de la flor blanca/porpra) amb característiques fàcilment observables.
- Fer els experiments fixant-se cada cop en un sol caràcter. Així obtenia proporcions numèriques fàcils d'identificar.
- Utilitzar relacions estadístiques en varies generacions successives, és a dir, comptar el número d'individus de cada tipus en les successives generacions i proposar proporcions senzilles.
- Dur a terme experiments control i creuaments addicionals (retrocreuaments) per comprovar les seves hipòtesis.
- Analitzar caràcters independents (situats en cromosomes diferents) per demostrar el seu principi de combinació independent.

Va publicar el seu treball, "Experiments d'hibridació en plantes" al 1865, on estableix les lleis generals de la hibridació o, més tard, les anomenades lleis de Mendel. La importància de les quals no va tenir molt ressò entre la comunitat científica.

Gràcies a les seves observacions va poder donar nom a termes que es segueixen utilitzant en la genètica actual: factor hereditari (gen) dominant³, factor hereditari (gen) recessiu⁴ i híbrid⁵.

2.2.1. Les lleis de Mendel

Les lleis es deriven del treball realitzat per Gregor Mendel, publicat l'any 1865 i 1866.

Les Lleis de Mendel són un conjunt de regles primàries relacionades amb la transmissió per herència de les característiques que posseeixen els organismes pares als seus fills. Aquest mecanisme d'herència té el seu fonament en la genètica.

³ És aquell gen que sempre es manifesta en el fenotip, amagant l'expressió del recessiu.

⁴ És aquell gen que només es manifesta en el fenotip amb l'absència del dominant o posseint dues còpies d'aquest.

⁵ Individu que posseeix els gens al·lels diferents. Per exemple: *Gg*.

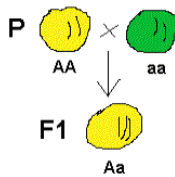
2.2.1.1. Primera llei: Llei de la uniformitat de la primera generació filial

Aquesta llei diu: “Quan s'encreuen dues races pures, tots els descendents són iguals entre si”⁶

Mendel va encreuar dues manifestacions diferents d'un mateix caràcter (fenotips⁷ antagònics), la raça pura de pèsols grocs amb la de pèsols verds. D'aquest encreuament va obtenir una generació anomenada filial primera (F_1), tota igual, uniforme de pèsols grocs. Així va confirmar la llei de la uniformitat de la primera generació filial.

Posteriorment va encreuar entre si la generació F_1 i va obtenir la generació filial segona (F_2). De la qual hi havia el triple d'individus de pèsols grocs que de pèsols verds.

Amb aquest experiment, Mendel va observar que els individus de la F_1 portaven la informació de tots dos caràcters ja que donaven descendència amb el caràcter verd i el groc. Per tant, va arribar a la conclusió que cada organisme posseïa dos factors hereditaris (avui en dia anomenats gens) per a cada caràcter, cadascun heretat d'un dels progenitors.



Imatge: Primera llei⁸

També va observar que els individus de la F_1 , encara que porten els dos tipus de factors hereditaris, sempre presenten pèsols grocs. Amb això va deduir que hi havia dues categories de factors: els dominants, que sempre es manifesten, i els recessius, que només es manifesten quan no estan acompanyats d'un factor dominant.

Cada factor hereditari es simbolitza amb una lletra, majúscula si es dominant i minúscula si es recessiu. En aquest cas seria: **A** per als pèsols grocs i **a** per als pèsols verds. Els individus de raça pura (o homozigòtics) grocs serien **AA**, i els verds **aa**, i els descendents de la F_1 híbrids (o heterozigòtics) serien **Aa**.

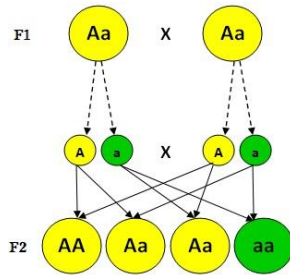
⁶ A. Jimeno i M. Ballesteros (2009); *Biologia 2 Batxillerat*. Grup Promotor Santillana. (pàg. 93)

⁷ Conjunt de manifestacions de caràcters d'un organisme. Depèn del genotip (gens) i de l'acció ambiental.

⁸ http://biologia4a-albertoyjuanjo.blogspot.com.es/2009_12_01_archive.html

2.2.1.2. Segona llei: Llei de la segregació

Aquesta llei diu: “ Els dos factors hereditaris que informen sobre un mateix caràcter no es fusionen o barregen, sinó que queden diferenciats durant tota la vida de l'individu i se segreguen, és a dir, se separen i es reparteixen, en el moment de la formació dels gàmetes.”⁹



En el mateix experiment explicat abans, en l'encreuament entre individus de la F_1 entre si, un progenitor produirà gàmetes masculins i femenins **A** i l'altre gàmetes masculins i femenins **a**. Com que la unió entre els gàmetes (fecundació) és a l'atzar, el resultat seran totes les combinacions possibles entre aquests gàmetes.

Imatge: Segona llei¹⁰

El resultat obtingut en combinar a l'atzar els factors hereditaris, tant en el primer encreuament com en el segon, donen unes proporcions que coincideixen amb les obtingudes experimentalment per Mendel. Per tant, va arribar a la conclusió que havia dos factors hereditaris per a cada caràcter (tot i que no sabia ni la naturalesa química ni a quina part de la cèl·lula es trobaven), que durant la reproducció se segregaven (se separen) i que llavors es combinaven a l'atzar, per constituir una nova generació.

• Creuament prova o retrocreuament.

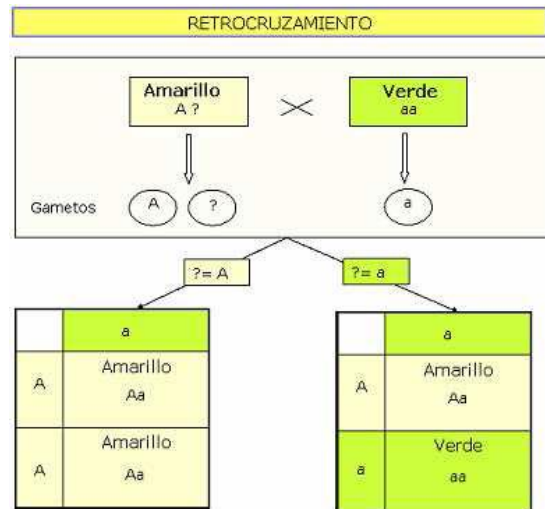
S'utilitza per esbrinar si un individu que presenta caràcter dominant és homocigot (**AA**) o heterocigot (**Aa**).

El retrocreuament consisteix en creuar al individu que estudiem amb un altre individu homocigòtic recessiu (**aa**).

Si la descendència presenta només el fenotip dominant, l'individu és homocigòtic (**AA**). Però si en la descendència apareix algun individu amb el caràcter recessiu, llavors l'individu estudiat és heterocigòtic (**Aa**).

⁹ A. Jimeno i M. Ballesteros (2009); *Biologia 2 Batxillerat*. Grup Promotor Santillana. (pàg. 94)

¹⁰ <http://www.saberespractico.com/estudios/secundaria-bachiller/biologia-secundaria-bachiller-estudios/las-tres-leyes-de-mendel/>



2.2.1.3. Tercera llei: Llei de la independència dels caràcters

Aquesta llei diu: “Els factors hereditaris no antagònics, com són els que informen sobre la forma i els que informen sobre el color de les llavors, mantenen la seva independència a través de les generacions, ja que s’agrupen a l’atzar en els descendents.”¹²

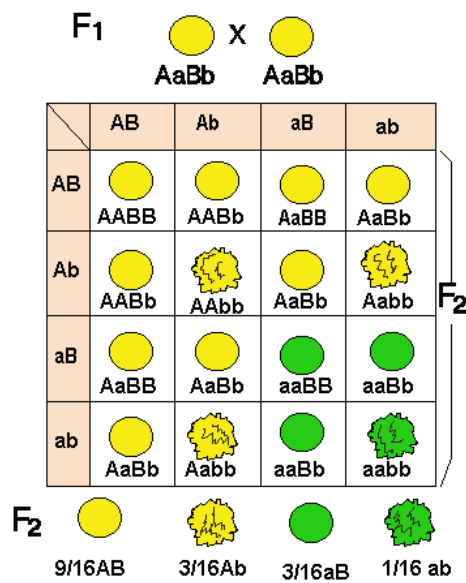
Un cop Mendel va haver estudiat com s’heretaven les diferents manifestacions (fenotips) d’un caràcter, es va plantejar estudiar com s’heretaven les manifestacions de dos caràcters diferents: el color de la llavor i la forma de la llavor. Va escollir dues races pures, una de llavors de superfície llisa i de color groc, i l’altra de llavors rugoses i de color verd. Les va creuar i va obtenir una F_1 tota igual, uniforme, de llavors de forma llisa i de color groc. Per tant, va deduir que el factor groc era dominant sobre el verd i que el factor llis era dominant sobre el rugós. Al encreuar aquestes plantes entre si, va obtenir una F_2 constituïda per llavors llises i grogues, llises i verdes, rugoses i grogues i rugoses i verdes, en proporcions 9:3:3:1 respectivament.

Seguint el model anterior, la generació parental havia de ser **AABB** per a la raça pura llisa i groga amb gàmetes **AB** exclusivament, i **aabb** per a la raça pura rugosa i verda amb gàmetes **ab**. Així doncs, els individus de la F_1 serien tots **AaBb**.

¹¹ http://Cmapspublic3.ihmc.us/rid=1GPKSCJZ1_J03PB5_N8S/GENETICAMENDELIANA_MELI.pdf

¹² A. Jimeno i M. Ballesteros (2009); *Biologia 2 Batxillerat*. Grup Promotor Santillana (pàg. 95)

Quan aquests descendents es reproduïssin entre si, donarien gàmetes de quatre tipus: **AB**, **Ab**, **aB**, **ab**. Per tant les combinacions possibles serien 16 ($4 \times 4 = 16$). Les proporcions fenotípiques esperades i les observades experimentalment per Mendel van ser les mateixes (9:3:3:1). D'aquest experiment, Mendel va poder deduir que els factors per a un caràcter s'hereten independentment dels factors per a un altre.



Imatge: Tercera llei¹³

¹³ <http://www.monografias.com/trabajos57/gregor-johann-mendel/gregor-johann-mendel2.shtml>

3. La teoria cromosòmica de l'herència

3.1. El redescobriments de les lleis de Mendel

Mendel va publicar els seus descobriments el 1866, en una revista de poca difusió i en un moment en què l'interès científic es centrava en altres temes, com la identificació de les espècies procedents del Nou Món i la controvèrsia, que va tenir gran impacte social, entre els seguidors de les teories evolucionistes del francès Jean-Baptiste de Lamarck (1744-1829) i les de l'anglès Charles Darwin (1809-1882).

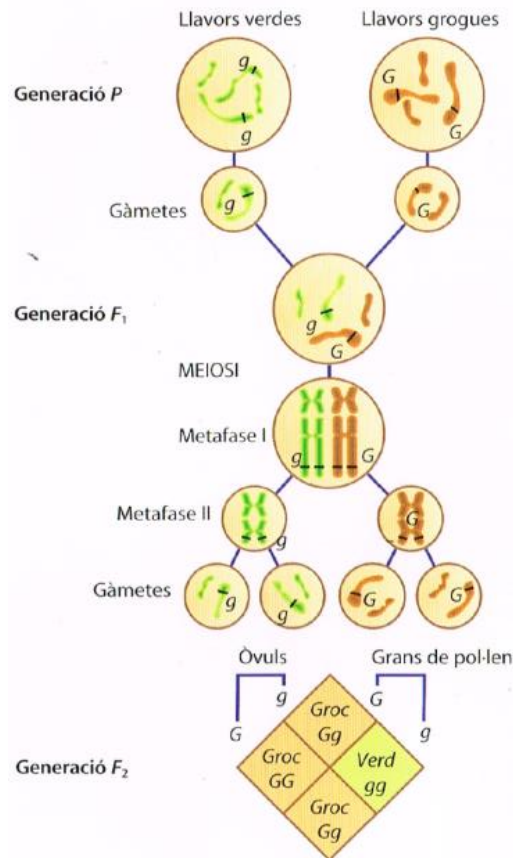
El món científic de l'època de Mendel no estava preparat per admetre que existien determinades estructures cel·lulars invisibles, basant-se només en les proporcions matemàtiques trobades entre els descendents de les plantes del pèsol, i encara menys per comprendre que aquestes eren les responsables dels caràcters biològics dels organismes. Tampoc es coneixia el concepte de mutació, per tant no es va valorar prou el mendelisme i va quedar en l'oblit.

El 1900, passats trenta-quatre anys, en una de les coincidències més grans de la investigació científica, tres autors: l'holandès De Vries, l'alemany Correns i l'austríac Tschermak; per separat i sense conèixer els treballs de Mendel, van arribar a les mateixes conclusions que ell. Els tres autors, revisant la bibliografia per preparar una publicació conjunta, van descobrir els treballs de Mendel. Li van reconèixer la seva precedència i van publicar les seves conclusions com a confirmacions de les lleis de Mendel. Des de llavors, Mendel va tenir el reconeixement de la comunitat científica.

3.2. Els gens i els cromosomes, factors hereditaris

El 1900 el món científic ja estava preparat per entendre els aspectes invisibles de la biologia, i ràpidament es van succeir una sèrie de descobriments importants.

El 1902 dos investigadors, W. C. Sutton (als Estats Units) i T. Boveri (a Alemanya), treballaven per separat observant el paral·lelisme que existia entre l'herència dels factors hereditaris mendelians i el comportament dels cromosomes durant la meiosi i la fecundació. Van elaborar la teoria cromosòmica de l'herència de Sutton-Boveri, la qual proposa que aquests factors hereditaris parlats per Mendel (gens) es devien trobar als cromosomes.



Imatge: Herència dels gens segons la teoria cromosòmica¹⁴

Sutton i Boveri van establir la relació existent entre els factors hereditaris i els cromosomes, de manera que igual que per a cada caràcter hi ha un gen heretat d'un progenitor i un gen heretat de l'altre progenitor (segons Mendel), els cromosomes també estan duplicats, és a dir, hi ha dos cromosomes de cada tipus: un cromosoma s'hereta d'un progenitor i l'altre cromosoma s'hereta de l'altre progenitor. Aquests cromosomes s'anomenen cromosomes homòlegs. A més, durant la meiosi aquests cromosomes homòlegs se separen, anant un cap a un gàmeta i l'altre a l'altre gàmeta (igual que va proposar Mendel per als factors hereditaris).

El 1909 W. Bateson va designar la ciència que estudia els caràcters biològics com a genètica. Aquest mateix any, W. Johannsen va definir el "factor hereditari" del qual parlava Mendel com a gen, sent el factor que determina una característica biològica. Els gens que contenen informació diferent però sobre el mateix caràcter s'anomenen al·lels. Per exemple: el gen **A** i el gen **a** per al color del pèsol són al·lels entre si.

¹⁴ A. Jimeno i M. Ballesteros (2009); *Biologia 2 Batxillerat*. Grup Promotor Santillana (pàg. 96)

La teoria cromosòmica de l'herència va crear un gran impacte a la seva època ja que enllaçava el món de la citologia, desenvolupada pels microscopistes, amb el de la genètica, que fins ara es relacionava amb els cultius de plantes i amb els encreuaments d'animals.

Cal destacar els treballs de McClung (1900), E. Wilson (1905) i N. Stevens (1905) en la recerca de proves a favor de la teoria cromosòmica. Aquests van investigar sobre el nombre de cromosomes de les cèl·lules dels insectes himenòpters¹⁵. Van arribar a la conclusió que hi havia relació entre els caràcters (sexe masculí o sexe femení) i els cromosomes (XY per mascles i XX per femelles). Els mascles al posseir els cromosomes que determinaven el sexe de dos tipus, és a dir, diferents (XY), els van anomenar heterocromosomes (també anomenats cromosomes sexuals) i a la resta de cromosomes, autosomes o cromosomes autosòmics.

3.3. La confirmació de la teoria cromosòmica de l'herència

T. H. Morgan (1866-1945) va ser un genetista americà que va estudiar la història natural, la zoologia i la macromutació en la mosca de la fruita (*Drosophila melanogaster*). Gràcies al seu treball amb la mosca de la fruita, va ser guardonat amb el Premi Nobel de Fisiologia o Medicina al 1933 per la demostració que els cromosomes són portadors dels gens, és a dir, la demostració de la teoria cromosòmica de Sutton i Boveri.

Les principals aportacions de Morgan al món de la genètica van ser:

- El reconeixement de la presència dels cromosomes sexuals i de l'herència lligada al sexe.
- Va descobrir la base genètica de la determinació del sexe dels individus.
- Va demostrar que els factors hereditaris (els gens), dels quals parlava Mendel, es disposaven de forma lineal sobre els cromosomes.
- Va demostrar que els gens es troben units en diferents grups de caràcters i que els al·lels s'entrecreuen dins del mateix grup.

El 1910 Morgan va observar una mosca de la fruita mascle amb una mutació estranya, tenia els ulls blancs (el normal són els ulls vermells) i va anomenar a aquesta mutació "white".

¹⁵ Ordre d'insectes el qual pertanyen les formigues, els borinots, les abelles i les vespes, entre altres.

Aquest mascle el va encreuar per observar com s'heretava aquesta mutació al llarg de les generacions. Tota la descendència va resultar d'ulls vermells, però Morgan sabia que no podia haver desaparegut aquesta característica, així, va agafar un parell de mosques filles i les va encreuar entre si. Per sorpresa seva, va trobar que entre els descendents hi havia mosques mascles amb ulls blancs.

Per explicar l'herència del caràcter "ulls blancs", que només el tenien els mascles, va proposar l'herència lligada al sexe, és a dir, l'existència de caràcters lligats al cromosoma sexual X.

Morgan, va continuar treballant amb la mosca de la fruita. Aquest insecte només té 4 parells de cromosomes, dels quals un és molt petit. El 1911, va trobar que hi havia quatre grups de caràcters que tendien a heretar-se junts, on tres grups eren d'uns 150 caràcters i un grup de només 12 caràcters, que corresponia al cromosoma petit. Per això, Morgan va suposar que els gens estaven als cromosomes i que, per tant, els gens que són al mateix cromosoma tendeixen a heretar-se junts. Els va anomenar gens lligats.

La prova definitiva per demostrar la teoria cromosòmica de l'herència la va aportar el 1916 C. B. Bridges, alumne i posteriorment col·lega de Morgan, treballant amb la *Drosophila melanogaster*.

Experimentant amb la mosca de la fruita, van aparèixer descendents que semblaven no seguir les lleis genètiques. Bridges va proposar que eren individus que havien de tenir tres cromosomes sexuals, en lloc de dos, per un error en l'ovogènesi materna, que produïa òvuls amb dos cromosomes X. Aquesta hipòtesi va ser confirmada per l'observació microscòpica, en la qual es van trobar individus XXY i altres XO (no tenen cromosoma X). Així va quedar confirmada la hipòtesi que els gens es localitzen als cromosomes.

El 1909, el citòleg Janssens havia observat durant la meiosi uns determinats punts d'unió entre les cromàtides¹⁶ dels dos cromosomes homòlegs. Aquests punts els va anomenar quiasmes.

Morgan va interpretar els quiasmes com l'evidència que a la meiosi s'havia produït entrecreuaments (crossing-over) entre les cromàtides, és a dir, s'havia produït intercanvis de fragments entre les cromàtides i això produïa una recombinació de gens. Per tant, en els gàmetes no hi havia un dels cromosomes homòlegs sencer, sinó un cromosoma nou, constituït per fragments d'una cromàtida i de l'altra. D'aquesta manera s'explica per què en la descendència apareixen combinacions de fenotips diferents als parentals.

¹⁶ És una de les dues cadenes idèntiques de DNA que unides pel centròmer constitueixen un cromosoma.

Segons Morgan, “els gens són als cromosomes, tenen una disposició lineal, l’un darrere l’altre, i per mitjà de l’entrecruament de les cromàtides homòlogues es produeix la recombinació genètica.”¹⁷

S’anomena locus al lloc que ocupa un gen al cromosoma. Els gens al·lels ocupen un mateix locus, per tant, els cromosomes homòlegs són aquells que tenen els mateixos *loci* (plural de locus). En un locus d’un ésser haploide¹⁸ hi ha un sol gen i en un locus d’un diploide¹⁹ hi ha dos gens.

3.4. Teoria cromosòmica de l’herència

Així doncs, gràcies a l’aportació de molts científics, es pot concloure que la teoria cromosòmica de l’herència diu:

- Els factors que determinen els factors hereditaris (gens) es localitzen als cromosomes.
- Cada gen ocupa un lloc específic o locus dins d’un cromosoma concret.
- Els gens es troben col·locats linealment al llarg de cada cromosoma.
- Els gens al·lels es troben al mateix loci de la parella del cromosoma homòleg. Per tant, en els organismes diploides cada caràcter està determinat per una parella de gens al·lels.

4. Independència vs lligament

Amb el descobriment que va fer Morgan dels gens lligats, va sorgir un altre dubte: per què a vegades els gens s’hereten independentment, com demostrava Mendel, i altres junts, com havia trobat Morgan?

4.1. El lligament

El lligament és la tendència que tenen els gens d’un mateix cromosoma a heretar-se junts en lloc de fer-ho independentment. Per tant, les proporcions de la descendència varien respecte les proporcions de dihibridisme (9:3:3:1) per gens independents.

¹⁷ A. Jimeno i M. Ballesteros (2009); *Biologia 2 Batxillerat*. Grup Promotor Santillana (pàg. 98)

¹⁸ Ésser que per a cada caràcter tan sols posseeix un gen.

¹⁹ Ésser que posseeix dos gens per a cada caràcter. Aquests gens poden ser iguals o diferents.

Quan els gens estan tan junts en el cromosoma que no pot produir-se un crossing over durant la meiosi i, per això, sempre s'hereten junts, es considera que el l·ligament és complet. Es posa de manifest quan en els individus de la F_2 no apareixen fenotips recombinants si no només parentals.

No obstant, pot passar que els gens estiguin suficientment distanciats, de manera que es pugui produir el crossing over durant la meiosi i apareguin, en la F_2 , tant fenotips parentals com recombinants. En aquest cas es considera que el l·ligament és incomplet.

El que diferencia el l·ligament incomplet de l'herència independent de Mendel són les proporcions fenotípiques a la F_2 . La proporció d'individus amb fenotip parental és sempre major que d'individus amb fenotip recombinant.

4.2. L'herència independent i l'herència lligada

Anem a estudiar la diferència entre l'herència independent i l'herència lligada a partir de l'estudi de dos gens, en cada cas situats en diferents cromosomes o en el mateix cromosoma.

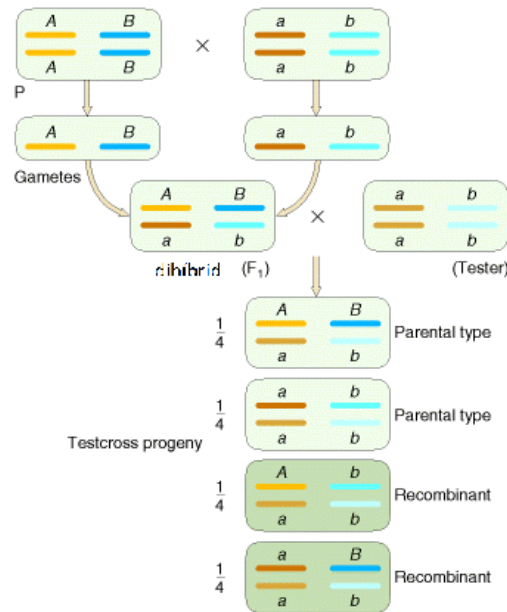
4.2.1. Herència independent

L'herència de tipus independent és l'estudiada per Mendel, en que dos caràcters van passant a la descendència de manera independent l'un de l'altre.

Encreuem dos individus homozigòtics, **AABB** i **aabb**, en els quals els gens a estudiar estan situats en cromosomes diferents. La descendència d'aquests són individus dihíbrid²⁰ **AaBb** (F_1). A continuació es fa un encreuament prova, és a dir, creuem el dihíbrid amb un recessiu, i obtenim una F_2 amb genotips: **AaBb** (tipus parental), **aabb** (tipus parental), **Aabb** (tipus recombinant) i **aaBb** (tipus recombinant), tots amb proporció $\frac{1}{4}$. Per tant la descendència té proporcions de 1:1:1:1.

Quan els gens no estan lligats, la freqüència de recombinació és 0,5 per a cada gen (gen A=0,5, gen a=0,5; gen B=0,5, gen b=0,5) i del 0,25 per als dos (gen AB=0,25, gen Ab=0,25; gen aB=0,25, gen ab=0,25). És a dir, hi ha una probabilitat de $\frac{1}{4}$ de formar cada un dels quatre tipus de gàmetes i com que es tracta d'un encreuament prova, els fenotips que apareixen reflexen els genotips dels gàmetes de l'individu heterozigot.

²⁰ Són els individus heterozigots en dos parells de gens. Per exemple: **GgLI**

Imatge: encreuaments exemple de l'herència independent²¹

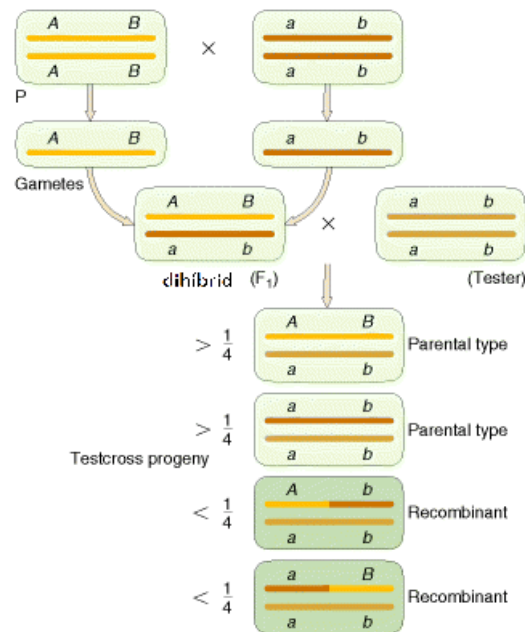
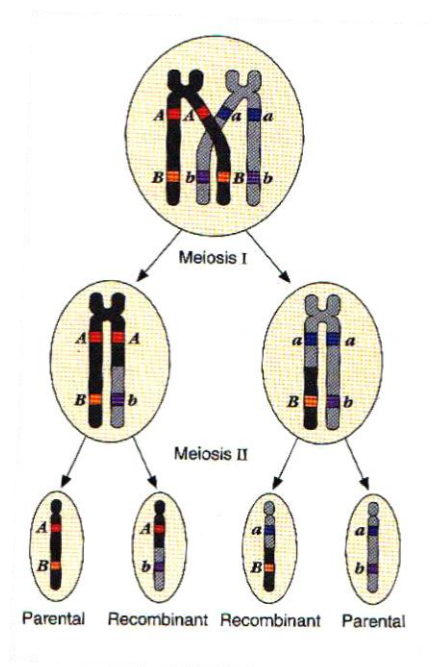
4.2.2. Herència lligada

L'herència de tipus lligat és la que va trobar Morgan.

Encreuem dos individus homocigòtics **AB/AB** i **ab/ab**, on els gens a estudiar estan situats en el mateix cromosoma. En el cas de gens que presentin un lligament incomplet, la descendència d'aquests a la F₁ són individus dihíbrids **AB/ab** (F₁). Si a continuació es fa un encreuament prova, és a dir, creuem el dihíbrid amb un recessiu, obtenim una F₂ amb genotips : **AB/ab** (tipus parental), **ab/ab** (tipus parental), **Ab/ab** (tipus recombinant) i **aB/ab** (tipus recombinant), amb proporcions $> \frac{1}{4}$, $> \frac{1}{4}$, $< \frac{1}{4}$ i $< \frac{1}{4}$ respectivament. Per tant la descendència té proporcions de $>1: >1: <1: <1$.

Quan els gens estan lligats, la freqüència de recombinació dels tipus recombinants és inferior a 0,5 o 50%.

²¹ http://www.genetica.fmed.edu.uy/teo_basico/T8%20LIGAMIENTO.pdf

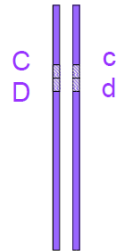
Imatge: encreuament exemple de l'herència lligada²²Imatge: meiosi en dos gens
d'un mateix cromosoma²³

En l'herència lligada incompleta, l'existència de descendència de tipus recombinant s'explica mitjançant la meiosi. En la meiosi es donen els quiasmes, que provoquen els entrecruament (crossing over) entre els cromosomes homòlegs. D'aquesta manera un cromosoma amb dos gens situats a una distància suficient perquè es produeixi un entrecruament, pot donar gàmetes recombinants, és a dir, amb la combinació dels gens diferent a la inicial. A l'obtenir-se gàmetes recombinants, quan es fa l'encreuament prova dona els descendents de tipus recombinant.

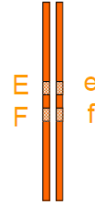
²² http://www.genetica.fmed.edu.uy/teo_basico/T8%20LIGAMIENTO.pdf

²³ http://www.genetica.fmed.edu.uy/teo_basico/T8%20LIGAMIENTO.pdf

Per aquest motiu, en una herència lligada completa, tots els descendents serien de tipus parental, ja que no es pot produir l'entrecruament dels cromosomes homòlegs i, per tant, no es produeixen gàmetes recombinants.



Cas 1



Cas 2

Cas 1: herència lligada completa					
Gàmetes	CD	Cd	cD	cd	
Prop.	½	-	-	½	2 gàmetes ≠
Cas 2: herència lligada incompleta					
Gàmetes	EF	Ef	eF	ef	
Prop.	> ¼	< ¼	< ¼	> ¼	4 gàmetes ≠

Gàmetes parentals

Gàmetes recombinants

4.3. Independència vs lligament

Les principals diferències entre l'herència independent i l'herència lligada són:

	Herència independent	Herència lligada
Proporcions	1:1:1:1	>1:>1:<1:<1
Freqüència recombinació dels tipus recombinants	0,5 o 50%	< 0,5 o < 50%

5. Els mapes genètics

Morgan va analitzar els encreuaments amb diferents gens lligats i va observar que la proporció de descendents recombinants variava segons el tipus de parelles gèniques que estudiés. Per tant, el nombre d'entrecreuaments entre parelles de gens no era constant i no existia cap raó per la qual els entrecreuaments entre diferents gens lligats havien d'aparèixer amb la mateixa freqüència, per tant va pensar que aquesta variació en la freqüència reflectia la distància real entre gens dins el cromosoma.

L'alumne de Morgan, Sturtevant, va suggerir que la proporció de recombinants de la F₂ d'un creuament prova podia utilitzar-se com indicador quantitatiu de la distància entre dos gens i després poder-la reflectir en un mapa genètics o mapa de lligament. Efectivament, com que els entrecreuaments succeeixen a l'atzar, amb més distància entre dos gens lligats major serà la probabilitat que apareguin entrecreuaments en la regió situada entre els dos, i amb menys distància entre els gens menor serà la probabilitat de l'entrecreuament. Per tant, mitjançant la mesura de la freqüència de recombinants es pot obtenir una mesura de la distància de mapa que hi ha entre les parelles genètiques implicades. El mapa genètic, doncs, permet ubicar i ordenar els gens en el cromosoma.

$$\% \text{ Freqüència de recombinació (FR)} = \frac{n^{\circ} \text{ de recombinants}}{n^{\circ} \text{ total}} \times 100$$

La freqüència de recombinació sempre varia entre 0 i el 50%. Si la FR és del 50%, es tracta de gens no lligats, i si la FR és < 50%, es tracta de gens lligats.

Per mesurar la distància entre gens als mapes genètics s'utilitza el centimorgan (cM) o unitat de mapa (u.m.). Una unitat de mapa (1 u.m) és la distància entre dos loci que dóna lloc a un episodi de recombinació de cada 100, o sigui, que equival a l'1% de recombinació.

6. *Drosophila Melanogaster*

Drosophila melanogaster (literalment “amant de la rosada de ventre negre”) també anomenada mosca del vinagre o mosca de la fruita. Rep aquest nom per la seva alimentació de fruites en procés de fermentació com pomes, plàtans, raïm... És un insecte petit, d'uns 2mm, dípter (dues ales), amb cos de color groguenc i ulls vermells. És una espècie utilitzada freqüentment en experimentació genètica, perquè posseeix un reduït nombre de cromosomes (4 parells), un breu cicle de vida (15-21 dies), s'obté un gran nombre de descendents i aproximadament el 61% dels gens de les malalties humanes que es coneixen tenen una contrapartida identificable en el genoma²⁴ de les mosques de la fruita i el 50% de les seqüències proteïques de la mosca tenen analogia en els mamífers.²⁵

6.1. Fitxa sistemàtica

Tipus: Artròpodes

Classe: Insectes

Grup: Oligoneòpters

Ordre: Dípters

Subordre: Braquícers

Família: Drosofilids

Gènere: *Drosophila*

Espècie: *melanogaster*

Els artròpodes constitueixen el grup més nombrós i divers del regne animal. Són invertebrats dotats d'un exosquelet, un cos segmentat i extremitats articulades anomenades apèndixs.

Els insectes són la classe predominant dels artròpodes. El seu cos està format per tres regions principals: cap, tòrax i abdomen, recobertes per un exoesquelet quitinós.

Els oligoneòpters són un grup que reuneix onze ordres d'insectes de metamorfosi complicada²⁶, els més evolucionats i alhora els més abundants i coneguts.

Els dípters (del grec *di*, “dos”, i *pteron*, “ales”) són l'ordre d'insectes caracteritzats perquè posseeixen només dues ales membranoses i no quatre com la resta d'insectes. Les ales posteriors s'han reduït i són utilitzades per controlar la direcció durant el vol.

²⁴ Genoma: és la totalitat de la informació genètica que posseeix un organisme en particular i que codifica per a ell. Normalment ens referim sols a l'DNA del nucli.

²⁵ Reiter et al. (2001). Genome Research, 11 (6): 1114-25

²⁶ Metamorfosi complicada: procés complex que consisteix en que de l'ou neix una larva que és molt diferent a l'adult, passa per diverses mudes i entra en l'estadi de pupa al completar el seu creixement.

Els braquícers són un dels subordres clàssics de dípters. La seva característica més destacable és la reducció de les antenes. Els dípters que pertanyen a aquest subordre presenten aspecte de mosca.

Els drosofilids són una família d'insectes dípters. Són mosques groguenques i diminutes on la totalitat de la família mostra predilecció per materials en fermentació.

La drosophila és un gènere de mosques petites, que pertany a la família Drosophilidae. Fins ara s'han descrit unes 1450 espècies amb molta diversitat en quant a aparença, comportament i hàbits d'aparellament.²⁷

Melanogaster és una espècie de drosophila.

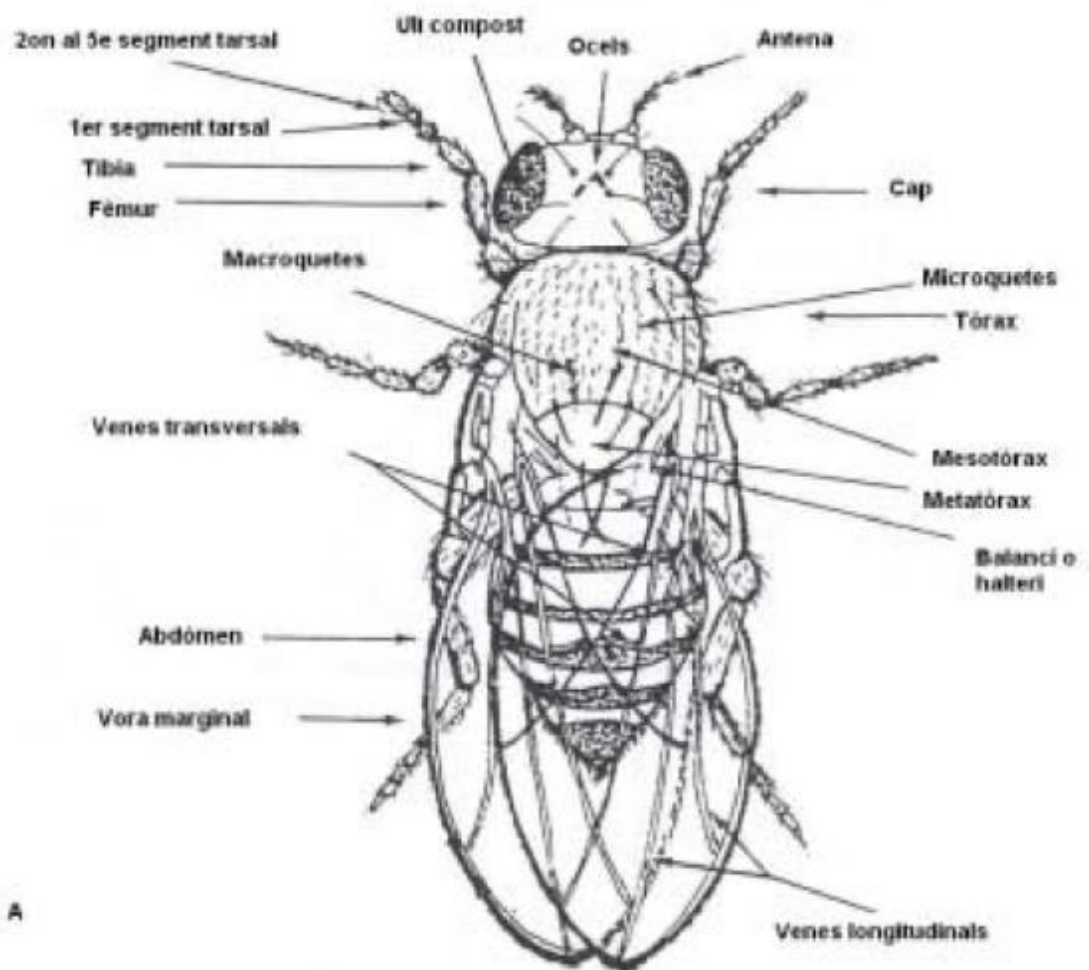
Una altre espècie utilitzada conjuntament amb la *D. melanogaster* és la *D. suboscuro*, totes dues molt emprades per a la recerca científica a causa de la grandària de les seves cèl·lules.

6.2. Morfologia

La *D. melanogaster* és normalment de color groguenc marronós i mesura 2mm. La seva forma és la de qualsevol espècie de l'ordre Dípter: cap arrodonit amb ulls grans i vermells, tres ulls petits simples i una antena curta. La seva boca s'ha desenvolupat per absorbir líquids. A la cara dorsal de l'abdomen tenen ratlles negres, que poden ser utilitzades per determinar el sexe de l'individu; els mascles tenen una taca de pigmentació negra al final de l'abdomen. Les femelles són lleugerament més grans que els mascles.

Com altres mosques, *D. melanogaster* té un parell de ales localitzades al segment del mig del tòrax. En l'últim segment del tòrax, on altres insectes tenen un segon parell d'ales, desenvolupen un conjunt d'ales rudimentàries que actuen com òrgans balancins, anomenats halteris.

²⁷ Markow, T. A. and P. M. O'Grady (2006). *Drosophila: A guide to species identification and use*. London, UK, Elsevier Inc.



Imatge: morfologia *D. melanogaster*²⁸

6.3. Cicle vital

El cicle vital de la *D. melanogaster* sofreix una metamorfosis complicada²⁹ pel qual passa per les fases de ou, larva, pupa i, finalment, insecte adult.

El cicle vital de la drosòfila serà més llarg o més curt depenent en gran mesura de la temperatura. Per exemple a 25°C el cicle dura uns 10 dies³⁰ o a 29°C pot arribar a viure 30 dies i d'ou a adult 7 dies³¹ i a la temperatura de 23°C, els primers adults apareixen en 10 dies.

²⁸ http://phobos.xtec.cat/cdec/images/stories/WEB_antiga/recursos/pdf/cambracia/drosophila.pdf

²⁹ Mirar peu de pàgina 26 a la pàg. 19

³⁰ Segons Strickberger, M. W.

³¹ Ashburner M, Thompson JN (1978). *The laboratory cultura of Drosophila*. En: *The genetics and biology of Drosophila*. (Ashburner M, Wright TRF (eds.)). Academic Press. Volume 2A: pp. 1-81.

Ou:

Els ous són postos sobre el medi de cultiu en grups. Les dues banyetes primes que sobresurten de l'ou actuen com a "flotadors" per evitar que l'ou es submergeixi en un medi líquid.

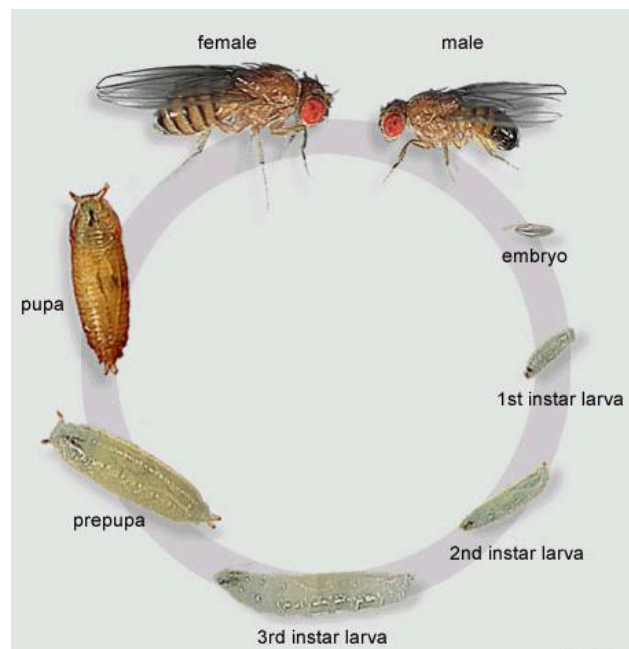
Larves:

Fan galeries al medi de cultiu del qual s'alimenten. La larva va creixent i ha de mudar ja que la pell externa no s'estira. En el desenvolupament de les drosòfiles hi ha tres mudes. El període entre mudes s'anomena fase limfal.

Les larves es poden observar gràcies al seu moviment per dins del medi, ja que es veu l'estructura bucal que és negra. Això moltes vegades es confon amb un parell d'ulls. També es poden observar quan pugen pel paper en ziga-zaga que hi ha dins del flascó.

Pupes:

Quan les pupes ja estan completament formades, en el seu interior es destrueixen els teixits de la larva i, a partir d'algun d'ells, es formaran els nous òrgans i teixits de l'adult. Les pupes resten enganxades en el paper en ziga-zaga o paret del flascó de cultiu fins que passat el temps necessari surti l'adult.



Imatge: cicle vital *Drosophila melanogaster*³²

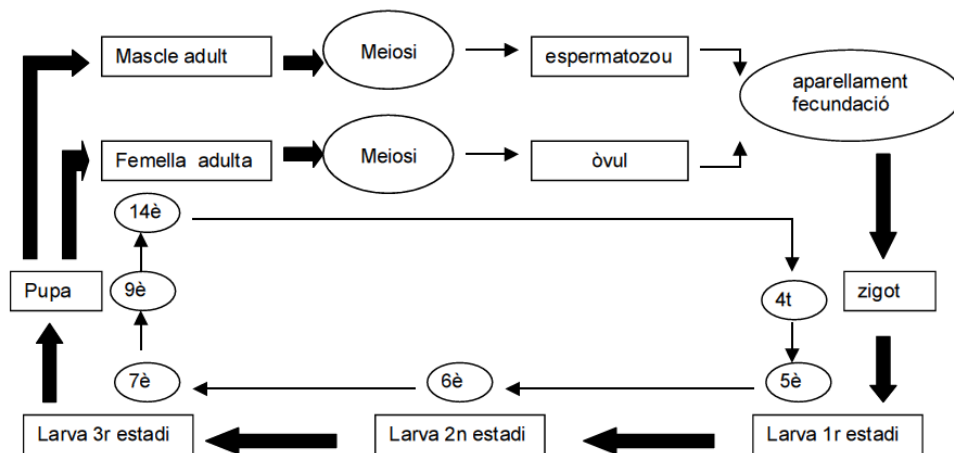
³² http://html.rincondelvago.com/drosophila-melanogaster_5.html

Guia de desenvolupament de *Drosophila melanogaster* a **25°C** (segons Strickberger, M.W.).

HORES	DIES	FASE
0	0	Posta d'ous.
0-22	0-1	Embrió.
22	1	Sortida d'ous (primera fase larvària).
47	2	Primera muda (segona fase larvària)
70	3	Segona muda (tercera fase larvària)
118	5	Formació del pupari.
122	5	Muda "prepupal".
130	5 i mig	Pupa: eversió ³³ del cap, les ales i les potes.
167	7	Pigmentació dels ulls de la pupa.
214	9-10	Els adults surten del pupari
215	9-10	Ales desplegadas de mida normal.

Temps aproximat de desenvolupament de *Drosophila melanogaster* a **23°C** (segons el C.D.E.C.T.)

HORES	DIES	FASE
0	0	Posta d'ous.
48	2	Larves petites, visibles amb dificultat.
96	4	Larves mitjanes, ja ben visibles.
168	7	Larves molt grosses i potser alguna pupa.
182	8	Diverses pupes enganxades al paper.
240	10	Ja apareix algun adult.



Imatge: Representació gràfica cicle vital³⁴

³³ Eversió: acció de girar alguna cosa de manera que la seva superfície interior passi a ésser l'exterior.

³⁴ http://phobos.xtec.cat/cdec/images/stories/WEB_antiga/recursos/pdf/cambracia/drosophila.pdf

Cos pràctic

7. Investigació pràctica

7.1. Metodologia

L'objectiu d'aquesta recerca és esbrinar quin patró d'herència segueixen els mutants³⁵ de *Drosophila melanogaster* facilitats pel Dr. Francesc Mestres. En aquest cas, tenim un doble mutant: *ebony (e)* i *sense ulls (su)*. Els individus amb mutació *ebony* presenten el cos i les ales de color negre, i els individus amb mutació *sense ulls* presenten els ulls molt atrofiats o, fins i tot no en tenen.

La recerca s'ha dut a terme mitjançant la realització d'encreuaments entre les drosòfiles mutants i les salvatges³⁶, l'observació dels resultats obtinguts i, finalment, comparant els resultats amb els diferents tipus d'herència descrites en el cos teòric.

La realització del treball ha partit d'una hipòtesi inicial: **L'herència dels caràcters *ebony* i *sense ulls* és un cas de dihibridisme per segregació independent dels caràcters.**

Un cop definida l'hipòtesi, s'ha prosseguit amb els encreuaments. El primer encreuament ha estat entre una femella *salvatge* i un mascle *ebony sense ulls*. L'encreuament de la descendència de la F₁ ha estat amb un mascle *ebony sense ulls*, és a dir, he fet un encreuament prova per així poder determinar fàcilment quins serien els genotips de la F₂ (els genotips i els fenotips en un encreuament prova coincideixen).

Un cop realitzats els encreuaments i recollit els resultats, he comprovat si la hipòtesi inicial era vàlida o no.

³⁵ Que presenten variacions en el DNA i provoca un canvi en el fenotip.

³⁶ Terminologia emprada per referir-se a les drosòfiles sense mutació, és a dir, les descrites al cos teòric.

7.1.1. Material utilitzat

- 2 flascons amb *Drosophila melanogaster*: un amb normals i l'altre amb els dobles mutants (*ebony i sense ulls*)
- 10 flascons (per 4 rèpliques i l'eteritzador)
- Èter
- Alcohol
- Pinces
- Taps de cotó fluix, gasa i fil per lligar-los
- Paperines i papers en ziga-zaga
- Pinzell fi
- Estufa
- Termòmetre
- Medi de cultiu³⁷



Imatge: material³⁸

7.1.2. Manipulació de les mosques

Per passar mosques d'una soca pura d'un flascó a un altre, n'hi ha prou a encarar dos flascons del mateix diàmetre de boca i, d'un cop sec, però no massa fort, fer caure les mosques d'un flascó a l'altre.

Però si s'ha de posar mosques eteritzades en un flascó, cal posar-les primer en una paperina i, dins d'aquesta, posar-les al flascó; així no hi ha perill que quedin enganxades al medi de cultiu.

Per manipular mosques eteritzades convé fer servir un pinzell fi.

7.1.3. Tècniques d'eterització

Hi ha dues maneres d'eteritzar les mosques d'un flascó: la tècnica del tap de cotó fluix i la tècnica de l'eteritzador. Faré la descripció de la primera ja que és la utilitzada en aquesta investigació.

- Tècnica del tap de cotó fluix.

Tenim les drosòfiles al seu flascó, que en aquest cas porta un tap d'escuma de la mida de la boca. Per tal d'anestesiari-les, construïm un nou tap amb una bola de cotó fluix que emboliquem en una gasa. Cargolem els quatre extrems i els lliguem amb un fil de manera que puguem agafar aquest nou tap amb facilitat.

³⁷ Mirar annexes, Document 4: recepta medi de cultiu.

³⁸ Fotografies realitzades al laboratori de l'institut del material real utilitzat.

Seguidament saturem amb èter el cotó i tapem una ampolla buida. Donem uns quants cops a la base del flascó on hi ha les mosques (és preferible picar sobre una superfície tova que no pugui trencar el vidre, per exemple sobre suro), de manera que aquestes caiguin al fons.

Destapem l'ampolla de les mosques i la de l'èter, molt ràpidament, invertim la de les drosòfiles sobre la de l'anestèsia, procurant que les boques coincideixin perfectament perquè no se'ns escapi cap mosca.

Colpegem el flascó de les mosques fins que totes hagin caigut al de l'anestèsia. No és aconsellable picar massa fort, ja que es podria desprendre el medi de cultiu i caure al damunt de les mosques, les quals hi quedarien enganxades.

Separarem les ampolles i les tapem immediatament.

Les mosques acostumen a adormir-se de seguida i, per tant, no convé tenir el tap amb èter massa estona ja que poden morir.

Una vegada estiguin totes anestesiades, podem treure-les del flascó i manipular-les com sigui necessari, segons l'experiment que vulguem fer.

7.1.4. Observació i separació de mosques

Per fer encreuaments amb les drosòfiles, convé tenir una organització acurada del treball. En primer lloc, cal que tot el que s'utilitzi en el maneig de les mosques estigui ben net per tal d'evitar contaminacions.

Per comptar-les, el més pràctic és col·locar les mosques anestesiades al damunt d'un paper blanc, i amb el pinzell les separem segons les característiques que ens interessin, per exemple, mascles i femelles, ales vestigials i ales normals, etc.

Podem dibuixar una línia recta al paper i posar les d'un tipus a un costat i les de l'altre al costat oposat. Ara ja les podem comptar amb facilitat.

És possible que en el transcurs d'aquestes operacions se'ns desperti alguna mosca. Per això és recomanable tenir preparat un eteritzador d'emergència, que pot consistir simplement en una càpsula de Petri amb un tros de cotó fluix enganxat i mullat amb èter. Aquesta càpsula la posarem damunt les mosques que s'estiguin despertant, fins que tornin a quedar immòbils.

Les drosòfiles resten eteritzades generalment uns 7 minuts.

7.1.5. Identificació de sexes

Pel que fa a la identificació dels sexes, els criteris diferencials són:

Fase larvària:

Els testicles dels mascles són molt més grans que els ovaris de les femelles. És fàcil d'observar aquesta diferència al tercer estadi larval per transparència al binocular.

Fase de pupa:

A través de la coberta de la pupa, que és transparent, es pot veure la presència de les pintes sexuals només en els mascles, una a cada primer parell de potes.

Les pintes sexuals són unes parts de la pota dels mascles amb una coloració a ratlles fosques alternades amb bandes més clares.

Per fer un bon diagnòstic cal utilitzar pupes madures (pigmentades) observades per la cara ventral.

Fase d'ímago:

Les diferències entre mascles i femelles adults són diverses:

· Pigmentació de l'abdomen: la femella el té pigmentat de manera discontinua, formant uns anells foscos que es van alternant amb les bandes clares. El mascle el té amb una taca fosca als últims segments i la pigmentació fosca d'aquest és més contínua que no el de les femelles.

· Forma de l'abdomen: les femelles tenen la part final de l'abdomen d'una forma més punxeguda que els mascles, els quals el tenen més arrodonit.

A part la femella té l'abdomen notablement més gran que el del mascle.

· Arcs genitals: només són presents en els mascles i només visibles per la cara ventral.

7.1.6 Obtenció de femelles verges

En primer lloc, per portar millor el control en aquest procés cal tenir en compte una sèrie de d'aspectes:

- a) Una temperatura d'uns 17°C farà més lent el desenvolupament. Cap als 25°C s'accelera i cap als 30°C es provoca l'esterilitat.
- b) Al començament neixen més pupes femenines que masculines: com a norma general, les femelles tenen un desenvolupament més ràpid que els mascles.
- c) Les mosques joves són més allargades, poc pigmentades (quasi blanques) i amb les ales plegades. Les adultes són més robustes, pigmentades i amb les ales normals.
- d) Per confirmar si són mascles o femelles cal observar les pintes sexuals o bé la coloració dels arcs genitals, totes dues coses es donen als mascles, però no a les femelles.

Procediment

Aproximadament cap a les 8 hores d'haver nascut, les femelles són ja fèrtils. Per tant, si volem obtenir verges caldrà que les separem dels mascles abans d'aquest temps, o com a molt al cap de 9-10 hores. Si estem treballant a l'escola, un procediment adequat és el següent:

Quan arribem a les 8 h del matí, separem els adults. A l'hora de dinar fem una altra recollida d'adults, i cap a les 17h, abans de marxar, separem les femelles dels mascles, amb la certesa que encara són verges.

El procediment cal repetir-lo durant alguns dies, o bé, si és convenient, fins que tot el cultiu hagi nascut.

3. Un cop rebutjada la hipòtesi inicial d'herència independent, mirarem d'esbrinar si es tracta d'una herència lligada al sexe. Si es tractes d'aquest tipus de patró d'herència, els genotips hipotètics serien:

$$\begin{array}{l}
 \text{P: } \quad \text{♀ } \frac{++}{++} \quad \times \quad \text{♂ } \frac{esu}{--} \\
 \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \downarrow \\
 \text{F}_1: \quad \quad \text{♀ } \frac{++}{esu} \quad \times \quad \text{♂ } \frac{esu}{--} \\
 \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \downarrow \\
 \text{F}_2: \quad \text{♀ } \frac{1}{4} \text{ salvatge } \frac{++}{esu} \quad \quad \quad \text{♂ } \frac{1}{4} \text{ salvatge } \frac{++}{--} \\
 \quad \quad \quad \frac{1}{4} \text{ ebony } \frac{e+}{esu} \quad \quad \quad \frac{1}{4} \text{ ebony } \frac{e+}{--} \\
 \quad \quad \quad \frac{1}{4} \text{ sense ulls } \frac{+su}{esu} \quad \quad \quad \frac{1}{4} \text{ sense ulls } \frac{+su}{--} \\
 \quad \quad \quad \frac{1}{4} \text{ ebony } \frac{esu}{esu} \quad \quad \quad \frac{1}{4} \text{ ebony } \frac{esu}{--} \\
 \quad \quad \quad \text{sense ulls} \quad \quad \quad \text{sense ulls}
 \end{array}$$

Observem que tant els fenotips com els genotips i les proporcions esperades de tots dos, tant per les femelles com pels mascles, són iguals entre ells. Però, fent el encreuament recíproc, és a dir, creuant una femella doble mutant i un mascle salvatge a la F₁ no sortiria la uniformitat de la primera generació filial que surt, sinó que sortiria un 50 % de femelles salvatges i un 50 % de mascles doble mutants. Aquest encreuament ens permetria discernir si el nostre patró d'herència segueix una herència lligada al sexe. Per tant, es descarta l'herència lligada al sexe.

Els genotips del creuament recíproc serien:

$$\begin{array}{l}
 \text{P: } \quad \text{♀ } \frac{esu}{esu} \quad \times \quad \text{♂ } \frac{++}{--} \\
 \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \downarrow \\
 \text{F}_1: \quad \quad \text{♀ } \frac{++}{esu} \quad \text{♂ } \frac{esu}{--} \quad \leftarrow \text{ mascle recessiu!!}
 \end{array}$$

Malauradament, en el nostre laboratori costava molt obtenir femelles doble mutants verges per una qüestió de capacitat reproductiva d'aquestes i de condicions de treball de laboratori, per la qual cosa no es va poder efectuar aquest encreuament recíproc. No obstant això, la meua tutora em va informar que *ebony* era una mutació que es trobava al cromosoma III de *Drosophila*.

4. Un cop rebutjada també l'herència lligada al sexe, comprovem si es tracta d'una herència lligada incompleta. La herència lligada completa la descartem directament ja que tenim descendència recombinant (*ebony* amb *ulls normals* i *sense ulls* amb *cos normal*). Si es tractés d'aquest tipus d'herència, els genotips hipotètics serien:

$$\begin{array}{l}
 \text{P:} \quad \text{♀ } \frac{++}{++} \quad \times \quad \text{♂ } \frac{esu}{esu} \\
 \quad \quad \quad \quad \quad \quad \downarrow \\
 \text{F}_1: \quad \quad \quad \text{♀ } \frac{++}{esu} \quad \times \quad \text{♂ } \frac{esu}{esu} \\
 \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \downarrow \\
 \text{F}_2: \quad \text{(combinacions parentals)} \qquad \qquad \text{(combinacions recombinants)} \\
 \quad > \frac{1}{4} \text{ salvatges } \frac{++}{esu} \qquad \qquad < \frac{1}{4} \text{ ebony } \frac{e+}{esu} \\
 \quad > \frac{1}{4} \text{ ebony sense ulls } \frac{esu}{esu} \qquad \qquad < \frac{1}{4} \text{ sense ulls } \frac{+su}{esu}
 \end{array}$$

Resultats:

Fenotips trobats a F ₂	Fenotips observats	Fenotips esperats
Salvatge	64	>(¼ x 141) >35'25
Ebony	21	<(¼ x 141) <35'25
Sense ulls	19	<(¼ x 141) <35'25
Ebony sense ulls	37	>(¼ x 141) >35,25

Les proporcions observades i esperades concorden, per tant es tracta d'una herència lligada incompleta.

6. Com es pot observar en la taula de resultats, hi ha més individus salvatges que recessius (*ebony sense ulls*). Això és perquè el caràcter *ebony* i el caràcter *sense ulls* afecta en la viabilitat de l'espècie i fa que no sigui tant viable, per tant hi ha menys descendència que aconsegueix sobreviure.

5. Un cop sabem quin tipus d'herència presenten aquests caràcters estudiats, com que es tracta d'una herència lligada incompleta, anem a situar els gens responsables d'aquests caràcters en el cromosoma autosòmic adient.

Per poder situar-los hem de buscar en quin cromosoma està situat un d'ells. En aquest cas, el gen pel caràcter ebony és un gen marcador (està estudiat on està situat). Es troba en el cromosoma III de la *D. melanogaster* a 70'7 cM.

Calculant la freqüència de recombinació podrem determinar a quina distància de *ebony* està situat el gen pel caràcter *sense ulls*.

$$\% \text{ FR} = \frac{n^{\circ} \text{ de recombinants}}{n^{\circ} \text{ total}} \times 100$$

$$\% \text{ FR} = \frac{(21+19)}{141} \times 100 = 28'37\%$$

La freqüència de recombinació ens informa que la distància genètica entre aquestes dues mutacions és de 28,37 cM. Però no podem determinar si es cap al centròmer (cap a munt) o cap a l'extrem cromosòmic (cap a vall). Per poder-ho saber caldria fer un estudi anomenat mapa de tres punts, on s'estudien tres gens. Per tant, no sabem si *sense ulls* queda a 28,37% abans d'*ebony* o després d'*ebony*.

8. Conclusions

- El doble mutant *ebony sense ulls* és un caràcter recessiu ja que en la primera generació filial (F_1) tots els descendents són salvatges.
- En l'encreuament parental es compleix la primera llei de Mendel: *Llei de la uniformitat de la primera generació filial*. Tots els descendents de la F_1 són iguals entre ells (salvatges) i iguals a un dels progenitors, això ens permetia induir que potser estàvem davant un tipus d'herència de caràcters independents.
- Els caràcters estudiats no segueixen una herència independent ja que els resultats esperats no coincideixen amb els observats, és a dir, no surt la proporció 1:1:1:1. El rebuig d'aquest patró d'herència es confirma amb el resultat de la χ^2 .

Al no ser una herència independent, s'observa que l'encreuament no compleix la tercera llei de Mendel: *Llei de la independència dels caràcters*.

- Es tracta d'una herència lligada incompleta, ja que les proporcions esperades $>1:<1:<1:>1$, són les observades.

És incompleta perquè a la F_2 hi ha individus de tipus recombinants, per tant significa que hi ha hagut recombinació genètica en la formació dels gàmetes (meiosi). Si fos completa, en la F_2 només apareixerien individus de tipus parental.

- L'al·lel *ebony* es troba al cromosoma III a 70'7 cM, comprovat al mapa genètic. Mitjançant la freqüència de recombinació, trobem que l'al·lel *sense ulls* està situat a una distància de l'*ebony* de 28,37 cM, però no podem determinar si es troba a 28,37 cM per sobre o per sota de l'*ebony*.

Per poder saber exactament la posició de l'al·lel *sense ulls* hauríem de fer un estudi de tres gens, anomenat mapa de tres punts.

9. Bibliografia i webgrafia

Bibliografia

A. Jimeno i M. Ballesteros (2009); *Biologia 2 Batxillerat*. Grup Promotor Santillana

Webgrafia

<http://es.wikipedia.org> [16.12.12]

<http://www.encyclopedia.cat> [03.09.12]

<http://bioicosta.blogia.com/2008/030301-biografia-de-johann-gregor-mendel.php>
[31.08.12]

http://www.uab.cat/Document/FM_Mendel.pdf [31.08.12]

<http://www.xtec.cat/~jllort1/biologseuropa/mendel.htm> [01.09.12]

http://phobos.xtec.cat/cdec/images/stories/WEB_antiga/recursos/pdf/cambracia/drosophila.pdf [04.09.12]

<http://ca.wikipedia.org> [04.09.12]

<http://www.eeif.es/significados/d/drosofilids.html> [04.09.12]

<http://www.diccionari.cat> [04.09.12]

http://usuarios.multimania.es/drosophila/Drosophila_melanogaster2.htm [12.09.12]

<http://www.collinsdictionary.com> [13.09.12]

http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Drosophila_melanogaster.html [13.09.12]

http://recursos.cnice.mec.es/biologia/bachillerato/segundo/biologia/vd05/02_05_04_02_02.html [16.12.12]

http://www.transtechsociety.org/docs/books/Benavides_Guenet_2003/06-GENETICA.pdf [22.12.12]

<http://www.preparadores.eu/temamuestra/Secundaria/ByG.pdf> [27.12.12]

http://cmapspublic3.ihmc.us/rid=1GPKSCJZ1_J03PB5_N8S/GENETICAMENDELIANA_MELI.pdf [27.12.12]

[http://www.google.es/imgres?um=1&hl=es&tbo=d&biw=1280&bih=623&tbm=isch&bnid=SpSJ0qMF28G6gM:&imgrefurl=http://bio3400.nicerweb.com/Locked/src/class10.html&docid=7lhE3Z1nZVIRaM&imgurl=http://bio3400.nicerweb.com/Locked/media/ch05/05_14-](http://www.google.es/imgres?um=1&hl=es&tbo=d&biw=1280&bih=623&tbm=isch&bnid=SpSJ0qMF28G6gM:&imgrefurl=http://bio3400.nicerweb.com/Locked/src/class10.html&docid=7lhE3Z1nZVIRaM&imgurl=http://bio3400.nicerweb.com/Locked/media/ch05/05_14-Drosophila_map.jpg&w=1116&h=1080&ei=uDfrUP_aJMKDhQekoICYBQ&zoom=1&iact=rc&dur=291&sig=101857446173262482707&page=2&tbnh=143&tbnw=147&start=21&ndsp=27&ved=1t:429,r:26,s:0,i:168&tx=69&ty=82)

[Drosophila_map.jpg&w=1116&h=1080&ei=uDfrUP_aJMKDhQekoICYBQ&zoom=1&iact=rc&dur=291&sig=101857446173262482707&page=2&tbnh=143&tbnw=147&start=21&ndsp=27&ved=1t:429,r:26,s:0,i:168&tx=69&ty=82](http://www.google.es/imgres?um=1&hl=es&tbo=d&biw=1280&bih=623&tbm=isch&bnid=SpSJ0qMF28G6gM:&imgrefurl=http://bio3400.nicerweb.com/Locked/src/class10.html&docid=7lhE3Z1nZVIRaM&imgurl=http://bio3400.nicerweb.com/Locked/media/ch05/05_14-Drosophila_map.jpg&w=1116&h=1080&ei=uDfrUP_aJMKDhQekoICYBQ&zoom=1&iact=rc&dur=291&sig=101857446173262482707&page=2&tbnh=143&tbnw=147&start=21&ndsp=27&ved=1t:429,r:26,s:0,i:168&tx=69&ty=82) [07.01.13]

http://www.genetica.fmed.edu.uy/teo_basico/T8%20LIGAMIENTO.pdf [7.01.13]

<http://cristina92sm.wordpress.com/2011/05/15/ejercicio-del-seminario-nueve-chi-cuadrado/> [10.01.13]

<http://www.itch.edu.mx/academic/industrial/estadistica1/cap04b.html> [10.01.13]

http://html.rincondelvago.com/drosophila-melanogaster_5.html [12.01.13]

http://biologia-lacienciadelavida.blogspot.com.es/2010_10_01_archive.html
[08.01.13]

http://biologia4a-albertoyjuanjo.blogspot.com.es/2009_12_01_archive.html
[27.12.12]

http://Cmapspublic3.ihmc.us/rid=1GPKSCJZ1_J03PB5_N8S/GENETICAMENDELIANA_MELI.pdf [27.12.12]

<http://www.monografias.com/trabajos57/gregor-johann-mendel/gregor-johann-mendel2.shtml> [27.12.12]

10. Annexes

Document 1: Diari de laboratori

- 8 Octubre: Preparació del medi de cultiu
- 9 Octubre: Preparació paperines, taps...
- 10 Octubre: M'emporto les mosques a casa. Per la nit surten unes poques (++).
- 11 Octubre: Separo verges.
- 12,13,14 Octubre: Mosques a casa. Surten (*esu*). Segueixo separant verges.
- 15 Octubre: S'ha colat un mascle entre les verges. No serveix.
Creació de parentals (++) (*esu*)
- 18 Octubre: Hi ha larves al nou parental (++) . Eliminació de pares.
- 22 Octubre: Larves al parental (*esu*). Eliminació de pares.
Preparació del medi de cultiu, paperines, taps...
- 23 Octubre: Medi de cultiu a la nevera (ha d'estar 24 hores)
Primeres mosques (++) . Eliminades perquè no hi ha flascons preparats.
- 24 Octubre: · Flascons nous preparats.
· (*esu*) estan en pupes.
· Obtenció de femelles verges (++)
· Encreuaments fets amb femelles (++) i mascles (*esu*) (obtinguts dels flascons anteriors). Fetes 4 mostres.
- 31 Octubre: · Primeres larves/pupes (segons la mostra)
· Eliminació de mosques pares.
· En la mostra 3 s'ha colat un mascle (++) . No serveix.
- 6 Novembre: Primeres mosques F₁. Obtenció de verges.
- 7 Novembre: Obtenció de verges.
Preparació del medi de cultiu.
- 8 Novembre: Flascons, amb el medi de cultiu, a la nevera.
- 9 Novembre: · Flascons preparats.
· Obtenció de verges.
· Creuament femella F₁ amb mascle (*esu*). Fetes 4 mostres.

16 Novembre: · Eliminació mosques pares.
· Mostra 4 no serveix. S'ha colat un mascle (++)

20 Novembre: Primeres mosques F₂. Recompte de fenotips.

	(esu)	(e+)	(+su)	(++)
Mostra 1	3	3	4	11
Mostra 3	2	-	-	1

21 Novembre:

	(esu)	(e+)	(+su)	(++)
Mostra 1	3	1	1	2
Mostra 2	-	1	1	4

22 Novembre:

	(esu)	(e+)	(+su)	(++)
Mostra 1	-	1	2	1
Mostra 2	-	-	-	4
Mostra 3	1	-	-	-

23 Novembre:

	(esu)	(e+)	(+su)	(++)
Mostra 1	2	3	-	2
Mostra 2	6	6	3	11
Mostra 3	2	1	2	2

25 Novembre:

	(esu)	(e+)	(+su)	(++)
Mostra 1	1	1	1	3
Mostra 2	10	2	2	3
Mostra 3	-	-	-	1

26 Novembre:

	(esu)	(e+)	(+su)	(++)
Mostra 1	-	-	-	2
Mostra 2	3	1	1	3
Mostra 3	-	1	-	-

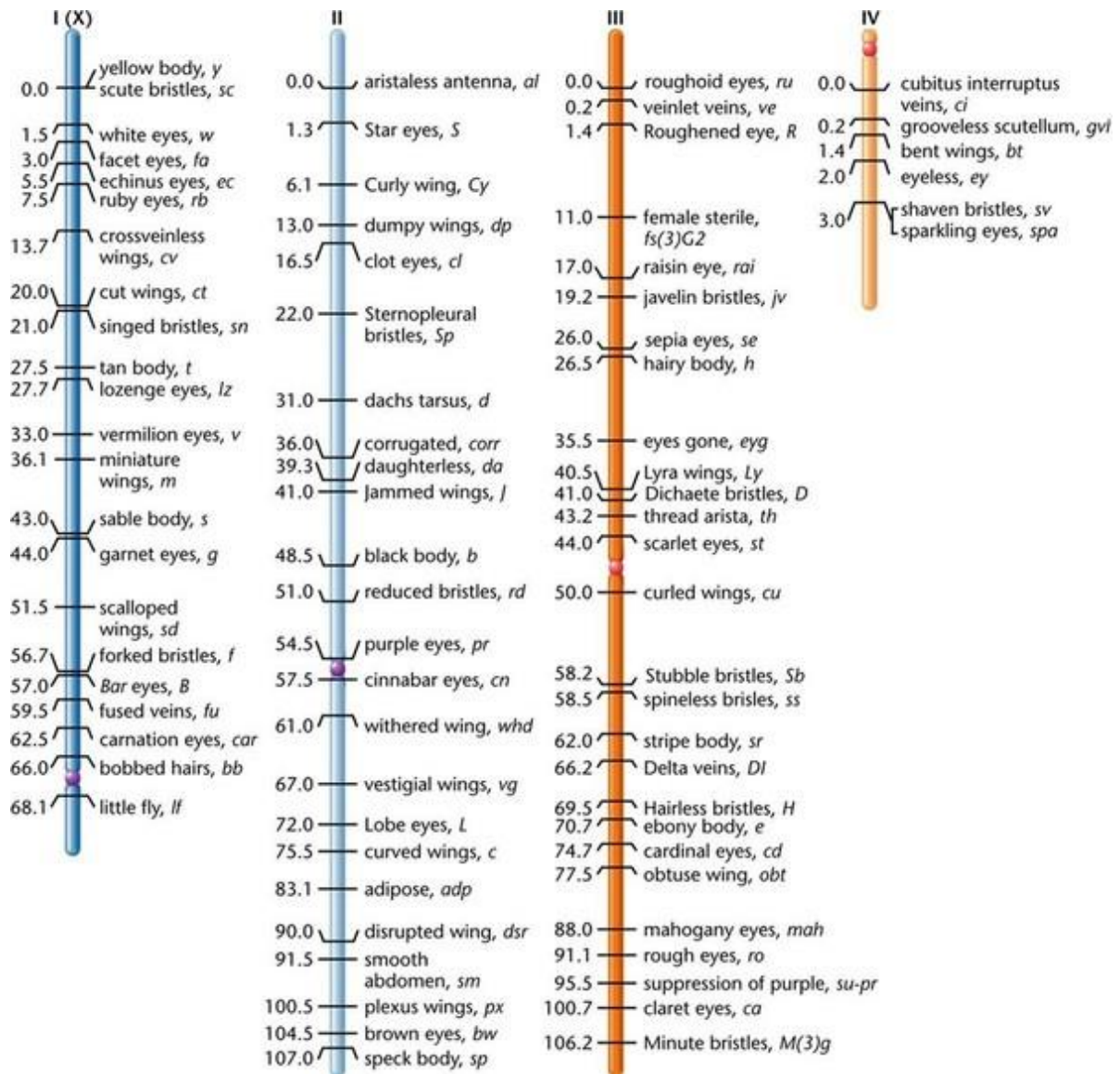
27 Novembre:

	(esu)	(e+)	(+su)	(++)
Mostra 1	2	-	-	6
Mostra 2	-	-	1	5
Mostra 3	2	-	1	3

28 Novembre: Estufa a 40°C. Mort de totes les mosques.

Dades totals:

	(esu)	(e+)	(+su)	(++)
Mostra 1	11	9	8	27
Mostra 2	19	10	8	30
Mostra 3	7	2	3	7

Document 2: Mapa genètic de *D. melanogaster*⁴⁰

40

http://www.google.es/imgres?um=1&hl=es&tbo=d&biw=1280&bih=623&tbm=isch&tbnid=SpSJ0qMF28G6gM:&imgrefurl=http://bio3400.nicerweb.com/Locked/src/class10.html&docid=7ThE3Z1nZVIRaM&imgurl=http://bio3400.nicerweb.com/Locked/media/ch05/05_14-Drosophila_map.jpg&w=1116&h=1080&ei=uDfrUP_aJMKDhQekoICYBQ&zoom=1&iact=rc&dur=291&sig=101857446173262482707&page=2&tbnh=143&tbnw=147&start=21&ndsp=27&ved=1t:429,r:26,s:0,i:168&tx=69&ty=82

Document 3: Prova del ji-quadrat

La prova del ji-quadrat és una prova estadística que mesura la discrepància entre una distribució observada i una altre de teòrica i permet determinar si dos variables qualitatives estan o no associades.

El valor estadístic χ^2 es calcula aplicant la fórmula següent:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^4 (\text{observats} - \text{esperats})^2 / \text{esperats}$$

On:

- Observada: denota les freqüències observades.
- Teòrica: denota les freqüències esperades o teòriques. És el número o freqüència que s'observaria si ambdues variables fossin independents.

Així, la χ^2 mesura la diferència entre el valor que hauria de resultar si les dos variables fossin independents i el que s'ha observat en realitat. Quan més gran sigui el valor χ^2 (diferència), més gran serà la relació entre ambdues variables.

Per obtenir els valors teòrics o esperats, aquests es calculen a través del producte dels totals marginals dividit pel número total de casos, és a dir:

$$\text{Valor teòric} = \frac{\text{total marginal} \times \text{total marginal}}{\text{total casos}}$$

Si apliquem la fórmula en la taula següent, establim els valors teòrics o esperats.

En el nostre cas els nostres fenotips observats i esperats són:

Fenotips trobats	Fenotips observats	Fenotips esperats
Salvatge	64	($\frac{1}{4} \times 141$) 35'25
Ebony	21	($\frac{1}{4} \times 141$) 35'25
Sense ulls	19	($\frac{1}{4} \times 141$) 35'25
Ebony sense ulls	37	($\frac{1}{4} \times 141$) 35,25

A partir d'aquí ja podem calcular el valor estadístic de la χ^2 que per a les nostres dades, vindria donat per:

$$\chi^2 = [(64 - 35'25)^2 / 35'25] + [(21 - 35'25)^2 / 35'25] + [(19 - 35'25)^2 / 35'25] + [(37 - 35'25)^2 / 35'25]$$

$$\chi^2 = 36'787$$

Un cop calculat el resultat, hem de plantejar-nos un contrast d'hipòtesis, és a dir, plantejar-nos dos possibles opcions per considerar el resultat fiable o no:

- H_0 (hipòtesi nul·la): no hi ha relació entre les variables (en l'exemple: no hi ha diferències significatives entre els fenotips esperats i els observats).
- H_1 (hipòtesi alternativa): si hi ha relació entre les variables (en l'exemple: : hi ha diferències significatives entre els fenotips esperats i observats)

Un cop establertes les hipòtesis ens acostem a un criteri de decisió:

S'accepta H_0 (hipòtesi nul·la) quan χ^2 és menor a un p-valor. En el cas contrari es rebutja. Aquest p-valor ve donat per la taula de distribució ji-quadrat⁴¹.

DISTRIBUCION DE χ^2

Grados de libertad	Probabilidad											
	0,95	0,90	0,80	0,70	0,50	0,30	0,20	0,10	0,05	0,01	0,001	
1	0,004	0,02	0,06	0,15	0,46	1,07	1,64	2,71	3,84	6,64	10,83	
2	0,10	0,21	0,45	0,71	1,39	2,41	3,22	4,60	5,99	9,21	13,82	
3	0,35	0,58	1,01	1,42	2,37	3,66	4,64	6,25	7,82	11,34	16,27	
4	0,71	1,06	1,65	2,20	3,36	4,88	5,99	7,78	9,49	13,28	18,47	
5	1,14	1,61	2,34	3,00	4,35	6,06	7,29	9,24	11,07	15,09	20,52	
6	1,63	2,20	3,07	3,83	5,35	7,23	8,56	10,64	12,59	16,81	22,46	
7	2,17	2,83	3,82	4,67	6,35	8,38	9,80	12,02	14,07	18,48	24,32	
8	2,73	3,49	4,59	5,53	7,34	9,52	11,03	13,36	15,51	20,09	26,12	
9	3,32	4,17	5,38	6,39	8,34	10,66	12,24	14,68	16,92	21,67	27,88	
10	3,94	4,86	6,18	7,27	9,34	11,78	13,44	15,99	18,31	23,21	29,59	
	No significativo								Significativo			

⁴¹ <http://cristina92sm.wordpress.com/2011/05/15/ejercicio-del-seminario-nueve-chi-cuadrado/>

Anomenada taula de distribució de χ^2 , en aquesta trobem dues entrades: una pels graus de llibertat i l'altre per la probabilitat. Aquesta última entrada fa referència al nivell de confiança que desitgem que tinguin els resultats o marge d'error; és a dir, si volem tenir un nivell de confiança del 95% o un marge d'error del 5%, el valor que escollim ha de ser el 0,05.

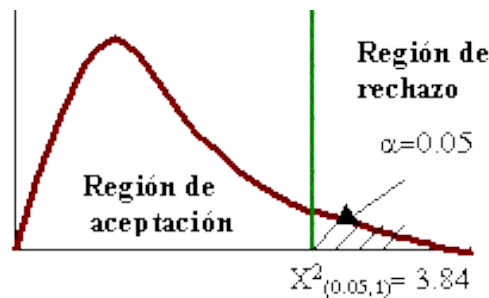
Càlcul del grau de llibertat:

Entre els factors que poden influir en la magnitud de la desviació dels resultats observats de les proporcions esperades es troba el nº de classes de variables independents o graus de llibertat. El nombre de graus de llibertat és igual al nombre de classes fenotípiques menys 1.

Per tant, la utilització de la taula consisteix en, un cop hem obtingut el valor χ^2 , agafar la taula i mirar primer els graus de llibertat de la taula que hem utilitzat, i segon, decidir a quin nivell de confiança volem (normalment s'agafa el 95%, ja que el marge d'error és relativament acceptable 0,05%). Un cop fet això, veurem que els camins coincideixen en un punt que ve determinat per un valor. Aquest valor, que l'anomenem P, serà el que utilitzarem de frontera a l'hora d'establir el criteri de decisió, és a dir, a l'hora de dir si acceptem H_0 o no.

Si el valor $P > \chi^2$ no rebutjarem H_0 .

Si el valor $P < \chi^2$ rebutjarem H_0 .



Imatge: gràfic ji-quadrat⁴²

⁴² <http://www.itch.edu.mx/academic/industrial/estadistica1/cap04b.html>

Document 4: Recepta medi de cultiu

Ingredients:

	Nº de flascons		Unitat
	10	24	
Agar-agar	5,6	13,5	grams
Sucre	1	2,5	Cullerada sopera
Aigua	375	900	cc
Farina de blat de moro	91	218,3	Grams
Aigua	250	500	Cc
Nipagin	0,9	2,2	Grams
Alcohol etílic	10,3	24,7	cc

Preparació del medi de cultiu (exemple per a 10 flascons):

1. Es dissolen els 5,6g d'agar-agar i la cullerada sopera de sucre en 375cc d'aigua.
2. Es posa tot al foc fins que bulli.
3. Quan bulli, s'afegeixen els 91g de farina de blat de moro dissolts en els 250cc d'aigua. Es deixa coure d'uns 5 a 10 minuts sense parar de remoure. No deixar espessir molt la mescla.
4. Passat el temps, es retira la barreja del foc i s'afegeixen els 0,9g de Nipagin dissolts en 10,3cc d'alcohol etílic.
5. Finalment es posa el medi de cultiu en els flascons (prèviament esterilitzats) abans que qualli.

Un cop el medi estigui fred i hagi quallat es netegen les parets dels flascons i es fiquen a la nevera, cap per avall, unes 24 hores. Després, cal eixugar la humitat que pugui haver-hi utilitzant una mica de paper de cel·lulosa. A continuació s'introdueix un paper doblegat en ziga-zaga, perquè s'enfilin les larves, i s'afegeix una mica de llevat esmicolat, que servirà d'aliment a les mosques adultes.