

GENÉTICA

Los estudios realizados en mosca del género **Drosophila** han permitido explicar una serie de fenómenos genéticos. Ampliamente utilizada ha sido

Drosophila melanogaster, especie que presenta una serie de ventajas como material de experimentación genética. Entre estas ventajas cabría señalar:

- 1.– Ciclo de vida corto (10 a 14 días a 24°C)
- 2.– Producción de gran número de descendientes
- 3.– Número cromosómico relativamente bajo (4 pares)
- 4.– Fácil mantención en el laboratorio
- 5.– Presenta numerosas mutaciones

CICLO DE VIDA

El desarrollo embrionario que sigue a la fecundación y formación del cigoto, se realiza dentro de la membrana del huevo. Las otras etapas del ciclo de vida incluyen: larvas, pupa, adulto o imago. La duración de los distintos estados del ciclo varía con la temperatura, por ejemplo a 25°C el período huevo larva es de 5 días y el de pupa 4 días. La exposición continua a una temperatura superior a los 30°C puede producir la esterilidad o muerte de las moscas y a temperaturas, más baja, se prolonga el ciclo de vida, perjudicándose la viabilidad.

EL HUEVO

El huevo de *Drosophila* mide alrededor de 0,5 mm de longitud. El lado dorsal es algo más plano que la superficie ventral que aparece redondeada. Está revestido por una membrana externa, el corión, constituida de células hexagonales. Posee un par de filamentos que se extiende más allá y a partir de la superficie entero dorsal. Tales filamentos impiden que el huevo se hunda en el nutriente blando y semilíquido.

Los huevos pueden ser ovopositados por la madre poco tiempo después de la penetración del espermio o quedar retenidos en la vagina durante los primeros estados de desarrollo embrionario. Todo el desarrollo del huevo se completa dentro de 24 horas.

ESTADOS LARVALES

El período larval consta de tres estados. En el tercer período, la larva puede alcanzar hasta 4,5 mm de longitud. Las larvas poseen gran actividad y son muy voraces observándose en el medio de cultivo un gran número de canales y túneles. Esta actividad larval es el criterio más simple para juzgar a simple vista si la generación se desarrolla o no con éxito. La larva de *Drosophila*, externamente, no presenta muchas estructuras. Internamente es más interesante. El tubo digestivo es diferenciado y enrollado en la porción media posterior. Las glándulas salivales se vacían en la partes anterior del tubo digestivo mientras los tubos de Malpighi desembocan en el tractodigestivo.

ESTADO DE DESARROLLO DE LAS LARVAS

En general se acepta que las larvas de *Drosophila* pasan por tres estados de desarrollo:

Estado I Se considera en este estado de desarrollo las larvas que van desde que eclosiona el huevo hasta que cumplen 24 horas. Este estado se caracteriza porque las larvas presentan gran movilidad y su principal función es la búsqueda de alimento.

Estado II Va desde las 24 horas a las 72 horas de vida. En general se consideran larvas de estado II las que tienen entre 48 y 72 horas y su función principal también es la búsqueda del alimento.

Estado III Va desde las 72 a las 96 horas de vida. En este estado las larvas pierden su interés por el alimento y su principal función es encontrar un lugar seco donde pupar.

LA PUPA

Cuando la larva está preparada para pupar, abandona al medio de cultivo y se adhiere a alguna superficie seca como las paredes de la botella o el papel secante en que se ha insertado el alimento. La larva se transforma en pupa dentro del penúltimo tegumento larval que al principio es suave y blando pero lentamente se endurece y oscurece su color. La transformación emprendida durante el período de pupa, culmina con la formación del imago. Cuando estos cambios se han completado, el adulto emerge por el extremo de la pupa.

En un principio la mosca es alargada y con las alas sin expandir todavía. Dentro de poco tiempo, sin embargo, las alas se expanden y el cuerpo gradualmente adquiere la forma redonda del adulto. Las moscas recién nacidas son de color claro, pero se oscurecen dentro de pocas horas. Es posible, entonces, distinguir en el cultivo las moscas recién emergidas de las más viejas.

IDENTIFICACIÓN DEL SEXO DE LAS MOSCAS ADULTAS

Varias diferencias morfológicas permiten distinguir de las hembras de *Drosophila*.

- 1.- El extremo del abdomen es alargado en la hembra y algo redondeado en el macho.
- 2.- La distribución de bandas oscuras en los segmentos abdominales permite distinguir a ambos sexos sin necesidad de usar microscopio. El abdomen de la hembra tiene 7 segmentos y el macho 5.
- 3.- Los machos de las *Drosophilas* poseen el llamado peine sexual, un cepillo de más o menos 10 gruesas cerdas negras ubicadas en la superficie distal de la articulación tarsal del primer par de patas.

Debe tener cuidado cuando se utiliza la pigmentación como criterio único para distinguir los sexos, ya que las moscas recién nacidas la pigmentación aún no se ha completado. Un macho recién nacido es tan descolorido como una hembra y puede confundirse.

SEPARACIÓN DE HEMBRAS VÍRGENES

En la mayoría de los casos es necesario separar hembras vírgenes cuando se realiza los cruzamientos. Afortunadamente las hembras no copula sino hasta 8 horas después de haber emergido de la pupa. Por lo tanto, la forma más simple y segura es separar vírgenes es descartar todas las moscas que han nacido en la botella de cultivo. A las 8 horas se observa nuevamente la botella de cultivo, se separan las hembras de los machos que han nacidos durante ese lapso de tiempo, todas ellas son vírgenes y pueden ser guardadas en frascos de cultivo con alimento.

INSTRUCCIONES PARA EL MANEJO DE LAS MOSCAS

Para el manejo y observación de *Drosophila* es necesario anestisiarlas. Para ello, coloque una gota de éter en una mota de algodón envuelto en gasa que se encuentra en el tapón de la botella que se usa como anestesiador.

Deje que el éter difunda en el frasco un minuto. En seguida, golpee a las moscas contra el fondo del frasco de cultivo a utilizar, saque el tapón de gasa. Luego invierta rápidamente el frasco y colóquelo sobre la boca de eterificador. Golpee nuevamente y observe el paso de las moscas hacia el eterificador.

Cuando el medio de cultivo es demasiado blando, no invierta el frasco de cultivo, sino que coloque la boca del eterificador encima del frasco.

Observe a las moscas en el anesteciador. Cuando ellas se suelte de la pared del frasco, déjelas por 15 seg. más y entonces páselas a la placa de recuento.

No trate de trabajar con muchas mosca de una vez en su placa. Las moscas pueden ser movidas en la placa usando el pincel fino. Si las moscas comienzan a despertar en la placa, ellas deben ser reanestesiadas.

MEDIO DE CULTIVO EN MEZCLA ÁCIDA PARA DROSOPHILA

Agar Agar 8 gr.

Sémola 30 gr.

Levadura seca de cerveza 5 gr.

Azúcar 21,5 gr.

NaNO₃ (Nitrato de sodio) 2,1 gr.

K₂HPO₄ (Fosfato de potasio) 0,6 gr.

KCl (Cloruro de potasio) 0,35 gr.

MgSO₄ (Sulfato de magnesio) 0,35 gr.

FeSO₄ (Sulfato de Fierro) 6 mgs

Agua 500 ml.

Preparación:

- 1.– Pesar ingredientes en recipientes secos
- 2.– Agregar 1/2 litro de agua y poner a fuego lento
- 3.– Revolver permanentemente con cuchara de palo
- 4.– Dejar hervir por 3–5 min.
- 5.– Retirar del fuego y agregar 6 cc. de Nipagin sólido al 12,5 % en alcohol.
- 6.– Repartir en frasco de boca ancha
- 7.– Dejar reposar por 2 a 3 días antes de usar
- 8.– Comprobar que las paredes de la botellas estén completamente secas para evitar que las moscas se peguen

a ella.

Procedimiento

- 1.- Esterilice frascos a usar
- 2.- Prepare el alimento
- 3.- Elija y separe las sepas a cruzar
- 4.- Dibuje y describa las características de sus sepas
- 5.- Observe diariamente y anote sus observaciones
- 6.- Cuando aparezcan las larvas saque los adultos a otro frasco
- 7.- Cuando nazcan los de la primera generación saque los individuos y repita los puntos 4, 5 y 6.