

FUMAR MATA

**Com afecta el tabac a la
*Drosophila melanogaster***



MIREIA
LÓPEZ
HERRANZ

Tutora: Teresa Callao

2n Batxillerat A

2016 - 2017

Biologia

Salesians Rocafort

Barcelona

ÍNDEX



1. Introducció.....	p.4
1.1. Motivació personal.....	p.5
1.2. Objectiu.....	p.5-6
1.3. Hipòtesi.....	p.7
1.4. Estructura.....	p.7
2. Part teòrica.....	p.8
2.1. <i>Drosophila melanogaster</i>	p.9
2.1.1. Cicle vital.....	p.9-11
2.1.2. Dimorfisme sexual.....	p.12
2.1.3. On es troba la <i>Drosophila melanogaster</i> ?.....	p.13
2.1.4. Mutacions.....	p.13-15
2.1.5. La <i>Drosophila melanogaster</i> com a model de laboratori.....	p.15
2.1.5.1. Característiques generals.....	p.15
2.1.5.2. Avui en dia.....	p.16
2.1.5.3. Què és una espècie model?.....	p.16
2.1.5.4. Recerca de la <i>Drosophila melanogaster</i>	p.16-18
2.2. Efectes tòxics en el desenvolupament embrionari.....	p.19-20
2.2.1. Teratogènia.....	p.20-22
3. Part pràctica.....	p.24-25
3.1. Material.....	p.26
3.1.1. Preparació de les infusions.....	p.26-27
3.1.2. Preparació de les farinetes.....	p.27-29
3.1.3. Preparació del cultiu.....	p.29-30
3.1.4. Col·locació de la <i>Drosophila melanogaster</i>	p.31-32
3.2. Mètode.....	p.33
3.2.1. Fase: $F_0 \rightarrow F_1$	p.33
3.2.1.1. Preparació de les infusions.....	p.34-35
3.2.1.2. Preparació de les farinetes.....	p.35-37
3.2.1.3. $F_0 \rightarrow F_1$	p.38-43

4. Resultats.....	p.44-45
4.1. Supervivència F_0	p.45-48
4.2. Descendència filial F_1 , per femella progenitora.....	p.49
4.3. Mutacions dels individus F_1	p.50
4.3.1. Tipus d'efectes mutàgens segons el medi de cultiu F_1	p.51-54
4.3.2. Efectes mutàgens imatges.....	p.55-59
5. Conclusions.....	p.60-61
6. Agraïments.....	p.62-64
7. Bibliografia i webgrafia.....	p.65-68



1. INTRODUCCIÓ

1. INTRODUCCIÓ

1.1. Motivació personal

Des dels 6-7 anys em va començar a agradar la part de les matèries de ciències que ens ensenyaven els professors, sobretot qualsevol cosa relacionada amb un experiment o càlculs matemàtics. I jo en un futur vaig pensar en estudiar Medicina, però tenia el dubte que si arribés a la carrera no sabia si dedicar-me a l'àmbit de la investigació de la medicina o en tractar amb les persones; i era un dubte que tenia i volia resoldre.

Quan vaig anar al teatre a veure el TR que va dur a terme l'Eva Pérez (*Efectes mutàgens del tabac en Drosophila melanogaster*), vaig sentir una gran curiositat per aquest tema; i quan l'any passat vaig veure a les llistes que hi havia la continuació d'aquest TR vaig tenir clar que l'aniria a veure. A l'anar a veure el TR de l'Adrià Martos vaig decidir que jo, el meu, també el volia enfocar en algun tema d'investigació; però totes les idees se'm van il·luminar en el moment que ell en el seu TR, va dir que podria haver una tercera part d'aquest TR començat per l'Eva Pérez.

Des d'aquell moment vaig tenir clar que el que volia era continuar aquest TR, i d'aquesta manera saber si m'agradava el món de la investigació per poder-m'hi dedicar en un futur.

1.2. Objectiu

Abans que citi quin és l'objectiu d'aquest TR, esmentaré breument quins eren els objectius de les dues parts del TR anteriors a la meua, la tercera part.

En la investigació del treball de recerca, de l'Eva Pérez, es va experimentar que el tabac, tant el fumat com el no fumat, és una substància teratogènica que produeix una alteració en els nous individus adults, si els progenitors part de la seva dieta està constituïda per tabac. Va voler investigar si el tabac produïa efectes mutàgens en la *Drosophila melanogaster*.

Va afirmar que els tòxics que s'alliberen en la combustió del tabac fumat fan incrementar el nombre d'individus anòmals, en comparar-ho, amb el tabac no fumat.

Per aquest motiu, l'Adrià Martos, en fer la seva investigació en el seu treball de recerca, va utilitzar el tabac fumat (ja que allibera més tòxics que el tabac no fumat, com es va poder comprovar a la investigació de l'Eva).

L'objectiu de l'Adrià va ser aprofundir en l'experimentació que l'Eva va dur a terme. Ell va estudiar els efectes tòxics del tabac en la *Drosophila melanogaster* durant el seu desenvolupament embrionari. Els tres indicadors que ell va utilitzar van ser la mortalitat de les mosques femelles progenitores, el nombre de descendents per femella i les mutacions patides en la generació filial.

Els tres indicadors anteriors van ser els que va utilitzar per concloure la seva primera hipòtesi.

Per tant, després d'haver citat els objectius de la primera i segona part d'aquesta investigació; els meus objectius a aconseguir són: poder investigar quina és la mortalitat dels individus de *Drosophila melanogaster* a causa del tabac fumat en la seva dieta, i si el nombre de cigarretes fumades influeixen en el seu desenvolupament embrionari, per tant, si tenen algun efecte mutagen a conseqüència del tabac.

A més a més, un altre objectiu és millorar l'experimentació i els problemes que van tenir les dues persones que van fer la primera i la segona part.

Jo vull aconseguir millorar-los de tal manera, que he d'evitar cometre els mateixos errors que ells.

Igual que l'Adrià va millorar la investigació de l'Eva en la recerca de la *Drosophila melanogaster*, en aquest treball s'ha fet el mateix, s'ha millorat la investigació de l'Adrià, per poder-ho millorar s'han canviat diverses coses:

Per poder saber el nombre de femelles que tenia cadascuna i d'aquesta manera poder veure la seva mortalitat o supervivència, en lloc de col·locar 3 femelles per pot, jo només n'he col·locat una, i per poder estudiar millor els efectes mutàgens s'han augmentat les dosis de tabac en les farinetes perquè d'aquesta manera les dosis fossin més diferents i poder estudiar millor si apareixen o no més mosques anòmales a més quantitat de tabac.

1.3. Hipòtesi

En aquest TR és vol comprovar com afecta la quantitat de tabac fumat en les drosòfiles, per aquest motiu s'estima que com més gran sigui la quantitat de tabac fumat en la dieta de les drosòfiles hi haurà més efectes mutàgens i una major mortalitat per part d'aquestes.

Per tant, a mesura que les dosis de tabac augmenten, hi ha més mosques anòmales i més mortalitat. En resum:

- Mortalitat de F_0 augmenta.
- Natalitat del nombre d'individus de F_1 disminueix.
- Presència de mutacions a F_1 augmenta.

1.4. Estructura

En la part teòrica començaré esmentant uns conceptes bàsics sobre la mosca de la fruita o del vinagre, o *Drosophila melanogaster*, que són necessaris per a poder dur aquesta investigació. I després, passarem a parlar sobre els efectes tòxics en el desenvolupament embrionari.

$F_0 \rightarrow F_1$

F_0 simbolitza els progenitors i F_1 simbolitza els descendents.

En la part pràctica començaré parlant del material necessari per dur a terme aquesta investigació i del mètode.

En l'apartat dels resultats esmentaré quins són els resultats que he obtingut fent aquesta investigació amb *Drosophila melanogaster*.

En les conclusions començaré parlant si la meva hipòtesi ha estat correcta i coses que podria haver anat millorant al llarg de la meva investigació, i com m'he sentit jo duent a terme aquest TR.

En els agraïments simplement citaré com ha estat fer aquest TR i totes les ajudes que he tingut al llarg d'aquest treball.

I finalment, a la bibliografia/ webgrafia citaré les pàgines web i llibres dels quals he tret informació per poder fer aquest TR.



2. PART TEÒRICA

2. PART TEÒRICA

2.1. *Drosophila melanogaster*



Figura 1: *Drosophila melanogaster*

The Organization of the Retina and Visual System

L'espècie *Drosophila melanogaster* és un insecte dípter, posseeix dues ales. És una mosca de petita grandària (3mm en estat adult); també, és coneguda com "la mosca de la fruita", ja que la trobem principalment en els fruiters, especialment quan la fruita està en fermentació, ja que a part dels seus sucus, els llevats constitueixen una part important de la seva dieta.

2.1.1. Cicle vital

Drosophila melanogaster presenta una metamorfosi completa: ou, larva (tres estadis), pupa i imago.

El desenvolupament complet de la mosca posseeix un temps de durada aproximat de 9-10 dies (la fase d'ou i larva dura 5 dies, i la fase de pupa de 4 a 5 dies), en condicions de temperatura (25°C), pH i cultius adequats.

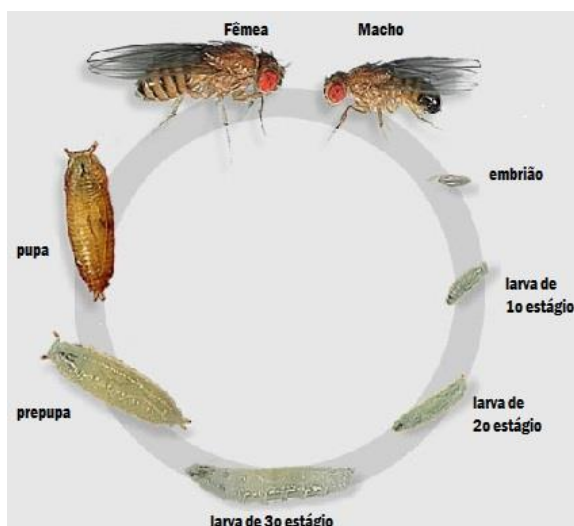


Figura 2: Cicle vital de la *Drosophila melanogaster*

El desenvolupament embrionari es produeix dins l'ou, originant-se una larva que passa per tres estadis (diversos teixits estan constituïts per cèl·lules que contenen cromosomes politènics). La següent és la fase de pupa. On té lloc la metamorfosi, un cop finalitzada s'obre la pupa i emergeix l'adult; passades 8 hores les femelles adultes poden ser fecundades.

L'ou

L'ovoposició per les mosques femelles adultes comença al segon dia de la seva emergència; on prèviament la seva fecundació ha tingut lloc dins l'úter. Els ous són ovoides, petits (0.5mm) i amb dos filaments en un dels seus extrems que els impedeixen enfonsar-se en la superfície tova de l'aliment on són dipositats, estan coberts per una membrana quitinosa.

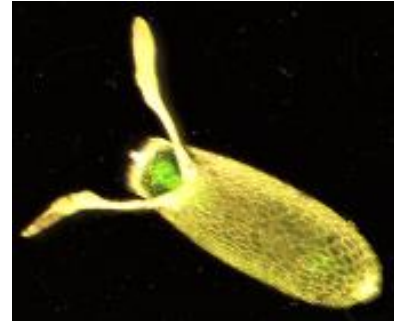


Figura 3: Ou de la *Drosophila melanogaster*

Embriogènesi de la *Drosophila*

La larva

Després d'un dia surt la larva de l'ou, blanca, segmentada i amb forma de cuc. Les larves són molt actives i mengen constantment; és fàcil localitzar-les gràcies a les seves parts bucals que són negres i es mouen cap enrere i cap endavant contínuament. Aquest moviment els permet formar solcs i canals, que ens indica l'èxit del creixement del cultiu.

El desenvolupament larval es caracteritza per incloure tres estadis i dues mudes larvals. La primera muda es presenta aproximadament a les 24 hores i la segona a les 48 hores d'haver eclosionat l'ou, i 96 hores després de l'eclosió es forma la pupa.

El creixement dels òrgans interns és gradual i independent de les mudes.



Figura 4: Larva de la *Drosophila melanogaster*

Stephen Tobe's Virtual Laboratory

Pupa

La metamorfosi és un procés biològic que ocorre durant el desenvolupament d'alguns animals, especialment dels insectes. El període de pupa representa a l'insecte un dels canvis molt conspicus.

La larva prepupal és molt inactiva, expandeix els espiracles anteriors i perd moviment. En molt poc temps s'escurça i augmenta de volum adquirint gradualment la forma de pupa en la qual no es nota la segmentació i la seva cutícula és de color blanc, és un estat curt i es pot calcular amb facilitat l'edat de la pupa.

La cutícula s'endureix i s'enfosqueix lentament, aproximadament 3-4 hores després, l'organisme es troba pigmentat, rebent la càpsula el nom de "pupari".

Quatre hores més tard de la formació del pupari, l'animal ha separat la seva epidermis dins de la càpsula i es converteix en un organisme acèfal, sense ales ni potes anomenat "prepupa". La prepupa es retira del medi de cultiu, fixant-se a la superfície del flascó. A on els últims estadis de la metamorfosi per formar l'adult s'observen a l'interior de l'embolcall de la pupa, podent-se identificar amb facilitat els ulls, les ales i les potes.



Figura 5: Pupa de la *Drosophila melanogaster*

Drosophila suzukii |
Agrològica

Adult

Durant la metamorfosi es destrueixen certs teixits i òrgans larvaris; diverses estructures adultes s'organitzen a partir del grups de les cèl·lules anomenades "discs imaginals". Durant la metamorfosi es destrueixen les glàndules salivals, els cossos grassos, l'intestí i els músculs.

Quan la sèrie de canvis acaba, l'adult o imago emergeix trencant l'extrem anterior a l'embolcall pupari. En poc temps les ales s'estenen i l'animal adquireix la forma d'un insecte dípter.



Figura 6: Adult *Drosophila melanogaster*

Microscope Imaging Station. Gallery.

2.1.2. Dimorfisme sexual

La distinció entre el mascle i la femella, es pot fer a partir del tercer estadi larvari, en la pupa i en la fase adulta. Algunes de les característiques són:

- Les gònades masculines, en el tercer estadi larvari, són majors que les femenines, això es pot observar per la seva transparència.
- En l'estat de pupa, el mascle posseeix una pinta de quetes negres, "pinta sexual", situada en el primer tars del primer parell de potes. Aquesta pinta és visible en pupes de més de 3 dies.



Figura 7: Dimorfisme sexual

Microscope Imaging Station. Gallery.

Característica	Femella	Mascle
Mida de l'imago	Gran	Petit
Forma de l'abdomen	Acaba en punta	Curt i arrodonit
Segments abdominals	No fusionats	3 últims fusionats
Pinta sexual	Absent	Present
Genitalia externa	Ovopositor	Ganxos pigmentats
Disc imagal genital	Petit	Gran

Taula 1: Diferències entre els mascles i les femelles

2.1.3. On es troba la *Drosophila melanogaster*?

L'insecte *Drosophila melanogaster* ens crida l'atenció pel seu hàbitat: aquesta mosca es troba en les cases, caves i fàbriques de vinagre i melmelada; és atreta pels àcids de les fruites.

Aquesta mosca és originària de la costa occidental d'Àfrica, s'ha estès per la majoria de zones càlides d'arreu del món. A Catalunya és present al litoral, sobretot a les comarques de Tarragona. A la resta de la Península s'estén per bona part del territori, especialment pel País Valencià, Múrcia i Andalusia.

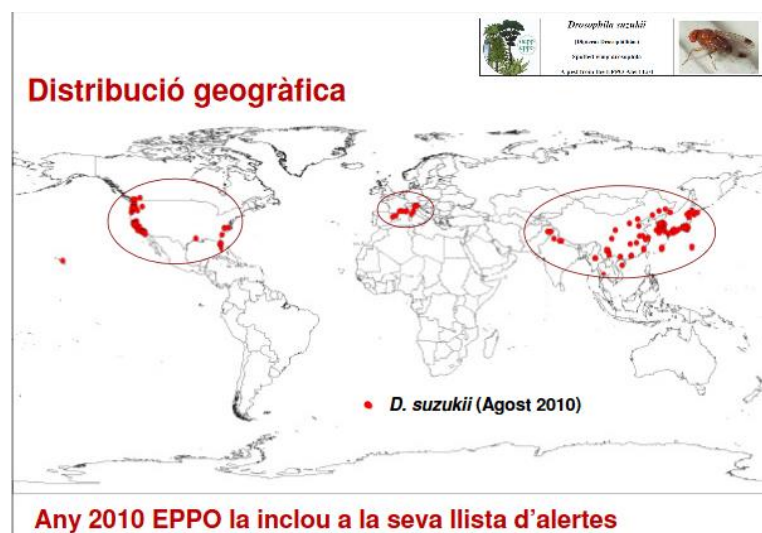


Figura 8: Distribució geogràfica de la *Drosophila melanogaster*

Presentació *Drosophila suzukii*_RS_Jornades Fito_IQS2011.ppt

2.1.4. Mutacions

Les mutacions genètiques per construir un organisme es situen en l'ADN. Cada gen, una part de l'ADN, té la capacitat d'ordenar les instruccions per a la col·laboració amb altres gens.

Per construir un organisme els gens interactuen entre si per dur a terme la seva missió. Un defecte en un gen, pot causar una alteració en aquesta construcció de l'organisme.

Les mutacions no són bones ni dolentes: algunes són beneficioses i altres poden ser letals. Mitjançant la creació de nous gens, les mutacions són una de les forces que posseeix l'evolució per donar lloc a noves espècies.

Algunes de les mutacions de la mosca de la fruita són les que podem observar en el següent quadre:



Aquesta és la forma normal, tipus salvatge, de la mosca de la fruita. Observa la forma i longitud de les seves ales per comparar amb les següents.



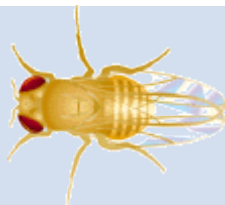
Vestigial wings

Aquesta mutació es coneix amb el nom d'ales vestigials per la reduïda grandària d'aquestes. Aquesta mutació apareix en el cromosoma 2 i és recessiva (ha de portar un gen de cada progenitor per expressar aquestes ales).



Curly wings

Aquesta és la varietat *curly*, d'ales corbades, també mutació resident al cromosoma 2. Es tracta ara d'una mutació dominant, és a dir, amb només una còpia del gen, la mosca ja presenta el caràcter. Però si les dues còpies són mutants, la mosca no sobreviu.



Yellow

Aquesta és una mosca amb el cos groguenc. Ara la mutació resideix en el cromosoma sexual X. Aquestes mutants no són capaços de produir el pigment negre normal del seu cos.



Ebony body

Presenta el cos fosc, gairebé negre. La mutació resideix en el cromosoma 3. Normalment, aquest gen es responsable del color torrat normal. Si aquest gen falta, el pigment negre s'acumula en tot el cos.



White apricot

Els seus ulls són de color taronja. Posseeixen un defecte en el gen "blanc", que normalment produeix pigment vermell. En aquestes mosques, el gen només treballa parcialment, produint menys pigment del normal.



White eyes

Amb ulls blancs, presenten un defecte en el gen "blanc", però en aquest cas, no produeixen cap pigment.



Spapoli

No presenten ulls. Els gens que posseeixen les instruccions per formar els ulls en les larves estan defectuosos.



Antennapedia

Posseeixen potes en lloc d'antenes al cap. Algunes cèl·lules es converteixen en potes en aquest lloc. El gen defectuós instrueix falsament a algunes cèl·lules a convertir-se en potes en lloc d'en antenes.

Taula 2: Diferents mutacions de la *Drosophila melanogaster*

2.1.5. La *Drosophila melanogaster* com a model de laboratori

Va començar a ser utilitzada per Thomas Hunt Morgan en els anys 20 per diverses raons, entre elles, la seva facilitat de manipulació i la velocitat amb la qual es reproduïen.

2.1.5.1. Característiques generals

Presenta una sèrie de característiques, tant biològiques com genètiques, que fa que siguin un material ideal per a la investigació genètica; d'aquestes característiques, cal destacar-ne:

- Són petites i fàcils de manipular i conrear en el laboratori.
- Tenen un cicle biològic molt curt (9-10 dies a 25°C).
- Són molt fèrtils: cada femella pot posar fins a 500 ous.
- El seu component cromosòmic és de $2n= 8$, el que simplifica l'estudi citogenètic de l'espècie.

La *Drosophila melanogaster* presenta 4 parells de cromosomes:

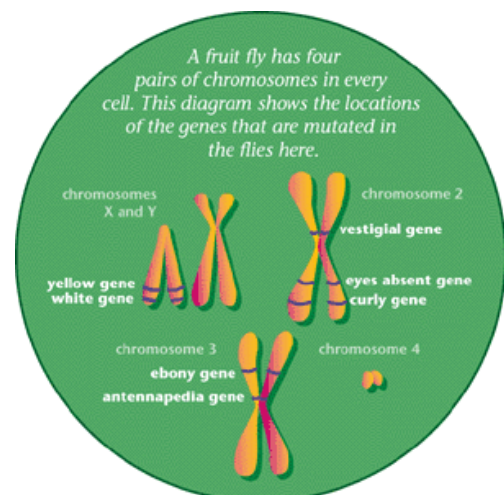


Figura 9: Parells de cromosomes

Drosophila melanogaster como modelo de estudio

2.1.5.2. Avui en dia

Avui s'utilitza per detectar gens que intervenen en el càncer, en malalties neurodegeneratives, addiccions i fins i tot en conductes que tenen paral·lelismes amb els humans.

2.1.5.3. Què és una espècie model?

Els organismes models són àmpliament usats per analitzar les causes de malalties humanes i possibles tractaments.

Una espècie model, ha de tenir certes característiques, que no tenen a veure amb la seva abundància en la naturalesa, sinó amb qüestions pràctiques:

- El seu cicle vital: ha de ser curt.
- El nombre de descendents: ha de ser elevat en cada generació.
- La manutenció i el maneig: han de ser senzills.
- Coneixement de l'espècie: coneixements de com treballar amb aquesta espècie.
- Fàcil de manipular: poder agafar els individus i transportar-los d'un lloc a un altre.
- Característiques morfològiques fàcils d'observar.
- Presentar diversos fenotips per a un mateix caràcter i que siguin estables.

Algunes espècies model, deixant de banda la *Drosophila melanogaster*, són el pollastre i les granotes africanes, el peix globus i el ratolí.

2.1.5.4. Recerca de la *Drosophila melanogaster*

Per a molts científics, la *Drosophila melanogaster*, és la *top model* de la recerca científica. Per exemple:

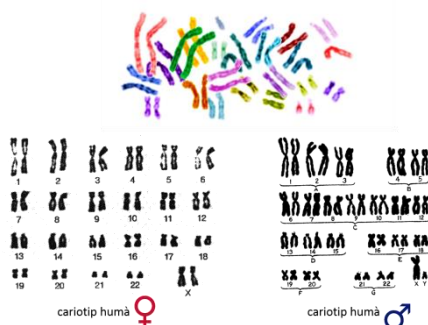


Figura 10: Cromosomes

Genètica y medicina molecular en cardiología

L'IRB Barcelona patrocina el primer simposi dels líders científics espanyols que usen *Drosophila* per als seus estudis biomèdics. (27/09/2012)

Els científics de l'Institut de Recerca Biomèdica (IRB Barcelona), Jordi Casanova i Cayetano González -professors de recerca del CSIC i ICREA respectivament-, han reunit per primera vegada a més de 40 líders científics espanyols de referència internacional en l'ús de *Drosophila melanogaster* per a l'avançament de la biomedicina. La 1^a Conferència sobre Biologia Molecular, Cel·lular i del Desenvolupament de *Drosophila* a Espanya se celebra a Aiguablava, Girona, fins aquest proper divendres 28 de setembre.

Drosophila melanogaster, popularment coneguda com la mosca de la fruita o del vinagre, ha estat útil per establir les bases de la biologia. Aquest petit insecte està darrera de la feina de sis premis Nobel de Medicina i avui és un dels models de recerca clau en els laboratoris biomèdics de tot el món. Per raons històriques, la mosca *Drosophila* ha tingut un paper fonamental en el progrés de la ciència a Espanya i en el reconeixement internacional de la mateixa. "Tot i aquesta fortalesa, mai abans s'havia organitzat una trobada que convoqués a tots els experts distribuïts per la geografia espanyola. Cobrim un buit històric i mostrem la potència internacional de la nostra investigació", explica el Dr. González, cap del Laboratori de divisió cel·lular a l'IRB Barcelona que desenvolupa el projecte "FliesCan" finançat amb dos milions d'euros pel Consell Europeu de Recerca (ERC en les seves sigles en anglès) per avançar en el coneixement del càncer usant la mosca *Drosophila*.

L'objectiu del simposi és buscar sinèrgies i potenciar la col·laboració entre grups de recerca provinents d'onze centres diferents, entre els quals cinc de Barcelona (IRB Barcelona, Centre de Regulació Genòmica, Institut de Biologia Molecular de Barcelona, l'Institut de Biologia Evolutiva i la Universitat de Barcelona), tres de Madrid (Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CBM), Instituto Cajal y Universidad Autónoma de Madrid), l'Institut de Neurociències d'Alacant, el Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, a Sevilla, i el CICbioGUNE de Bilbao.

En el simposi hi ha grups experts en àrees punteres com l'epigenètica i la genòmica, la proliferació i formació de tumors i en la migració cel·lular i les metàstasis del càncer. Fins fa pocs anys, gairebé tota la investigació espanyola es desenvolupava al CBM gràcies a la figura d'Antonio García Bellido, que el 1969, va crear escola en l'estudi d'aquest insecte. "Ara hi ha grups que s'han establert en diferents llocs i l'IRB Barcelona ha concentrat diversos laboratoris de *Drosophila* que cobreixen una àmplia varietat d'àrees científiques biomèdiques" explica el Dr. Casanova. Casanova és cap del grup Morfogènesi a *Drosophila*, on estudien el desenvolupament de l'insecte amb un interès especial en la migració cel·lular i la seva relació amb processos de metàstasis del càncer.

El propòsit dels investigadors és que les Conferències sobre Biologia Molecular, Cel·lular i del Desenvolupament de *Drosophila* a Espanya tinguin continuïtat. Aquest simposi s'emmarca dins d'un ambiciós projecte dins de l'IRB Barcelona liderat per Jordi Casanova, Cayetano González i Marco Milán, denominat FlyCenter. Aquesta és una iniciativa interdisciplinària que té els objectius d'optimitzar recursos tècnics i plataformes científiques per als grups de *Drosophila*, organitzar reunions internacionals de primer nivell i escometre projectes per modelar malalties humanes usant *Drosophila* en col·laboració amb centres de tot el món.

2.2. Efectes tòxics en el desenvolupament embrionari

Hi ha substrat, que per la seva toxicitat, pot generar problemes en el desenvolupament embrionari.

Alguns dels elements tòxics són:

- Alcohol: el consum d'alcohol durant l'embaràs pot causar síndrome d'alcoholisme fetal, una síndrome de naixement d'efecte permanent. Alguns estudis defensen que el consum moderat d'alcohol durant l'embaràs podria no suposar un risc per al fetus, encara que cap quantitat d'alcohol durant l'embaràs pot garantir que sigui absolutament segur.



Figura 11: Tabac i alcohol

Cigarettes i copes, embarassos de risc

- Tabac: els nens exposats al fum de la cigarreta poden experimentar una àmplia gamma de problemes de comportament, neurològics i físics.



Figura 12: Tabac

“L'embaràs és el millor moment per deixar de fumar”

- Marihuana: el consum de marihuana durant l'embaràs s'associa amb deficiències en el llenguatge, l'atenció, les àrees de funcionament cognitiu i la conducta delictiva en els fills, fins a l'adolescència.



Figura 13: Tabac

Exigen discusión sobre tabaquismo y obesidad en próxima legislatura

2.2.1. Teratogènia

La teratogènia és la capacitat de produir malformacions. Es diu que una infecció, droga o producte és teratogènic quan és capaç de produir les malformacions.

Les malformacions són importants per la seva freqüència (5% dels nascuts), mortalitat (quarta causa en la infància) i morbiditat.

Agents Externs

Els agents externs, que poden ser tant físics com químics com infecciosos, són els anomenats teratògens, que actuen sobre els gens alterant el desenvolupament de l'organisme que s'està gestant. Poden provocar una embriopatia o una fetopatia:

- Agents físics: són mecànics (compressió per brides amniòtiques), tèrmics o radiacions ionitzants (malformacions després de bombes atòmiques).
- Agents químics: la talidomida, els antineoplàstics, els antiinflamatoris antiprostaglandínics (focomelias), esteroides, alguns antibiòtics (anomalies dentàries per tetraciclins), sulfamides, vitamines (estenosi per hipervitaminosi D)...

Infeccions: rubèola (embriopatia rubeòlica: catarates, sordesa, cardiopatia congènita), toxoplasmosi (fetopatia amb afectació cerebral i ocular), SIDA, varicel·la, citomegalovirus (microcefàlia, calcificacions cerebrals, ceguesa, corioretinitis, hepatosplenomegàlia), herpes (microcefàlia, microftàlmia, displàsia retinina, hepatosplenomegàlia, retard mental), xarampió, parotiditis, hepatitis, poliomielitis, varicel·la, ECHO, coxsackie.



Figura 14: Teratogènia

1 teratogenia y anomalias

- **Agents Químics**

La talidomida és un fàrmac teratogènic (provoca malformacions congènites), que va ser receptat entre els anys 1956 i 1963 com a sedant i com a calmant de les nàusees durant els tres primers mesos de l'embaràs.

Aquest medicament va provocar milers de naixements de nadons afectats de *dysmelia*, naixien sense braços, sense cames o sense braços ni cames.



Figura 15: Talidomida

Grünenthal pide perdón por la tragedia de la Talidomida: una triste historia

La talidomida afectava al fetus de dues maneres: encara que la mare prengués el medicament directament com a sedant o que el pare el prengués, ja que la talidomida afecta a l'esperma i transmet els efectes nocius ja en el moment de la concepció. Espanya no va retirar aquest medicament fins el 1963, després de comprovar els seus efectes.

“una de les majors tragèdies mèdiques dels temps moderns”



Figura 16: Home afectat per la talidomida

Eurodiputados instan a España a indemnizar a víctimas de la talidomida

L'Etiologia endògena és produïda per una anomalia genètica que afecta tot un cromosoma o només a un o diversos gens.

Les anomalies cromosòmiques són numèriques o estructurals. Entre les numèriques hi ha les trisomies (triplicacions de cromosomes, com la síndrome de Down o trisomia del cromosoma 21) i les monosomies (absència d'un cromosoma d'una parella, absència d'un cromosoma X en la síndrome de Turner).

Anomalies cromosòmiques estructurals són les delecions (pèrdua d'un fragment cromosòmic) i les translocacions (un fragment es deixa anar d'un cromosoma i s'adhereix a un altre).

Els gens anòmals (10% de les malformacions) poden ser dominants (apareix la malformació amb un sol gen patològic), recessius (malformació només si els dos gens, patern i matern, són malalts) o lligats al sexe (anomalies localitzades en el cromosoma X, no es manifesten en la femella perquè té un altre cromosoma X sa, es manifesten en el mascle perquè no té un altre cromosoma X).



3. PART PRÀCTICA

3. PART PRÀCTICA

Abans de començar amb l'explicació de la part pràctica i de com es va dur a terme aquesta investigació, cal recordar quin era l'objectiu i la hipòtesi d'aquest TR.

Com s'ha dit anteriorment en l'apartat 1.2. l'objectiu és estudiar el desenvolupament de la *Drosophila melanogaster* en diferents cultius de tabac, i poder respondre la hipòtesi plantejada a l'apartat 1.3. la qual és la mortalitat d'aquestes i els diferents efectes mutàgens que els hi pot provocar el medi de cultiu en el qual es reproduïen.

En la taula següent es detallen els diferents medis de cultiu:

Medi de cultiu	Nombre de cigarretes	Nombre de rèpliques
Grup control	0 cigarretes	12 pots
F	15 cigarretes	12 pots
F+	30 cigarretes	12 pots
F++	45 cigarretes	12 pots

Taula 1: Diferents medis de cultius.

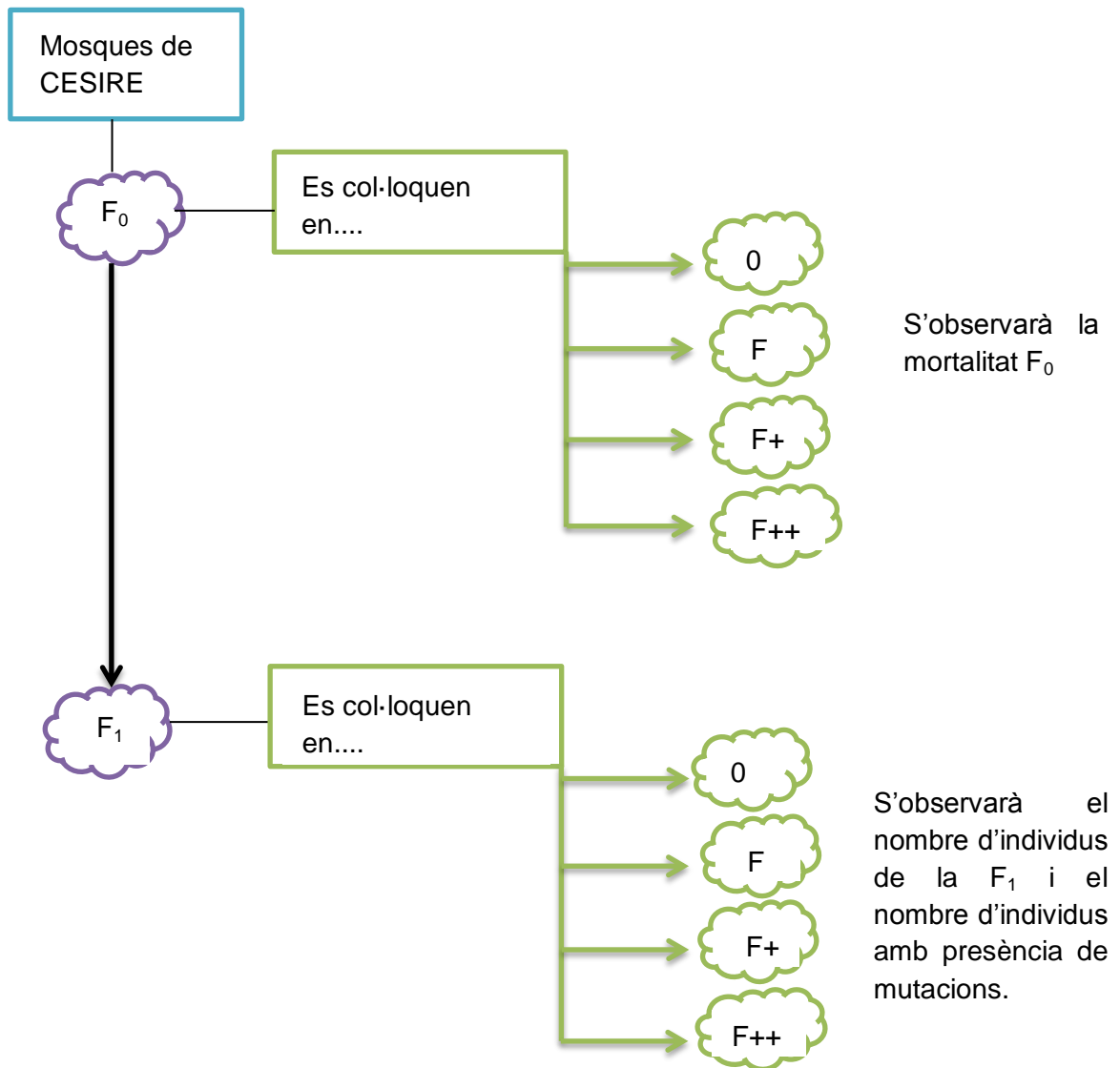
Com s'ha dit en la part teòrica, en el punt 2.1.2. les drosòfiles tenen un cicle vital de 9-10 dies, per aquest motiu s'aniran observant cada setmana.

Es farà un recompte de la mortalitat de F_0 , i s'observaran els efectes mutàgens de les mosques en la generació F_1 .

S'estima que la hipòtesi plantejada sigui afirmativa, per tant, que la quantitat de mosques anòmales augmenti a mesura que el tabac també ho fa. I que també ha mesura que el tabac augmenti la mortalitat de les mosques també ho faci:

- A més tabac augmenta la mortalitat de F_0
- A més tabac disminueix la natalitat (nombre F_1)
- A més tabac augmenta la presència de mutacions a F_1

El següent esquema aclarirà la investigació que es vol dur a terme:



Un cop tenint clars els conceptes ja es pot passar a l'explicació del material i del mètode.

3.1. Material

En aquest apartat citaré tots els materials necessaris per dur a terme aquesta investigació. Aquests seran els diferents aspectes a dir sobre el material utilitzat:

1. Preparació de les infusions
2. Preparació de les farinetes
3. Preparació dels pots
4. Col·locació de la *Drosophila melanogaster*

3.1.1. Preparació de les infusions



Figura 17: Preparació de les infusions.

FONT PRÒPIA



Figura 18: Preparació de les infusions.

FONT PRÒPIA

- **90 cigarretes.**
- **1.2L d'aigua de l'aixeta.**
- **4 ampolles d'aigua d'1.5L de capacitat:** les he utilitzat com a recipients per infusonar les cigarretes en l'aigua.
- **Recipient mesurador:** s'ha utilitzat per mesurar les quantitats d'aigua que feia falta per posar a les infusions.
- **Microones:** s'ha utilitzat per escalfar l'aigua a 100°C durant 150s.
- **Got de vidre:** per posar-ho dins el microones amb l'aigua.
- **Permanent:** s'ha utilitzar per col·locar a cada ampolla d'aigua quin nombre de cigarretes contenia i per marcar el grup control.

10 dies més tard després de fer les infusions:

- **Colador:** s'ha utilitzat per filtrar les infusions i que les restes de tabac es quedessin al colador.
- **Embut:** s'ha utilitzat per introduir les infusions en unes altres ampolles d'aigua.
- **4 ampolles d'aigua d'1.5L de capacitat:** s'han utilitzat per col·locar les infusions un cop que ja han estat passades pel colador.
- **Permanent:** s'ha utilitzat per col·locar a cada ampolla d'aigua quin nombre de cigarretes contenia i per marcar el grup control (0 cigarretes).



Figura 19: Infusions de tabac.

FONT PRÒPIA

3.1.2. Preparació de les farinetes

Les quantitats d'ingredients han estat pesades per preparar 48 pots de vidre.

Ingredients:

- 300mL d'aigua de l'aixeta.
- 300mL d'aigua infusionada amb 15 cigarretes.
- 300mL d'aigua infusionada amb 30 cigarretes.
- 300mL d'aigua infusionada amb 45 cigarretes.
- Una mica d'aigua destil·lada (s'explicarà en el mètode on es va fer servir).
- 4 cullerades de sucre (1 cullerada per a cada farineta).
- 182g de farina de blat (45.5 g per a cada farineta).
- 11.2g d'agar (2.8g per a cada farineta).
- 1.8g de nipagin (metil-4-hidroxibenzoat ($C_8H_8O_3$)) (0.45g per a cada farineta).
- 20mL d'etanol absolut ($CH_3-CH_2-CH_3$) (5mL per a cada farineta).



Figura 20: Preparació de les farinetes.

FONT PRÒPIA

Instrumental:

- **Balança electrònica:** s'ha utilitzat per pesar la farina de blat i l'agar.
- **Balança de dos plats:** s'ha utilitzat per pesar el nipagin.
- **Paper:** s'ha utilitzat per deixar els tres ingredients mesurats anteriorment durant uns dies.
- **4 provetes de 250mL de capacitat:** s'han utilitzat per mesurar els volums de l'aigua i les infusions de les cigarretes.
- **4 provetes de 10mL de capacitat:** s'han utilitzat per mesurar el volum d'etanol absolut.
- **3 espàtules:** per poder obtenir les quantitats de farina de blat, agar i nipagin necessàries.
- **4 vasos de precipitats de 100mL de capacitat:** s'han utilitzats per barrejar el nipagin amb l'etanol absolut.
- **8 vasos de precipitats de 250mL:** s'han utilitzat per barrejar, per una banda la infusió amb una mica d'aigua destil·lada o aigua, amb l'agar i el sucre; i per altra banda, la infusió amb una mica d'aigua destil·lada o aigua amb la farina de blat.
- **2 varetes de vidre:** per barrejar les mescles que s'han fet en els vasos de precipitats.
- **Drap:** per subjectar els vasos de precipitats quan estaven calents.
- **Bec Bunsen:** s'ha utilitzat per escalfar la mescla.



Figura 21: Preparació de les farinetes.

FONT PRÒPIA

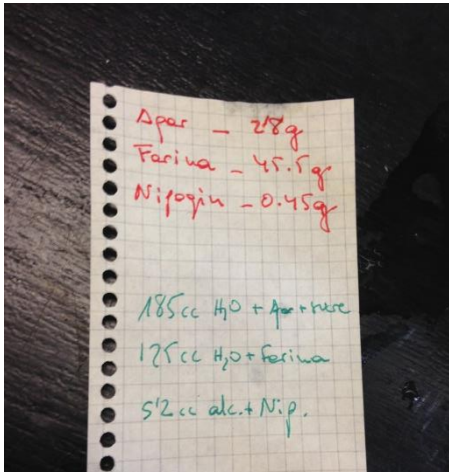


Figura 22: Ingredients per a la preparació de les farinetes.

FONT PRÒPIA



Figura 23: 48 pots minuts abans de posar les farinetes.

FONT PRÒPIA

3.1.3. Preparació del cultiu

- **48 pots de vidre (24 pots petits i 24 pots grans):** s'han utilitzar per poder contenir la *Drosophila melanogaster* i anar-les estudiant al llarg del seu procés.
- **Farinetes:** preparades anteriorment, com aliment per les mosques quan s'utilitzen en camps d'investigació.
- **48 taps d'escuma:** s'han utilitzats per tancar els pots de vidre i que les mosques no surtin.
- **48 trossos de paper en forma d'acordió:** s'han utilitzat per introduir-los en els pots de vidre perquè les mosques puguin fer la metamorfosi en un lloc sec.



Figura 24: Pots de vidre amb la farineta i el llevat fresc esmicolat.

FONT PRÒPIA

- **48 trossos de paper en forma de paperina:** s'han utilitzar per col·locar les mosques adormides amb l'èter, perquè sinó haguessin caigut a la farineta i al despertar-se s'haguessin mort.
- **1 pastilla de llevat fresc:** com a cultiu i aliment de les mosques dins el pot.
- **Placa de Petri:** s'ha utilitzat per esmicolar el llevat fresc.
- **Navalla:** per esmicolar el llevat fresc en la placa de Petri.



Figura 25: Pot de vidre amb el llevat i l'acordió.

FONT PRÒPIA



Figura 26: Pots amb les farinetes.

FONT PRÒPIA



Figura 27: Col·locació del llevat fresc en les farinetes.

FONT PRÒPIA

3.1.4 Col·locació de la *Drosophila melanogaster*

- **Taula de suro:** s'ha utilitzat per picar els pots de vidre, perquè així no es trenquin.
- **2 pots de vidre buits:** s'han utilitzat per treure les mosques dels seus cultius amb l'objectiu de poder-les observar.
- **4 esponges de cotó:** s'han utilitzat per impregnar-les de dietil èter per adormir les mosques.
- **Dietil èter:** ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_3$) s'ha utilitzat com a sedant per adormir a les mosques amb la finalitat de manipular-les, observar els seus canvis o mutacions i poder-les comptar. Si deixem les mosques amb aquest compost químic més de 5 minuts pot arribar a matar a les mosques.
- **Paper blanc:** s'ha utilitzat per col·locar les mosques, un cop adormides, per poder-les comptar.



Figura 28: Taula del laboratori durant la investigació.

FONT PRÒPIA

- **1 tros de paper:** s'ha utilitzat per poder moure les mosques pel paper blanc quan s'estaven comptant.
- **Lupa:** s'ha utilitzat per poder observar millor les mosques, tan alhora de diferenciar-les entre mascles i femelles com per mirar si tenien alguna mutació.
- **10 pots de *Drosophila melanogaster* salvatge:** vaig començar necessitant 282 exemplars. Les mosques me les va proporcionar CESIRE per poder començar amb la meva investigació.



Figura 29: Pots que em va proporcionar CESIRE.

FONT PRÒPIA



CESIRE: El CERES s'encarrega de l'Àmbit Social i Cultural del CESIRE i col·labora estretament amb l'Arxiu Nacional de Catalunya en el manteniment del Servei Didàctic d'aquesta institució.

Figura 30: Lloc on vaig anar a recollir els pots de les mosques.

FONT PRÒPIA

3.2. Mètode

En aquesta part del Treball de Recerca s'explicarà tot els passos anteriors a l'obtenció dels resultats finals.

3.2.1. Fase: $F_0 \rightarrow F_1$

Un cop preparats els cultius amb les diferents dosis de tabac, respectivament, es creuaran individus de *Drosophila melanogaster* salvatge provinents de CESIRE, generació a la qual he anomenat F_0 , i els col·locaré en quatre medis de cultius diferent, segons els medi de cultiu poden estar:

1. **0 cigarretes:** sense tòxics de tabac, és a dir, amb aigua de l'aixeta. Aquest l'he anomenat el medi de control 0 o grup control. D'aquest medi es prepararan 12 rèpliques, és a dir, es prepararan 12 pots.
2. **15 cigarretes:** amb una infusió de 15 burilles de cigarretes de tabac. Aquest és el medi F. D'aquest medi es prepararan 12 rèpliques, és a dir, es prepararan 12 pots.
3. **30 cigarretes:** amb una infusió de 30 burilles de cigarretes de tabac. Aquest és el medi F+. D'aquest medi es prepararan 12 rèpliques, és a dir, es prepararan 12 pots.
4. **45 cigarretes:** amb una infusió de 45 burilles de cigarretes de tabac. Aquest és el medi F++. D'aquest medi es prepararan 12 rèpliques, és a dir, es prepararan 12 pots.

Un cop transcorreguts uns 9-10 dies, temps que durà el cicle de la *Drosophila melanogaster*, s'observarà la generació F_1 (els descendents de F_0), per poder determinar alguns resultats i començar a donar conclusions sobre aquesta part de la investigació i dir si la nostra hipòtesi era o no correcta.

Cal recordar que la nostra hipòtesi és: a més quantitat de tabac hi haurà més mosques anòmales, i també menys índex de supervivència de F_0 .

A continuació s'explicarà quin va ser el procediment o els passos que vaig seguir per la preparació de les infusions i de les farinetes (aliment de la *Drosophila melanogaster*).

3.2.1.1. Preparació de les infusions

Per a poder realitzar aquesta investigació en *Drosophila melanogaster* vaig haver de fer unes infusions amb diverses quantitats de la combustió del tabac.

Però aquest treball està basat en dues investigacions prèvies a aquest, aleshores vaig parlar amb l'Adrià Martos, quines quantitats va utilitzar ell i quin tipus de cigarretes va utilitzar, per poder fer una altra investigació en aquest camp.

Les infusions les vaig fer el dia 1 de setembre del 2016, i les vaig tenir en repòs fins el dia 10 de setembre del 2016. Les infusions van estar fetes a casa.

Primerament, abans de començar a fer les infusions vaig preparar tot el material necessari per poder-les fer; on aquest material està citat en el punt 3.1.1. (material). Un cop que el material ja està preparat podem començar amb la seva elaboració. Tot seguit, vaig agafar les quatre ampolles d'aigua 1.5L i els hi vaig escriure amb el permanent, el nombre de cigarretes que anaven a contenir en el seu interior. A continuació, es van agafar les cigarretes cremades i es van separar en tres grups (15-30-45 cigarretes), no vaig extreure cap filtre de la cigarreta les vaig col·locar dins les ampolles sense cap tipus de canvi.



Figura 31: Primer pas de les infusions.

FONT PRÒPIA

Tot seguit, vaig introduir 300mL (mesurats amb un pot de cuina, semblant a un vas de precipitats) d'aigua de l'aixeta, a 300 vats durant 3 minuts al microones escalfada amb el microones, dins de cadscuna de les ampolles. Un cop l'aigua introduïda s'ha de deixar durant 3-4 dies a temperatura ambient (20°C-22°C aprox.) i 6-7 dies dins la nevera a 4°C.

Un cop transcorreguts 10 dies, després d'haver fet les infusions ha arribat el moment de colar-les per extreure'n la brossa i només quedar-nos amb el líquid, què és el necessari per poder passar a fer les farinetes.

Primerament, es van tornar agafar 4 ampolles d'1.5L, i es van tornar a escriure, amb el permanent, la quantitat de cigarretes que contindrien en el seu interior. Seguidament, es va agafar un colador i un embut per filtrar les infusions, és a dir, es van extreure els residus sòlids de l'aigua infusionada, de manera que només ens quedessin amb les dissolucions del tabac, i col·locar cadascuna a l'ampolla buida corresponent.

I el resultat de les dissolucions va ser com es mostra en la figura 32:



Figura 32: Dissolucions de tabac.

FONT PRÒPIA

Un cop ja tinguem les dissolucions, les tornarem a posar a la nevera fins el dia que es facin les farinetes.

3.2.1.2. Preparació de les farinetes

Un cop llestes les infusions podem prosseguir amb la preparació de les farinetes, l'aliment dels individus d'estudi, en aquest cas, la *Drosophila melanogaster*.

Primerament, abans de començar amb la seva elaboració es va organitzar tot el material dit en el punt 3.1.2. (material), i es va deixar sobre la taula del laboratori de l'escola.

Amb aquestes farinetes vam poder omplir els 48 pots, per dur a terme la investigació.

Primerament, es va pesar, amb una balança electrònica, els 45.5g de farina corresponents per cadascuna de les farinetes; amb aquesta mateixa balança, també es van pesar els 2.8g d'agar quatre vegades. I amb una balança de dos plats es va pesar els 0.45g de nipagen quatre vegades.

Un cop, aquests ingredients mesurats, ja ens podem posar amb les farinetes.

Es va abocar el grup control en una proveta de 250mL de capacitat. I es va repetir el mateix procediment amb les dissolucions de tabac: F, F+ i F++.



Figura 33: Balança electrònica amb l'agar.

FONT PRÒPIA

Un cop tots els ingredients eren llestos, es va procedir a la seva barreja amb el fi d'obtenir les farinetes. Es van preparar 3 vasos de precipitats: dos de 250mL i un altre de 50mL, i dues varetes de vidre per barrejar la mescla.

Tot seguit, en el vas de precipitats de 250mL s'introdueix els 100mL d'aigua, els 2.8g d'agar i una cullerada de sucre; i tot això es comença a escalfar sobre un Bec Bunsen, com es pot observar en la figura 34; sense deixar de remenar la mescla un cop el foc encès.

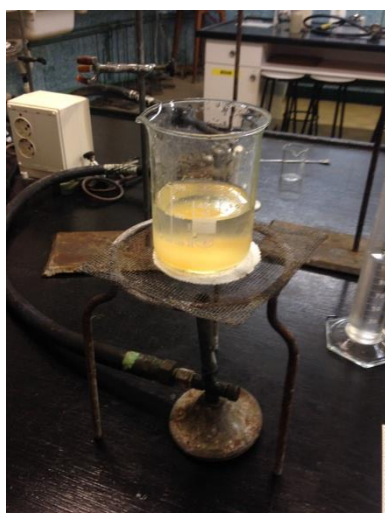


Figura 34: Primer pas de la preparació de les farinetes.

FONT PRÒPIA

Mentre la mescla s'anava escalfant, en el vas de precipitats de 250mL s'hi va abocar una mica de l'aigua que no s'havia introduït en la mescla anterior amb la farina. Un cop que s'ha obtingut una mescla homogènia de la segona mescla que s'ha realitzat, s'introdueix a la mescla inicial que estàvem escalfant en el Bec Bunsen, fins a tornar a obtenir una mescla homogènia.

Es va reservar una mica d'aigua per recollir qualsevol resta de la pasta de la farina que hagués pogut quedar en el vas de precipitats.

Mentre, en un vas de precipitats de 50mL, es va introduir 5mL d'etanol absolut (mesurats, prèviament, amb una proveta de 10mL de capacitat) i 0.45g de nipagin. Es va remoure amb moviments de mà i de seguida, es va abocar al vas de precipitats amb la mescla principal.

El nipagin evitava la proliferació de microorganismes de la farineta, impedia que la farineta florís.

Figura 37: En el laboratori de l'escola fent les farinetes.

FONT PRÒPIA



En el moment en què la farineta va començar a espessar-se, es va retirar del Bec Bunsen amb l'ajut d'una tovallola per no cremar-se.

Prèviament, es van col·locar els 12 pots en fila per què fos més fàcil col·locar les farinetes.

Es va anar abocant una mica de farineta a cada pot, i es van deixar secar durant 24h.

Com ja s'ha esmentat anteriorment, aquest procediment es va repetir tres vegades més canviant l'aigua per les dissolucions de tabac infusionat: F, F+ i F++.

Un cop fetes es van tapar amb taps d'escuma.



Figura 38: Moments previs a introduir les farinetes.

FONT PRÒPIA

3.2.1.3. $F_0 \rightarrow F_1$

A l'endemà d'haver preparat les farinetes es va procedir a la preparació dels pots per la introducció de les mosques F_0 en el seu interior.

Es van col·locar un dia més tard de la preparació de les farinetes, perquè aquestes es refredessin i quedessin sòlides.

Prèviament, a la col·locació de les drosòfiles dins els pots, es van tenir que acondicionar els pots perquè aquestes es poguessin reproduir amb més facilitat. Per això es van seguir uns passos:

Col·locació de les mosques en els pots:

Primerament, es van retirar els taps d'escuma de tots els pots. Seguidament, amb un tros de paper es va eixugar l'aigua que havia quedat en el seu interior. Un cop aquest pas llest, es va procedir a triturar una pastilla de llevat fresc en una placa de Petri amb l'ajut d'una navalla.

El llevat fa fermentar la farina perquè les mosques s'alimentin. Es va col·locar mitja culleradeta de cafè de llevat a l'interior dels 48 pots.



Figura 39: Llevat dins les farinetes.

FONT PRÒPIA



Figura 40: Col·locació del llevat dins les farinetes.

FONT PRÒPIA

Tot seguit, s'hi va afegir un tros de paper en forma d'acordió per a cada pot, perquè les mosques poguessin subjectar-se durant la seva metamorfosi.



Figura 41: Pots amb el cultiu de tabac.

FONT PRÒPIA

A continuació, amb un tros de paper més petit s'hi va fer una paperina per col·locar les mosques dormides en l'interior del pot i no s'enganxessin amb la farineta.

Un cop aquests passos estaven fets, es va procedir a la col·locació de les mosques F_0 , proporcionades per CESIRE. La generació F_0 va estar durant 3-5 dies a l'estufa del laboratori de l'escola perquè es reproduïssin amb més rapidesa, ja que en el TR anterior van tenir problemes amb la quantitat de mosques, que eren insuficients. I van haver de posar la F_0 en dies diferents; en resum, s'han posat en l'estufa per assegurar-nos que es tenien suficients mosques.

Per poder col·locar les mosques en els pots, cal adormir-les amb dietil èter per poder manipular-les amb facilitat.

En l'interior de cada pot es va col·locar 1 femella i 3 mascles, ja que es volia veure quantes mosques naixien per femella i d'aquesta manera poder veure el seu índex de supervivència dins de cada tipus de cultiu.



Figura 42: Separant els mascles de les femelles.

FONT PRÒPIA

Per a poder dormir les mosques s'ha de seguir un protocol:

Primerament, s'ha d'organitzar tot el material dit en l'apartat 3.1.4..

Després, s'han de mullar les esponges de cotó amb el compost químic, dietil èter. Tot seguit, s'agafa un dels pots i se li dona cops contra una tauleta de suro perquè les mosques baixin al fons del pot, i al retirar el tap d'escuma no puguin sortir volant. Sense parar de donar cops col·loquem a la part superior del pot un altre pot, però buit i girant-lo.

En aquest moment, es pot deixar de donar cops; però tot seguit s'ha de tornar a donar cops perquè les mosques passin al pot buit, i un cop que estaven totes es pot retirar el pot que conté la farineta i seguir donant cops fins col·locar l'esponja amb el dietil èter. I a l'altre pot ràpidament tornar a col·locar el tap per si s'hagués quedat alguna que no surtis volant.

En les figures següents es mostra tot el procés:



Esponges amb dietil èter.

Figura 43: Donant cops contra la tauleta de suro.

FONT PRÒPIA



Figura 44: Traspàs de les mosques.

FONT PRÒPIA



Figura 45: Mosques adormint-se.

FONT PRÒPIA

Les mosques amb el cotó de dietil èter massa temps podria arribar a matar-les, per tant, s'ha de vigilar el temps que està el cotó que és de 5 minuts.

Un cop transcorreguts els 5 minuts, s'escampen les mosques en un paper blanc, per poder observar-les amb facilitat i, poder distingir els mascles de les femelles amb l'ajut d'una lupa. I al col·locar-les dins del pot es fan posar dins d'una paperina perquè no morin o quedin enganxades a la farineta, ja que a l'estar adormides no podien volar.

Una vegada que els pots ja eren llestos es deixen reposar durant 7 dies aproximadament.

Un cop transcorregut aquest temps, es va passar a l'extracció dels individus adults F_0 , ja que ja havien tingut els encreuaments i havien deixat ous, generació F_1 . Per treure la F_0 dels pots es segueix el procediment d'adormir les mosques, explicat anteriorment.

Un cop que ja estan al paper blanc es compta quantes han sobreviscut, i d'aquesta manera podem començar a estudiar la mortalitat de les drosòfiles.



Figura 46: Pot amb F_1 , després de treure F_0 .

FONT PRÒPIA

Una setmana més tard d'haver extret F_0 dels 48 pots, toca extreure F_1 i observar-les, per poder-les observar s'ha de tornar a seguir el protocol explicat prèviament.

Per poder comptar les mosques de la generació F_1 , es va fer amb un tros de paper blanc que servia per poder separar-les (sempre sobre un paper blanc). Un cop comptades les mosques d'un pot, es passava a mirar si alguna d'elles havia tingut un efecte mutagen, i així poder respondre a la nostra hipòtesi plantejada al punt 1.3., per poder veure els efectes mutàgens es va fer per mitjà d'una lupa, per poder-ho veure amb més facilitat.



Figura 47 i 48: Recompte de F_1 .

FONT PRÒPIA

I repetir aquest procediment en els 48 pots.

Un cop realitzada la investigació plantejada, la part pràctica del TR ja era finalitzada.

Però les mosques encara eren dins dels pots, aleshores es va procedir a posar-les una sobredosi de dietil èter per matar-les i llençar-les dins de les escombraries.



Figura 49: Mosques amb sobredosi.

FONT PRÒPIA

Amb els pots, es va retirar el paper en forma d'acordió i la paperina amb l'ajut d'unes pinces i la farineta es va retirar amb l'ajut d'una espàtula, i tot seguit van passar a ser rentats per extreure'n la farineta que no havia acabat de marxar i algun residu sòlid, netejant-los amb aigua i sabó amb l'ajut d'una escombreta, i després deixant-los assecar.



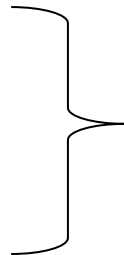
Figura 50: Llençant la farineta a la brossa.

FONT PRÒPIA

En resum:

S'han preparat 48 pots:

- 12 sense tabac
- 12 amb 15 cigarretes
- 12 amb 30 cigarretes
- 12 amb 45 cigarretes



3 mascles i 1 femella per pot (F_0)



Descendents (F_1)

Esperem que, el cultiu de farineta constituïda per 45 cigarretes neixin més mosques anòmales que en els altres tipus de cultiu, per tant, que les mosques tinguin algun efecte mutagen.

També s'espera que en els 12 pots de 45 cigarretes, l'índex de supervivència sigui inferior als altres 36 pots.

Per tant, la nostra hipòtesi seria certa, ja que a més quantitat de tabac, més mortalitat i més mosques anòmales.



4.RESULTATS

4. RESULTATS

En aquest punt del Treball de Recerca és mostraran les dades obtingudes durant el procés de l'experimentació, dels diferents tipus de cultiu, amb la *Drosophila melanogaster*.

Els resultats es mostraran en cadascun dels pots de cada tipus de cultiu, i fent la mitjana d'aquests resultats amb els altres cultius.

4.1. Supervivència de F₀

En aquest punt es mostrarà una taula, una de cada tipus de cultiu, on es veuran els resultats obtinguts durant la primera setmana de la investigació amb les drosòfiles.

Cal recordar, que primerament, s'hi van col·locar 3 mascles i 1 femella per pot, a tots els tipus de cultius.

Medi de cultiu: 0 (grup control)

Número de pot	Inicialment		Després de 7 dies...	
	Mascles	Femelles	Mascles	Femelles
1	3	1	2	0
2	3	1	3	1
3	3	1	2	1
4	3	1	3	1
5	3	1	2	1
6	3	1	3	1
7	3	1	2	1
8	3	1	2	1
9	3	1	2	1
10	3	1	1	1
11	3	1	2	1
12	3	1	3	1

Nº total de mascles: 27/36
(84.4% supervivents)

Nº total de femelles: 11/12
(91.6% supervivents)

Taula 2: Medi de cultiu 0.

Medi de cultiu: F (15 cigarretes)

Número de pot	Inicialment		Després de 7 dies...	
	Mascles	Femelles	Mascles	Femelles
1	3	1	1	1
2	3	1	3	1
3	3	1	3	1
4	3	1	2	0
5	3	1	3	0
6	3	1	2	1
7	3	1	1	1
8	3	1	2	1
9	3	1	3	1
10	3	1	3	1
11	3	1	2	1
12	3	1	3	1

Nº total de mascles: 28/36
(87.5% supervivents)

Nº total de femelles: 10/12
(83.3% supervivents)

Taula 3: Medi de cultiu F.

Medi de cultiu: F+ (30 cigarretes)

Número de pot	Inicialment		Després de 7 dies...	
	Mascles	Femelles	Mascles	Femelles
1	3	1	3	1
2	3	1	3	1
3	3	1	3	0
4	3	1	2	1
5	3	1	2	0
6	3	1	3	1
7	3	1	3	0
8	3	1	2	1
9	3	1	2	1
10	3	1	3	0
11	3	1	3	1
12	3	1	3	1

Nº total de mascles: 32/36
(90.6% supervivents)

Nº total de femelles: 8/12
(66.6% supervivents)

Taula 4: Medi de cultiu F+.

Medi de cultiu: F++ (45 cigarretes)

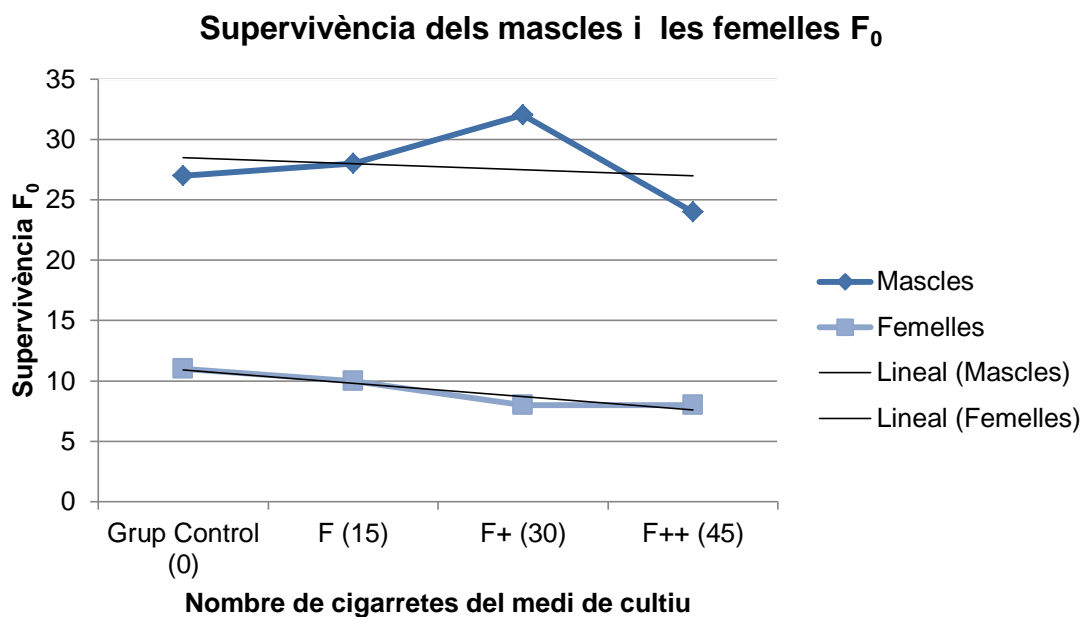
Número de pot	Inicialment		Després de 7 dies...	
	Mascles	Femelles	Mascles	Femelles
1	3	1	2	1
2	3	1	2	0
3	3	1	2	1
4	3	1	3	1
5	3	1	3	1
6	3	1	2	0
7	3	1	2	1
8	3	1	2	0
9	3	1	2	1
10	3	1	1	1
11	3	1	1	1
12	3	1	2	0

Nº total de mascles: 24/36
(75% supervivents)

Nº total de femelles: 8/12
(66.6% supervivents)

Taula 5: Medi de cultiu F++.

A continuació, els resultats es mostraran en una gràfica, per poder-ho veure amb més claredat:



Gràfic 1: Supervivència dels mascles i les femelles F_0 .

Podem dir que els resultats obtinguts en la supervivència de la F_0 eren els resultats que ens esperàvem, i per tant, concorden amb la nostra hipòtesi.



Figura 51: Mosques provinents de CESIRE, moments abans de col·locar-les als pots.

4.2. Descendència filial F_1 , per femella progenitora

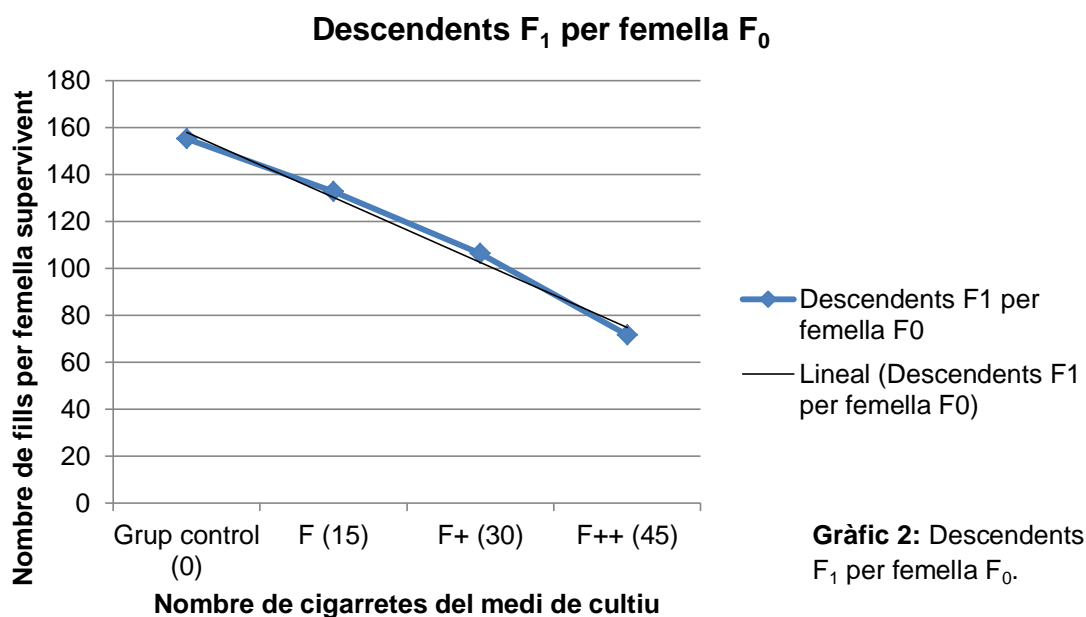
En la taula següent es mostra, per tipus de medi, el nombre d'individus F_1 que s'han generat en l'encreuament de F_0 .

En el punt 4.3.1 es pot trobar quatre taules semblants a l'anterior, però amb molta més informació, és a dir, més ampliades.

Tipus de medi	Nombre de pots	♀ vives a la 2 ^a setmana	$F_1/\text{♀}$ a les 2 setmanes	$F_1/\text{♀}$ viva al final
Grup control	12 pots	11	1706	155,09
F	12 pots	10	1326	132,60
F+	12 pots	8	850	106,25
F++	12 pots	8	572	71,50

Taula 6: Descendència filial F_1 .

Com es pot observar, en la taula anterior, el nombre d'individus obtinguts F_1 és bastant elevat; aquests nombres són deguts a la quantitat de pots que hi havia de cada medi de cultiu.



En aquesta gràfica es pot veure el dit anteriorment, que a mesura que les dosis de cigarretes augmenten, la descendència d'individus F_1 disminueix.

4.3. Mutacions dels individus F₁

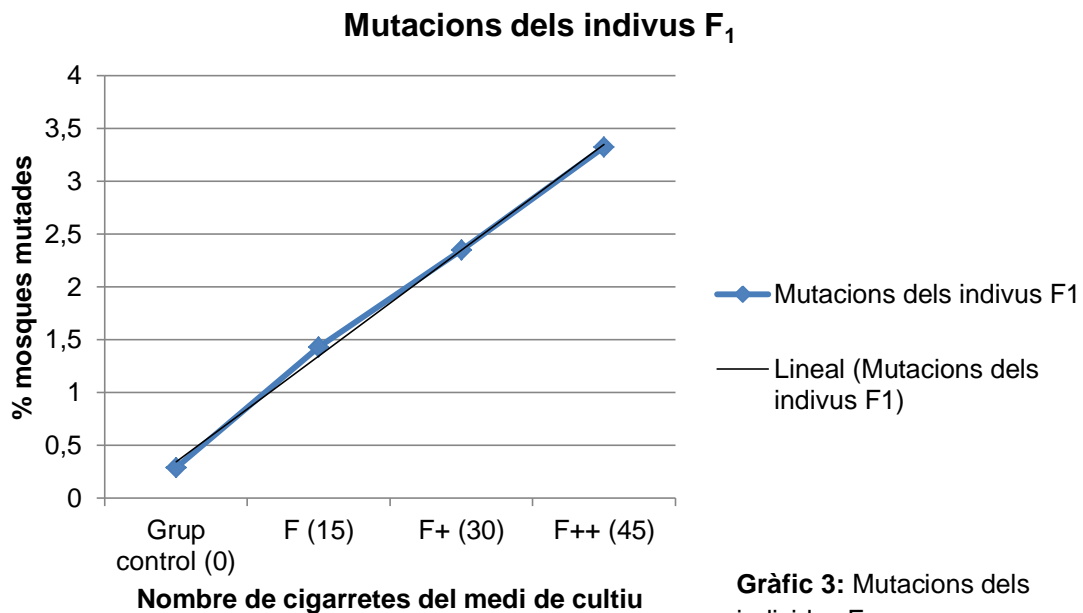
En aquesta taula es mostra, per medis, el percentatge de les mosques anòmales o amb malformacions dels individus F₁, sobre els individus de la generació filial F₁.

Aquesta taula i el gràfic que es mostra posteriorment a la taula ens ajudaran a resoldre la nostra hipòtesi (a més tabac més efectes mutàgens).

Tipus de medi	Nombre de mosques anòmales F ₁	Nombre d'individus F ₁	% anòmales
Grup control	5	1706	0,29%
F	19	1326	1,43%
F+	20	850	2,35%
F++	19	572	3,32%

Taula 7: % mosques anòmales.

A continuació es mostra el gràfic, que juntament amb ell trobem la línia de tendència de les mutacions de la *Drosophila melanogaster*.



4.3.1. Tipus d'efectes mutàgens segons el medi de cultiu F₁

Les taules següents estan separades per medis de cultius, on es pot observar la natalitat dels individus de la generació F₁, també ens mostrarà les diferents mosques anòmales que han sorgit de cada medi de cultiu.

Medi de cultiu: grup control

Número de pot	Femelles finals	Descendents F ₁	Mosques anòmales	Efecte mutagen
1	0	9	0	
2	1	105	3	2-curly wings 1-vestigial wings
3	1	154	0	
4	1	169	0	
5	1	0	0	
6	1	213	0	
7	1	203	0	
8	1	229	0	
9	1	199	1	1-yellow
10	1	85	0	
11	1	140	0	
12	1	200	1	1-ales "estranyes"

Taula 8: Medi de cultiu 0.

Medi de cultiu: F

Número de pot	Femelles finals	Descendents F ₁	Mosques anòmales	Efecte mutagen
1	1	108	1	1-antennapedia
2	1	77	1	1-vestigial wings
3	1	159	3	1-vestigial wings 1-antennapedia 1-ebony body
4	0	0	0	
5	0	49	4	3-antennapedia 1-vestigial wings
6	1	133	0	
7	1	103	0	
8	1	178	1	1-antennapedia
9	1	0	0	
10	1	179	2	2-curly wings
11	1	140	3	1-antennapedia 2-vestigial wings
12	1	200	4	4-antennapedia

Taula 9: Medi de cultiu F.

Medi de cultiu: F+

Número de pot	Femelles finals	Descendents F ₁	Mosques anòmales	Efecte mutagen
1	1	24	1	1-vestigial wings
2	1	123	3	2-vestigial wings 1-antennapedia
3	0	20	2	2-antennapedia
4	1	111	3	1-yellow 1-ebony body 1-vestigial wings
5	0	0	0	
6	1	150	4	2-antennapedia 1-vestigial wings 1-yellow
7	0	135	2	2-ebony body
8	1	55	1	1-vestigial wings
9	1	0	0	
10	0	45	0	
11	1	81	2	1-antennapedia 1-ebony body
12	1	106	1	1-vestigial wings

Taula 10: Medi de cultiu F+.

Medi de cultiu: F++

Número de pot	Femelles finals	Descendents F ₁	Mosques anòmales	Efecte mutagen
1	1	39	2	1-curly wing 1-vestigial wing
2	0	22	2	2-antennapedia
3	1	52	1	1-vestigial wings
4	1	108	5	4-antennapedia 1-yellow
5	1	50	2	2-yellow
6	0	1	0	
7	1	16	2	2-ebony body
8	0	0	0	
9	1	31	1	1-curly wings
10	1	128	0	
11	1	125	4	2-antennapedia 1-ebony body 1-vestigial wings
12	0	0	0	

Taula 11: Medi de cultiu F++.

4.3.2. Efectes mutàgens (imatges)

A continuació, es mostraran unes imatges de les drosòfiles anòmales que es van poder fotografiar el mateix dia, que es comptaven el nombre d'individus F_1 de cada pot i medi corresponent.

Malformació: “Curly wings”

Aquesta malformació no es de les més observada en la nostra investigació. Com el seu nom indica, les ales de la drosòfila es troben recargolades.

És un tipus de mutació que es troba en el gen del cromosoma 2; l'al·lel que determina l'anomalia és dominant, és a dir, només que un dels dos tingui aquest al·lel serà el que s'expressi en la seva descendència.

En aquest tipus d'anomalia les ales es troben mirant cap a dalt, com es pot veure en la imatge.



Figura 52: Femella *curly wings* generació F_1 .

FONT PRÒPIA



Figura 53: Mascle *curly wings*.

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Malformació: “Vestigial wings”

Aquesta malformació és de les més observades en aquesta investigació juntament amb la *antennapedia*.

Com el seu nom indica, aquesta malformació afecta a les ales, és a dir, les ales són molt més petites, fosques i arrugades. Les ales no es troben en paral·lel al cos, sinó que es troben als costats.

Les ales estan tan deformades que les mosques no poden volar.

Aquest al·lel es troba en un gen del cromosoma 2, però és un tipus d'al·lel recessiu, és a dir, dels dos al·lels (un de cada progenitor), que determinen aquesta mutació, han d'estar els dos alterats, perquè és pugui expressar aquesta mutació en el genotip.



Figura 54: Femella *vestigial wings* generació F₁.

FONT PRÒPIA



Figura 55: Mascle *vestigial wings*

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Malformació: “Antennapedia”

Aquesta malformació és una de les més trobades en la investigació.

Aquesta malformació es troba en el cap de les drosòfiles. És un gen HOM-C que controla la formació de les cames durant el desenvolupament. La pèrdua de funció de les mutacions a la regió reguladora d'aquest resultat de gens en el desenvolupament del segon parell de potes en ectòpic antenes. En contrast, les converteix en antenes a les cames ectòpics.



Figura 56: Femella *antennapedia* generació F₁.

FONT PRÒPIA



Figura 57: Femella *antennapedia*.

Handbook of Biological Statistics

Malformació: “Ebony body”

Aquesta malformació ha estat observada en alguns individus durant la investigació.

Es troba codificada en el gen *e* del cromosoma 3R. No afecta a la morfologia de les ales, sinó que afecta en el pigment de la pell, aquesta es torna d'un color molt fosc, quasibé negre.



Figura 58: Mascle *ebony body* generació F₁.

FONT PRÒPIA



Figura 59: Mascle *ebony body*.

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Malformació: “Yellow”

Aquesta malformació ha estat observada en alguns individus durant la investigació.

Aquesta malformació no afecta a la morfologia de les ales, sinó que ho fa en el pigment de la pell, aquesta es torna d'un color grogenc.



Figura 60: Femella *yellow* generació F₁.

FONT PRÒPIA



Figura 61: Femella *yellow*.

GETEG Universidad del Valle



5. CONCLUSIONS

5. CONCLUSIONS

Primerament, es pot afirmar que s'ha assolit l'objectiu d'aquest treball de recerca, continuar amb la investigació de la *Drosophila melanogaster* començada per l'Eva Pérez i seguida per l'Adrià Martos, observant la mortalitat i supervivència de les mosques i els diversos efectes mutàgens produïts pel tabac.

Aquest treball prové d'una hipòtesi inicial: els tòxics del tabac afecten el desenvolupament de les drosòfiles, per tant, a més quantitat de tabac, més mortalitat en F_0 i menys mosques a la F_1 .

- F_0 : mosques progenitores.
- F_1 : mosques descendents de F_0 .

Per tant, després d'haver fet les proves necessàries es va obtenir uns resultats els quals s'anomenaran pels tres indicadors (anomenats al 1.3.)

1. A mesura que la dosi de tabac augmenta en la seva dieta, la mortalitat de les femelles augmenta.
2. A mesura que la dosi de tabac augmenta, neixen menys fills per femella progenitora.
3. A mesura que hi ha més dosi de tabac en la seva alimentació, la quantitat de mosques, que neixen anòmales, augmenta.

Els tòxics del tabac afecten negativament a la *Drosophila melanogaster*, la qual cosa es podria extrapolar amb els humans.



Figura 62: Generació F_1 .

FONT PRÒPIA



6. AGRAÏMENTS

6. AGRAÏMENTS

Abans de res, m'agradaria donar-li les gràcies a l'Adrià Martos, ja que va ser qui em va parlar del seu TR i recordo que ho va explicar amb tanta passió que només sentir que podria haver-hi una altra continuació, vaig pensar que m'encantaria continuar a mi aquest TR que ja portava dos anys de duració.

Durant la realització del TR m'ha estat proporcionat tot l'ajut necessari ja que m'ha explicat com va dur ell a terme la seva investigació. Ha estat sempre allà donant-me consells. Com un model a seguir.

En segon lloc, m'agradaria donar-li les gràcies a la meva tutora del Treball de Recerca i professora de Biologia, Teresa Callao. Gràcies a ella he pogut tirar endavant aquest TR. M'ha donat suport en tot moment del transcurs d'aquest treball: m'ha ajudat a la realització de la meva investigació, s'ha preocupat per mi en tot moment, m'ha donat tranquil·litat en tot moment i sempre m'ha fet sentir que tot anava bé. També li vull donar les gràcies perquè algun dia s'ha quedat fins tard a l'escola perquè jo pogués estar fent la meva investigació i no tingués pressa en acabar-la.

Gràcies a ella i aquest TR he pogut concloure la meva motivació personal. Ara després d'aquest TR i d'estar treballant en el laboratori amb una investigació, m'ha obert els ulls a un món ampli de la ciència i investigació. En definitiva, és un treball que m'ha ajudat a resoldre dubtes del meu futur i m'ha fet veure un experiment diferent als que havia fet fins ara a l'escola, però he après que es necessita molta dedicació i paciència per a poder treballar en un laboratori.

En tercer lloc, m'agradaria donar-li les gràcies als meus amics; especialment, a l'Andrea Tuset, al Gerard Bargalló i a l'Alba Rodríguez. Ells han estat algun que altre dia amb mi al laboratori ajudant-me amb la realització de la meva investigació i sempre m'han estat donant suport moral i, preocupant-se per mi.

En quart lloc, voldria agrair a la meva família l'ajut moral que m'han donat en tot moment, i gràcies per aguantar els meus canvis d'humor durant els nervis que he anat passant al llarg del transcurs d'aquest treball, especialment a la meva mare(per cuidar les mosques el temps que van estar a casa), al meu pare, a la meva germana, al meu iaio i a la meva cosina.

També agrair, a tots els professors que al llarg d'aquests mesos s'han preocupat tant per mi com per l'evolució del meu TR.

M'agradaria fer una menció a les senyores de la neteja per preocupar-se per mi i les mosques cada dia que anava al laboratori, i anar-me preguntant dia rere dia que em veien per allà: *¿Como van tus moscas?, Pobrecillas estas moscas, etc.*

I per últim aquest TR m'ha ajudat a créixer i conèixer més del món de la investigació.

Per últim posar aquesta foto: resumeix tot el treball i l'esforç que s'ha dedicat en la realització d'aquesta investigació.



Figura 63: Treballant en el laboratori de l'escola.

GRÀCIES A TOTS ELS QUE HEU FET POSSIBLE AQUEST TR!



7. BIBLIOGRAFIA I WEBGRAFIA

7. BIBLIOGRAFIA I WEBGRAFIA

Fonts d'informació de la *Drosophila melanogaster*

<https://translate.google.es/translate?hl=ca&sl=es&u=http://drosophilamelanogaster27.blogspot.com/&prev=search>

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

Drosophila melanogaster

<http://premisrecerca.udg.edu/Portals/0/CS/premis2012/226-drosophila-melanogaster-udg.pdf>

<http://essersmodelics.csic.es/mosca.html>

http://www.exploratorium.edu/exhibits/mutant_flies/mutant_flies.html

Cicle vital

<https://translate.google.es/translate?hl=ca&sl=es&u=http://benitobios.blogspot.com/2008/08/ciclo-de-vida-de-drosophila.html&prev=search>

<https://translate.google.es/translate?hl=ca&sl=es&u=http://geteg.univalle.edu.co/5.html&prev=search>

Dimorfisme sexual

<https://translate.google.es/translate?hl=ca&sl=es&u=http://geteg.univalle.edu.co/5.html&prev=search>

https://en.wikipedia.org/wiki/File:Drosophila_XY_sex-determination.svg

On es troba?

<http://www.probodelt.com/ca/bibliografia-plagues/cicle-biologic-ceratitis.html>

[Heiko Bellmann, *Nueva guía de campo de insectos*. Ed. Omega. Librero: pàg. 196-197](#)

https://www.ruralcat.net/c/document_library/get_file?uuid=2bd0d182-0db1-40d5-92c9-d33355d4ae8d&groupId=10136

Mutacions

<https://translate.google.es/translate?hl=ca&sl=es&u=http://evolutionibus.eresmas.net/drosophila.html&prev=search>

<https://translate.google.es/translate?hl=ca&sl=es&u=http://drosophilidae.blogspot.com/&prev=search>

<https://translate.google.es/translate?hl=ca&sl=en&u=http://genesdev.cshlp.org/content/1/6/544.full.pdf&prev=search>

<https://translate.google.es/translate?hl=ca&sl=en&u=https://en.wikipedia.org/wiki/Antennapedia&prev=search>

Model de laboratori

http://www.ara.cat/suplements/ciencia/top-model-del-laboratori_0_707929288.html

<http://publicacions.iec.cat/repository/pdf/00000177%5C00000089.pdf>

<https://translate.google.es/translate?hl=ca&sl=es&u=http://biologia.laquia2000.com/general/especie-modelo&prev=search>

<http://essersmodelics.csic.es/>

https://translate.google.es/translate?hl=ca&sl=es&u=https://es.wikipedia.org/wiki/Organismo_modelo&prev=search

<https://translate.google.es/translate?hl=ca&sl=es&u=http://www.biopedia.com/organismos-modelos/&prev=search>

<https://www.irbbarcelona.org/ca/news/lirb-barcelona-patrocina-el-primer-simposi-dels-liders-cientifics-espanyols-que-usen-drosophila>

Fonts d'informació sobre els humans

Desenvolupament embrionari

<http://publicacions.iec.cat/repository/pdf/00000177%5C00000089.pdf>

<https://ca.wikipedia.org/wiki/Embar%C3%A0s>

<https://translate.google.es/translate?hl=ca&sl=es&u=http://www.alfinal.com/Temas/teratogenia.php&prev=search>

<https://ca.wikipedia.org/wiki/Talidomida>

Fonts d'informació sobre CESIRE

CESIRE

<http://srvcnpbs.xtec.cat/cdec/>

<https://sites.google.com/site/cerescsire/-que-es-el-ceres>

Fonts d'informació per les imatges de la portada

http://quimicasomaicao.blogspot.com.es/2013/09/elementos-del-laboratorio-de-quimica_23.html

https://www.google.es/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiawb_D6tDQAhUGnBoKHcJHBvcQjhwIBQ&url=http%3A%2F%2Fwww.benchfly.com%2Fblog%2Fmodel-organism-week-drosophila-melanogaster-the-fruit-fly%2F&bvm=bv.139782543,d.d2s&psig=AFQjCNFNPTwwLVU8J-9tOdzyv4NYsvU1_A&ust=1480607370708466

<http://etudier-a-budapest.com/tabac-hongrie/>

