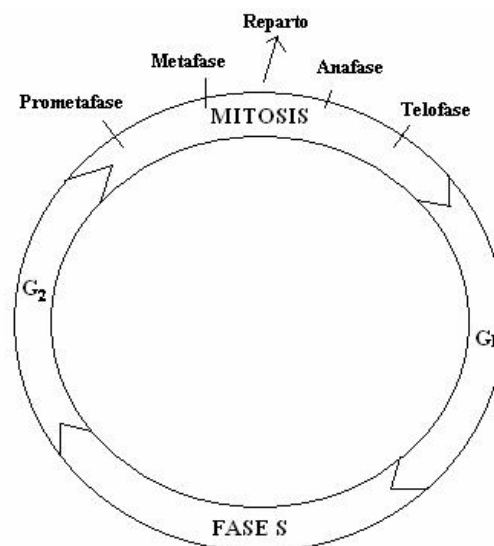


## RAICES GERMINADAS TRATADAS CON AGENTES QUE CONTROLAN EL CICLO CELULAR. RESULTADOS

El control del ciclo celular es un proceso fundamental en cualquier organismo. Este control es un sistema formado tanto por señales extracelulares como intracelulares. Durante gran parte del ciclo las células se encuentran en interfase, quiescencia o fase  $G_0$ . En esta fase, sin embargo, ocurren hechos muy importantes como la síntesis del ADN (que sería la fase S en concreto), con lo que se deduce que es un punto muy importante en la regulación. Además existen dos lapsos más de tiempo:  $G_1$ , que incluye el tiempo que pasa desde el final de la mitosis y el principio de la fase S; y  $G_2$ , que transcurre entre el final de la fase S y el principio de la mitosis.



Como se ha mencionado anteriormente la célula recibe continuamente información, tanto del interior celular para cerciorarse de que todo el proceso se realiza correctamente (por ejemplo el que los cromosomas estén perfectamente alineados en la placa metafísica, replicación correcta del ADN...), como del exterior celular, recibiendo distintas señales ambientales. Según estas condiciones del medio podemos encontrar dos puntos de control, una al final de  $G_1$  y otro al final de  $G_2$ .

En este experimento hemos usado raíces de cebolla germinadas, se han sometido, por separado, a distintos tratamientos y se han obtenido células

meristemáticas. Posteriormente se colocan extendidas sobre un portaobjetos, se realiza una tinción nuclear cuantitativa de Feulgen, se coloca un cubre y se observan al microscopio, utilizando el objetivo de 100x. Contamos unas 200 células de cada experimento, anotando aquellas que se encuentran en interfase y las que están en distintas fases de la mitosis. El conteo debe realizarse de forma aleatoria y no buscando las células, pues de lo contrario los resultados no serían concluyentes. Antes de pasar a ver los distintos experimentos realizados y los resultados obtenidos, vamos a definir brevemente las características de las fases de la mitosis y su aspecto característico:

- \* **Interfase:** la célula crece y el ADN se duplica. Es un período de crecimiento activo del citoplasma, incluyendo la producción de los orgánulos.
- \* **Profase:** los cromosomas se visualizan como largos filamentos dobles, que se van acortando y engrosando. Cada uno está formado por un par de cromátidas que permanecen unidas sólo a nivel del centrómero. En esta etapa los cromosomas pasan una forma laxa a una compacta. La envoltura nuclear se rompe en una serie de cisternas que ya no se distinguen del RE, de manera que se vuelve invisible con el microscopio óptico. Los nucleolos desaparecen.



- \* **Metafase:** aparece el huso mitótico o acromático, formado por haces de microtúbulos; los cromosomas se unen a algunos microtúbulos a través de una estructura proteica laminar situada a cada lado del centrómero, denominada cinetocoro. También hay microtúbulos polares, más largos, que se solapan en la región ecuatorial de la célula. Los cromosomas muestran el máximo acortamiento y condensación, y son desplazados por los microtúbulos hasta que todos los centrómeros quedan en el plano

ecuatorial. Al final de la metafase se produce la duplicación del ADN, y en consecuencia su división.



- \* **Anafase:** se separan los centrómeros hijos, y las cromátidas convirtiéndose en cromosomas hijos. Cada juego de cromosomas hijos migra hacia un polo de la célula. El **huso mitótico** es la estructura que lleva a cabo la distribución de los cromosomas hijos en los dos núcleos hijos. El movimiento se realiza mediante los microtúbulos cromosómicos, que se van acortando en el extremo unido al cinetocoro. Los microtúbulos polares se deslizan en sentido contrario, distanciando los dos grupos de cromosomas hijos.



- \* **Telofase:** comienza cuando los cromosomas hijos llegan a los polos de la célula. Los cromosomas hijos se alargan, pierden condensación, la envoltura nuclear se forma nuevamente a partir del RE rugoso y se forma el nucleolo de nuevo.



1). **Células sin tratamiento**

Con este experimento lo que vamos a obtener es el control. En este caso la célula se va dividir de manera estable, sin encontrar ningún tipo de aberración, y los valores obtenidos, expresados como una media de todo el grupo de prácticas son los siguientes:

- Interfase: 3002
- Profase: 214
- Metafase: 36
- Anafase: 16
- Telofase: 35

A continuación calculamos el índice mitótico:

$$\text{Índice mitótico} = \frac{\text{número células en mitosis}}{\text{número total células}} \times 100$$

Y aplicando esta fórmula obtenemos un valor de 9,11 %, lo que concuerda perfectamente con lo que ocurre en condiciones normales, es decir, la mayoría de las células se encuentran en interfase (hasta un 90 %).

Calcularemos también el índice de cada fase para compararla con los demás experimentos:

$$\text{Índice fase} = \frac{\text{número células en fase}}{\text{número células en mitosis}} \times 100$$

Y sustituyendo obtenemos:

- Profase: 71 %
- Metafase: 11,9 %
- Anafase: 5,3 %
- Telofase: 11,6 %

## 2). Células tratadas con colchicina

La colchicina es un alcaloide extraído de *Colchicum autumnale* que inhibe la polimerización de moléculas de tubulina. Al añadir a células en división, impide la formación de los microtúbulos, con lo que no se forma el huso mitótico, y se duplica el número de cromosomas de la célula. Entonces, la Profase la veremos de una manera parecida a la anterior, la Metafase al no haber tubulina veremos los cromosomas condensados pero dispersos por el interior celular, la anafase con dos brazos en lugar de cuatro y prácticamente no veremos Telofases.

El número de células de cada tipo que hemos encontrado es:

- Interfase: 3157
- Profase: 94
- Metafase: 120
- Anafase: 5
- Telofase: 1

El índice mitótico en este caso es de 6,51 % lo que indica que el índice mitótico total, aunque ha descendido levemente en general no es muy apreciable. Veamos lo que ocurre para los índices de cada fase:

- Profase: 42,7 %
- Metafase: 54,5 %
- Anafase: 2,2 %
- Telofase: 0,45 %

Como se puede comprobar el descenso del índice de cada fase es evidente en la mayoría de los resultados, mucho más pronunciado a partir de la Metafase. Esto está basado en unas proteínas que detectan el ensamblado incorrecto del huso evitando la activación de la APC (Complejo Promotor de la Anafase) con lo que la célula no puede abandonar la metafase. De ahí que tengamos un mayor número de células en Metafase que en el tratamiento control y un menor número de las fases siguientes.

## 3). Células tratadas con hidroxiurea

Con este tratamiento se produce una fractura cromosómica que forma micronúcleos. Por lo tanto se van a observar mitosis aberrantes. Veamos el número de células que hay en cada fase:

- Interfase: 3206
- Profase: 33
- Metafase: 6
- Anafase: 7
- Telofase: 0

El índice mitótico nos da un valor de 1,41 %, con lo que es evidente que se ha producido una disminución muy fuerte de la mitosis. En cuanto a los índices de las fases tenemos:

- Profase: 71,7 %
- Metafase: 13 %
- Anafase: 15,2 %
- Telofase: 0 %

En este caso el bloqueo de la mitosis se produce en la fase S y está basado en unas proteínas que detectan ADN sin replicar con lo que no se activa el MPF (Factor Promotor de la Mitosis) y consecuentemente la célula no entra en mitosis. Por esa la disminución se hace ya evidente desde la Profase.

#### 4). Células tratadas con hidroxurea + cafeína (8 horas)

En este caso va a ocurrir lo mismo que en el caso anterior por la parte de la hidroxurea, pero tras añadir la cafeína durante 8 horas se ha liberado el bloqueo de la mitosis producido por la hidroxurea. Comprobemos esto con los datos obtenidos:

- Interfase: 3054
- Profase: 52
- Metafase: 50
- Anafase: 20
- Telofase: 22

Obtenemos un valor de índice mitótico de 4,50 %, indicando que realmente se ha producido de nuevo un aumento de la mitosis. En cuanto a los valores de los índices de fase:

- Profase: 36,1 %
- Metafase: 34,7 %
- Anafase: 13,8 %
- Telofase: 15,2 %

Por lo tanto, con estos valores queda comprobado que la cafeína produce el desbloqueo de la mitosis producido por la hidroxiaurea.