

Electroforesis de Proteínas y Esterasas como Método Químico de Identificación en Papas¹

A Contreras*, R Mansilla*

ABSTRACT

A chemical technique for rapid clone identification of potatoes, based on protein and esterase electrophoresis, was tested. The Stegemann technique was used with three potato groups, which, under field conditions, presented similar appearances. The experiment was carried out with ripe potatoes, stored for a maximum of three weeks. The method tested proved to be accurate and rapid.

INTRODUCCION

El hombre permanentemente utiliza los avances científicos y tecnológicos que ocurren en diversas disciplinas. Es así como la electroforesis, que ha alcanzado un desarrollo muy importante como método de investigación en biología, bioquímica y medicina, en la actualidad recurren a ella diversos agrónomos con gran éxito en la identificación de diversas especies vegetales

De acuerdo a su potencial genético, las diversas especies vegetales desarrollan sustancias químicas específicas a una especie y/o determinada variedad, detectables según un adecuado proceso electroforético. De este modo, la estabilidad de proteínas y enzimas solubles en agua, como en el caso de las papas, ha brindado una excelente posibilidad de ser utilizadas en estudios taxonómicos a través de este método (2, 7, 9, 14). Así se ha llegado a establecer patrones más fijos, comparables y objetivos para estos fines y que superan las simples apreciaciones personales subjetivas sobre las características morfológicas entre variedades de una misma especie.

La colección de papas de la Universidad Austral de Chile, con más de 600 entradas, presenta clones que a simple vista parecieran ser similares; sin embargo, su posible eliminación sólo se podrá realizar en la

COMPENDIO

El presente estudio pretende probar la eficiencia de la electroforesis de proteínas y esterasesas como una técnica química que permita acelerar el proceso de identificación de clones de papas. Se usó la técnica de Stegemann en tres agrupaciones de papas que, en el campo, presentaron una apariencia similar. Esta se realizó en material maduro que no estuvo almacenado más de tres semanas. Se comprobó la eficiencia del método en cuanto a rapidez y resolución.

medida que se obtenga un método confiable para evitar la pérdida de material genético. El objetivo de este trabajo fue probar la tecnología de electroforesis, recomendada por Stegemann y Loeschke (14) con modificaciones de Stegemann y Schnik (15), con el fin de obtener patrones confiables de identificación.

REVISION DE LITERATURA

El principio básico de la electroforesis consiste en la migración de partículas coloidales, tales como las proteínas por ejemplo, como consecuencia de ser sometidas a un campo eléctrico. Esta migración depende principalmente de la carga eléctrica neta de la partícula o molécula, de su configuración, grado de disociación, pH y el tipo o medio de soporte que se utilice.

Para que ocurra este proceso, las partículas a investigar deben tener una polaridad que sea susceptible al campo eléctrico que se aplica. En el caso de las proteínas o enzimas, la presencia de los grupos terminales de los aminoácidos que las constituyen determinan la carga de ellas. Es así como el grupo básico amino (NH_2), cuando está en solución, capta un hidrógeno del medio haciéndose positivo (NH_3^+); a la inversa, el grupo ácido (COOH) cede un hidrógeno haciéndose negativo (COO^-).

La predominancia, entonces, de un tipo de aminoácido en las partículas, ya sea ácido o básico, determinará la carga neta de ellas. De esta manera, se seleccionará el pH del medio que conviene utilizar para que la migración sea óptima, puesto que, según el pH aplicado, se tendrá la polaridad del campo eléctrico.

¹ Recibido para publicación el 2 de setiembre de 1988. Proyecto financiado por Fondecyt y Dirección de Investigación, UACH, Chile.

* Profesor y Químico laboratorista. Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, Chile.

Estas partículas que han migrado, de acuerdo a las condiciones del proceso electroforético, tendrán características específicas tales como tamaño, intensidad, distancia del origen, número para cada variedad y que serán reveladas con los colorantes apropiados (9, 16).

La electroforesis ha sido adaptada a una variada gama de aplicaciones. En biología, la electroforesis es usada para comparar las posibles relaciones evolutivas entre organismos, asumiendo que tipos relacionados estrechamente pueden tener un gran número de proteínas del mismo grupo y viceversa. Para tipos sin relación

En medicina, se analiza una serie de enzimas relacionadas con distintas patologías, como, asimismo, la presencia de antígenos a través de la inmunoelectroforesis.

En bioquímica, se han utilizado, para analizar proteínas y ácidos nucleicos virales, componentes celulares y otros sistemas biológicos.

En estudios agronómicos realizados para la identificación de variedades a través de proteínas, la electroforesis ha sido usada en arroz (*Oryza* spp.), cebada (*Hordeum* spp.), maíz (*Zea mays*), poroto (*Phaseolus vulgaris*), raps (*Brassica napus*), papa (*Solanum* spp.) y trigo (*Triticum* spp.) con base en los postulados de Stegemann y Loeschcke (14).

En Chile, se han identificado clones de papas pertenecientes a una misma agrupación morfológica, así como también a agrupaciones distintas (3, 6).

También, la electroforesis ha sido usada para el diagnóstico de la enfermedad de la papa denominada "tubérculo ahusado" (PSTV), la cual permite detectar el viroide (8). Igualmente, para identificar razas del virus Y de la papa (1).

A través de este método González (5), identificó 52 cultivares de trigo panadero y candeal que son más comunes en Chile.

En el caso de la investigación clonal de papas, relativo a la identificación a través de las proteínas, éstas se caracterizan por la presencia de todas o alguna de cuatro bandas principales, ubicadas en el tercio superior del sector catódico del gel de soporte y por muchas bandas finas en el sector anódico.

Conjuntamente a la investigación proteínica, es necesario estudiar los espectros de esterasas que dan una certidumbre adicional a lo anterior, ya que están aún menos influidas por la brotación que las proteínas en el proceso de almacenamiento.

Los espectros de las proteínas, más los de esterasas, permiten una clara identificación de la variedad o clon a identificar (2, 4, 15).

Uso de la electroforesis en la identificación de variedades de papa

Para identificar variedades de papa, en forma eficiente y efectiva se requieren características estables, preferiblemente de los tubérculos. La electroforesis en patrones de proteína ha sido utilizada exitosamente en papa por numerosos investigadores durante más de diez años (4, 10, 13, 17).

Contreras *et al.* (3) indican que la clasificación de papas por el método de la electroforesis es indispensable para programas eficientes y efectivos de identificación clonal, ya que se puede comparar la identidad de clones pertenecientes a una misma agrupación morfológica, como también a agrupaciones distintas.

En el proceso de electroforesis es importante que los tubérculos a usar estén maduros, pues si éstos están inmaduros los patrones individuales son menos pronunciados y además, se presenta una banda predominante (12, 13, 14).

Se ha constatado que las bandas proteínicas persisten, aún cuando el material se cultive bajo distintas condiciones ecológicas y biológicas (14, 17).

Además, no se han logrado probar en forma fehaciente, que los patrones electroforéticos proteínicos sean modificados, en forma notoria, por el almacenamiento de papas hasta un periodo de seis meses, tiempo en que comienza la brotación (13, 14, 17).

La identificación de una variedad desconocida se inicia por su espectro de proteínas. De acuerdo a la presencia o ausencia de las cuatro bandas principales (A, B, C, D) que se ubican en el tercio cercano al punto de partida (catódico), se puede incluir a la variedad dentro de una de las nueve posibles combinaciones (14) (ver Cuadro 1).

Sin embargo, dentro de cada combinación, existen variedades y clones distintos ya que la intensidad de las bandas principales puede presentarse en gradiente. Por ello, debe posteriormente y dentro de las claves específicas, analizarse el grado de estas bandas, como también las bandas delgadas del sector anódico. Una identificación de esterasas de este sector, ayuda en el análisis de identificación, ya que por lo general, las bandas proteínicas delgadas son poco nítidas (11, 14).

Cuadro 1. Clasificación de foregramas de papas.

Zona	Claves o combinaciones								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	-	-	-	-	+	+	+	+	+
B	+	+	+	+	+	+	+	+	-
C	-	-	+	+	-	-	+	+	+
D	-	+	-	+	+	-	-	+	-

Ventajas de la electroforesis. Según Stegemann y Loeschke (14), las ventajas de este método son:

- El análisis es rápido. El período entre la toma de muestra y la obtención de resultados es de 24 horas.
- Evita duplicaciones del material clonal.
- Posibilita agrupar clones según bandas electroforéticas.
- Las papas se pueden guardar por un periodo de seis meses a una temperatura entre 4 a 10°C; durante este período, no se registran cambios en los espectros electroforéticos.
- Se requiere de una reducida cantidad del tubérculo, aproximadamente, de 1 g de cualquier sector de éste.
- No existe influencia del clima, del suelo, de tratamientos con reguladores de crecimiento ni de fertilizantes, con respecto a los espectros electroforéticos.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron nueve clones de papa de la colección chilena, los cuales fueron previamente procesados en el campo, para formar grupos de clones con caracteres morfológicos más o menos similares. De acuerdo con el número de clones, se pudieron procesar todos los clones en un mismo gel para proteínas y en otro para las respectivas esterasas, de acuerdo a la metodología utilizada por Stegemann y Schnick (15)

Los grupos fueron: (1) UA1005; UA1015 y UA1199
 (2) UA1008; UA1009 y UA1011
 (3) UA1363 y UA1384

El clon UA 1388 se usó como patrón de referencia por poseer cuatro bandas principales en el sector catódico.

El equipo utilizado fue el PANTA-PHOR recomendado por Stegemann y Loeschke (14)

Tanto para espectro proteinicos como para esterasas, se trabajó con savia obtenida de tubérculos maduros previamente refrigerados a 20°C. Los tubérculos se descongelaron, descortezaron y trituraron en una picadora Moulinex con 0.05 ml de solución de sulfito/bisulfito de sodio (10 g/7.5 g/50 ml agua) por cada 10 ml de savia con el objeto de inhibir oxidaciones enzimáticas. La mezcla que se obtiene por filtración se centrifuga a 3000 rpm por 15 minutos, separándose la savia (sobrenadante) del almidón (residuo).

Como medio separador se utilizó un gel de poliacrilamida (5.6% de acrilamida, 0.3% de metileno-bisacrilamida). La solución monomérica se polimerizó con themed y persulfato de amonio e inmediatamente se vació en una placa de electroforesis vertical PANTA-PHOR. Esta placa se conectó a una fuente de poder Labor Müller que controló la intensidad de la corriente para el proceso (intensidad no superior a 65 mA en proteínas, ni a 75 mA en esterasas).

Como solución conductora de la tensión se utilizó un buffer pH 7.9 de TRIS/borato en proteínas y pH 8.9 también de TRIS/borato de esterasas

La muestra aplicada por cada una de las 10 ranuras del gel fue de 5 microlitros de una solución compuesta de 0.8 ml de savia más 0.2 ml de solución de amido negro como tinción marcadora.

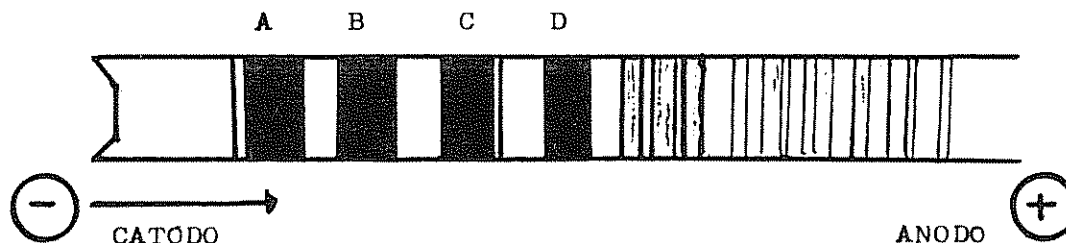


Fig 1. Esquema típico de un foregrama de papa con sus cuatro bandas principales A, B, C, D (patrón)

Cuadro 2. Identificación de papas usando patrones electroforéticos en gel de poliacrilamida.

Número de entrada	Bandas tipo	Clave	Identidad
UA 1388	A B C D	8	A
UA 1015	B C D	4	Ba
UA 1199	B C D	4	Ba
UA 1005	B C D	4	Ba
UA 1008	B C D	4	Bb
UA 1011	B C D	4	Bb
UA 1009	B C D	4	Bb
UA 1363	A B	6	Cc
UA 1364	A B	6	Cc

La temperatura del proceso se mantuvo constante a 20°C. Asimismo, se utilizó una bomba peristáltica que recirculó el "buffer" para poder mantener una concentración constante del mismo, tanto en el sector catódico como anódico.

Aplicada la intensidad de la corriente necesaria, las partículas migraron del cátodo al ánodo, en un proceso que duró aproximadamente 1 hora y 30 minutos.

Para revelar las proteínas contenidas en el gel se utilizaron 400 ml de una solución que contiene ácido tricloroacético, metanol, ácido acético, agua y 5 ml de la tinción azul de Coomassie al 1% por 16 horas.

Como solución de desteñido del exceso de colorante, el gel se lavó con una disolución que contiene metanol, ácido acético y agua, en un volumen de 300 ml, por 3 a 4 veces, cada 2 horas.

Finalmente, en esta forma, las proteínas pudieron ser fotografiadas y evaluadas.

En cuanto a las esterasas, éstas se tiñeron con 200 ml "buffer" fosfato a pH 7.2 a la cual se le agregaron 40 mg de alpha-naftil acetato. El alpha-naftol liberado se acopla a la sal de diazonio estable Fast Blue-RR (100 mg) que se agregó posteriormente. Esto produjo un tinte café oscuro e insoluble con las esterasas.

La mezcla se mantuvo en agitación constante por 20 minutos para desarrollar la tinción apropiada.

Se detiene la reacción al colocar el gel dentro de una bandeja que contiene 300 ml de solución de desteñido de proteínas.

RESULTADOS Y DISCUSION

La Fig 2 presenta un gel que contiene la muestra de diez clones de papa. Este gel presenta ocho migraciones proteínicas, más la del patrón clon U.A. 1388.

El clon patrón, de acuerdo a la clave de Stegemann y Loescheke (14), presenta cuatro bandas principales de proteínas en el sector catódico; estas bandas corresponden a la A; B; C y D. Tales bandas principales, que pueden estar presentes en su totalidad o en parte, sirven para reunir en distintos grupos a materiales que tengan similitud de dichas bandas. De esta manera, el clon U.A. 1388 pertenece al grupo 8, por poseer las cuatro bandas principales.

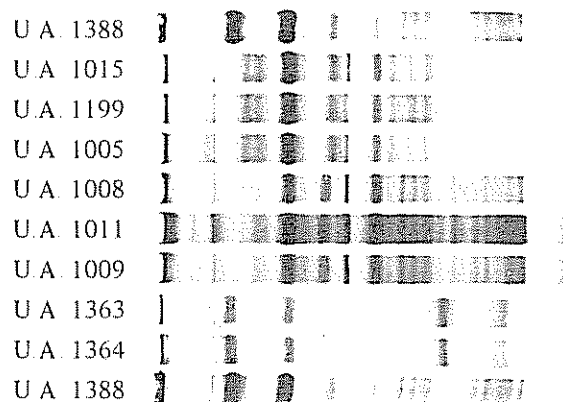


Fig 2. Gel de proteínas que contiene 10 migraciones proteínicas en clones de papas. Las ocho interiores corresponden a los clones en estudio, mientras que las dos exteriores corresponden a un mismo clon, el U.A. 1388 que se utilizó como patrón de referencia.

Los clones U.A. 1015, U.A. 1119 y U.A. 1005 presentan, en comparación con el testigo de referencia (U.A. 1388), las bandas B, C y D, correspondiendo al grupo cuatro. Los números U.A. 1008; U.A. 1011 y U.A. 1009 presentan, al igual que el grupo anterior, las mismas bandas B, C y D. Sin embargo, al observar hacia el ánodo, aparece una serie de bandas delgadas que presentan estos últimos tres números y que no posee el grupo anterior. De esta forma, se van identificando clones que presentan bandas en igual número e intensidad. Los números U.A. 1363 y U.A. 1364 presentan las bandas A y B correspondiendo al grupo 6. De acuerdo a la observación de bandas hacia el ánodo, estos números parecieron ser idénticos.

La intensidad de bandas proteínicas pueden variar, como lo indican Stegemann *et al* (13), de acuerdo a la madurez del tubérculo y a la brotación; además, su nitidez es relativa. Por ello, el estudio de las bandas finas del ánodo debe hacerse usando las esterasas.

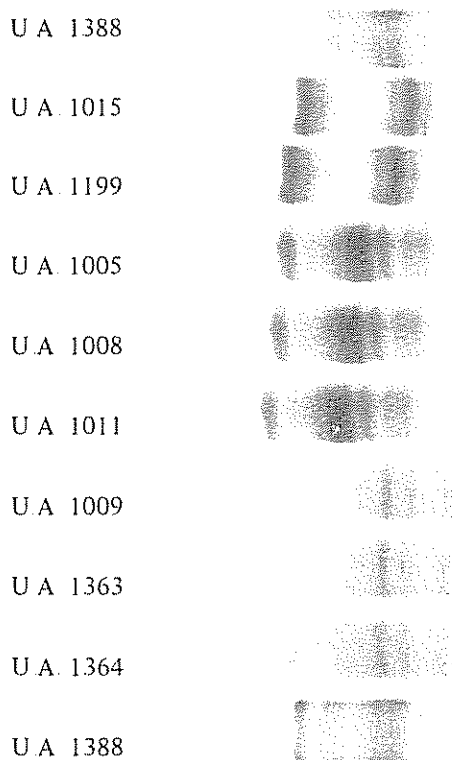


Fig. 3. Gel que contiene 10 migraciones de esterasas en clones de papas utilizados para proteínas (Fig. 2)

El gel de esterasas, indicado en la Fig. 3 ratifica, en forma taxativa, la diferencia de los grupos que presentan las bandas B, C y D. De esta forma, se pueden ordenar estos números como aparece en el Cuadro 2.

Así, de nueve clones analizados por este método, se han reducido a cuatro clones, ya que existe sinonimia entre los ya analizados.

CONCLUSIONES

— La metodología utilizada es sencilla, rápida y de fácil resolución para hacer estudios de espectroforegramas en papa.

— El espectro proteínico determina la agrupación general de los materiales en estudio, de acuerdo a sus cuatro bandas principales.

— El efecto de las esterasas ratifica las sinonimias presentes en los materiales en estudio.

— Esta técnica presenta una gran ayuda porque permite hacer una rápida y certera diferenciación entre clones de papa, lo cual es importante en el mantenimiento de bancos de genes y en la elaboración de un catálogo de inscripción de variedades.

LITERATURA CITADA

1. ARUTA, C. 1983. Untersuchungen zur elektrophoretischen und biologischen Differenzierung von Stämmen des potato virus Y Smith. Diss. Dr. Rer. Hort. Hannover, Institut für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, Universität Hannover. 78 p.
2. CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA. 1977. Colección y clasificación de *Solanum*. Informe Anual CIP p. 17-20.
3. CONTRERAS, A.; ARUTA, C.; BANSE, J.; FUENTE-ALBA, J.; ASENJO, F.; MANQUIAN, N. 1980. Germoplasma chileno de papas (*Solanum* sp.). Valdivia, Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 43 p. (Serie A 4).
4. DESBOROUGH, S.; PELOQUIN, S.J. 1968. Potato variety identification by use of electrophoretic patterns of tuber proteins and enzymes. *American Potato Journal* 45:220-229.
5. GONZALEZ, F. 1984. Catálogo de electroforegramas de los principales cultivares de trigo nacionales (*Triticum* spp.). Tesis Lic. Agr. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 50 p.
6. MARTINEZ, F. 1983. Identificación de clones de papas chilena (*Solanum tuberosum* L.) por determinación de patrones electroforéticos. Tesis Lic. Agr. Valdivia, Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 50 p.
7. Mc-NAIR, N.; ESQUIVEL, B. 1973. Cromatografía líquida de alta presión. Washington, D.C., Organización de los Estados Americanos. 58 p. (Monografía no. 10).
8. MORRIS, J.; WRIGHT, N. 1975. Detection on polyacrylamide gel of a diagnostic nucleic acid from tissue infected with potato spindle tuber viroid. *American Potato Journal* 52:57-63.
9. NERENBERG, S.I. 1968. Electroforesis; manual práctico de laboratorio. Barcelona, Ed. Jims. 245 p.
10. STEGEMANN, H. 1975. Potato protein. In: The chemistry and biochemistry of plant protein. Ed. by Harborne, J.; Van Sumere, C. London. p. 72-76.

11. STEGEMANN H. 1982. Electroforesis y electroenfoque en placas Page-manual Biologische Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft Braunschweig Berlin, Institut für Biochemie 19 p
12. STEGEMANN, H. 1985. Index 1985 Europäischer Kartoffelsorten Berlin, Paul Parey. 128 p
13. STEGEMANN, H.; FRANCKEN, H.; MACKO, V. 1973. Genetic and physiological changes evaluated by one and two dimensional PAA-GEL-techniques Zeit. Natur 28:722-732
14. STEGEMANN, H.; LOESCHCKL, V. 1976. Index Europäischer Kartoffelsorten; Bestimmung durch elektrophoretische Spektren Berlin, Paul Parey 214 p
15. STEGEMANN, H.; SCHNICK, D. 1982. Index 1982 Europäischer Kartoffelsorten, Zulassungslisten, Bonitierung, genetische Daten. Berlin, Paul Parey. 219 p.
16. UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE. FACULTAD DE CIENCIAS 1974. Electroforesis; técnicas actualizadas y sus aplicaciones. 74 p
17. ZACHARIUS, R.M., KRULICK, S.; PORTER, W.L. 1971. Concerning the constancy of the protein electrophoretic pattern of potato variety. American Potato Journal 48:57-63

Notas y Comentarios

El retorno de la mariposa azul de Inglaterra

La mariposa "Large Blue of England", que había desaparecido por ser la preferida de los coleccionistas de mariposas bellas, está ahora siendo ayudada a ocupar su antiguo habitat, después de haber estudiado minuciosamente su vida y costumbres. Conocida como *Licena arion*, su estilo de vida era hasta hace poco un enigma. Se sabía que dependía de algún modo de las hormigas y que se alimentaba de una planta aromática, probablemente del género *Thymus*, relacionada con los tomillos, plantas de la familia de las labiadas, usadas en Europa como condimentos. Es conocido por los botánicos que son raras las plantas labiadas no aromáticas.

Tomó al Dr. Jeremy Thomas, del **Institute of Terrestrial Ecology**, en Furzenbrook, Dorset, mucha investigación para descifrar el resto del enigma. Las hembras de las mariposas ponen sus huevos en las yemas florales del tomillo que crece en las praderas inglesas de suelo calizo. Las orugas que emergen se alimentan de las flores y se vuelven de un color rosado igual al de las yemas. Después de la muda final, caen al suelo al anochecer.

Aquí es donde aparecen las hormigas. Después de secretar un líquido lechoso para estimular a las hormigas, la oruga es llevada por la hormiga afectada a su nido. Colocada así bajo tierra, la oruga se alimenta de huevos y gusanos de la hormiga por diez meses, y finalmente emerge del nido como una adulta mariposa, la "Large Blue". El problema es que no es suficiente cualquier hormiga roja. Las orugas de la mariposa azul

sólo prosperan en nidos de *Myrmica sabuleti* en los que hay bastantes larvas como para que sobreviva una colonia de mariposas azules.

Más o menos la mitad de las praderas británicas en las que se criaba la Azul Grande han sido destruidas en la actualidad, muchas veces por el arado o por la siembra de árboles forestales. La otra mitad generalmente tenía todavía bastantes tomillos, pero casi nada de *Myrmica sabuleti*. Esta hormiga es muy exigente en sus necesidades. Prospera sólo en pequeñas praderas, bien pastoreadas, en laderas soleadas. Lo que hizo desaparecer a la hormiga y por consiguiente a la Azul Grande, fue el matorral que invadió esas praderas. La mixomatosis había matado a los conejos y a su meticuloso ramoneo que mantenía en forma las pequeñas praderas y en consecuencia, los agricultores pusieron sus ovejas a pastar en tierras mejores.

Cuando se comprendió bien el papel de la hormiga roja y su preferencia por los pastos bien cortos, ya había muerto la última Azul Grande británica (en 1979). Extinguida en los Países Bajos en 1950, tiene también una tenue existencia en buena parte de la Europa Occidental. La Azul Grande no fue la primera mariposa que dio su último aleteo en suelo británico... y sin duda habrán otras más.

Ahora, se está operando lo que puede ser un retorno triunfal de varias especies. Una combinación de investigación por el Instituto de Ecología Terrestre, el que descubrió los secretos de la Azul Grande, con reservas naturales suministradas por el **Nature Conservation Council** y subsidios obtenidos del **World Wildlife**

Fund se han combinado para reintroducirla en un par de sus antiguas querencias en el sudeste de Inglaterra.

Basándose en anteriores ensayos hechos con Azules Grandes provenientes de Suecia, el principal lugar de liberación en Inglaterra (la ubicación del cual es un secreto celosamente guardado), importó unas 200 mariposas adultas en el verano pasado. Estas pusieron unos 4 500 huevos. El tomillo silvestre se está incrementando en el lugar y como resultado de un pastoreo más intenso, la grama tiene ahora muchas más hormigas rojas hospedantes que cuando la Azul Grande volaba sobre ella en el pasado. Una segunda colonia secreta fue iniciada en 1988. Para conservar una especie amenazada parece conveniente conocer tanto a sus amigos como a sus enemigos.

Ratones que tienen dos genes de masculinidad

Los ratones pueden tener más de una copia de gen responsable para el desarrollo de los machos. Los científicos han identificado recientemente un gen, llamado **ZFY**, en el cromosoma Y de los humanos que, ellos creen, determina la masculinidad. La mayoría de los mamíferos placentados tienen un gen en el cromosoma Y que es estructuralmente similar al humano. Dos grupos de investigadores informan ahora que los ratones, a diferencia de otros mamíferos, tienen por lo menos dos de estos genes.

Graeme Mardon, en el Massachusetts Institute of Technology, en Cambridge, MA., y sus colegas, usaron una copia del gen humano como medio de exploración para investigar los genes que determinan la masculinidad (el desarrollo de los testículos), en los ratones (*Science*, v. 243, p. 78). Si las secuencias del DNA en los ratones fueran similares a aquellas del DNA en el **ZFY**, entonces, los dos segmentos serían equivalentes. Los investigadores encontraron una coincidencia en dos partes del cromosoma Y, tomadas de dos especies diferentes de ratón. Llamaron entonces a los genes **Zfy-1** y **Zfy-2**, por analogía con el gen humano.

Mardon y sus colegas creen que solamente el gen **Zfy-1** es necesario para determinar los testículos. Los investigadores usaron exploraciones de DNA para investigar los genes en ratones que tienen mutaciones en la parte del cromosoma Y que determina el sexo. Todos estos ratones tenían **Zfy-1**, pero, a algunos les faltaba el **Zfy-2**. Si el **Zfy-2** estaba ausente, el ratón siempre desarrollaba testículos.

Los avances en los estudios sobre la biología de las asociaciones entre plantas e insectos están permitiendo determinar que esta simbiosis ocurre en otras especies y su funcionamiento es similar. Hace poco escribimos sobre el caso de las orugas de **Memoria arizonaria** que imitaban las yemas florales y ramitas del roble del cual se alimentaban, el cual fue estudiado en detalle por Eric Greene, de la Universidad de Princeton, en New Jersey (*Science*, v. 243, p. 643). Al parecer, estos gusanos disfrazados no son casos únicos y se presentan en más de un lugar del planeta. No vacilamos en afirmar que esperamos que estos casos seguirán apareciendo, conforme los científicos estudien más ejemplos de simulaciones beneficiosas entre los reinos vegetal y animal. AG.

Claude Nagamine, en la University of California, en San Francisco, y sus colegas, también realizaron exploraciones con DNA para investigar si los ratones tenían genes que se parecieran al **ZFY** humano (*Science*, v. 243, p. 80). Usando una exploración con DNA de ratón similar a las exploraciones hechas a partir del gen determinante de testículos en los humanos, también encontraron dos zonas del cromosoma Y que igualaban la exploración. Al igual que el grupo Mardon, este equipo encontró que sólo uno de los dos genes era necesario para el desarrollo de testículos en un embrión.

El **Zfy-2** no es necesario para el desarrollo de los testículos, de tal manera que ¿para qué sirve? Nagamine y sus colegas encontraron que el **Zfy-2** era activo en los testículos de los ratones adultos. Los investigadores especulan que el **Zfy-2** puede estar involucrado en la manera de cómo funcionan los testículos. Encontraron también otras dos zonas de DNA que coincidían con la exploración: una estaba en el cromosoma X y el otro no estaba en ninguno de los cromosomas del sexo. Sugieren que las secuencias de DNA involucradas en determinar los testículos en los ratones han sido duplicadas en su evolución.

Los que no poseemos la minuciosidad del investigador que va paso a paso avanzando en su exploración, no podemos menos que pensar en mujeres hombrunas que tienen genes con X en sus cromosomas Y, en hombres rijosos que tienen más de un gen X, o afeiminados que tienen más genes Y que los necesarios. AG.