

Poznaj – Polubisz

Przez poznanie lokalnych gatunków do poszerzenia wiedzy i umiejętności biologicznych uczniów

Przygotowanie i prowadzenie hodowli muszki owocowej (*Drosophila melanogaster*) – karta pracy

GABRIELA GOŁĘBIEWSKA-PALUCH*

Uniwersytet Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie

1. Przygotowanie naczyń hodowlanych

Szklane kolby (250 ml) umyć wodą wodociągową z płynem do naczyń przy użyciu szczotki do mycia szkła. Po wypłukaniu wodą wodociągową kolby dwukrotnie przepłukać wodą destylowaną i wstawić do ciepłarki odwrócone do góry dnem, ewentualnie ustawić do góry dnem na tacce z czystą ligniną. Nastawić ciepłarkę na temperaturę 100°C. Po wysuszeniu kolb w ciepłarce każdą z nich zamknąć korkiem z waty. Następnie wraz z nim sterylizować kolby w ciepłarce przez kolejne 30 min. W warunkach domowych kolby można zastąpić małymi butelkami lub słoikami i wygrzać je w piekarniku. Naczynia zamknięte korkiem z waty można także sterylizować nad palnikiem spirytusowym do momentu lekkiego zbrązowienia spodu waty.

*E-mail: gabriela.golebiowska-paluch@up.krakow.pl
ORCID: 0000-0003-2038-282X

2. Przygotowanie pożywki – UWAGA: UNIKAĆ POPARZENIA!

- A. W małym naczynku, w ostudzonej, przegotowanej wodzie (30 ml), rozrobić $\frac{1}{6}$ kostki drożdży z 1 łyżeczką cukru.
- B. Zagotować wodę wodociągową (800 ml) w czajniku lub na płycie grzewczej, a następnie przelać do garnka i gotować stale na średniej mocy palnika.
- C. W osobnej zlewce lub innym naczyniu rozrobić w zimnej wodzie 2 łyżki mąki kukurydzianej, dodając tylko taką ilość wody, aby można było przenieść roztwór.
- D. Ciągłe mieszając, dodać porcjami rozrobioną mąkę kukurydzianą do garnka z wrzątkiem i gotować przez kolejne 15 minut, od czasu do czasu mieszając (unikać przypalenia, zbrylenia, wykipienia).
- E. Rozrobić w osobnej zlewce w zimnej wodzie $\frac{1}{2}$ łyżki agaru bakteriologicznego lub spożywczego, dodając tylko taką ilość wody, aby można było przenieść roztwór.
- F. Ciągłe mieszając, dodać porcjami rozrobiony agar do garnka z wrzątkiem i gotować przez kolejne 15 minut, od czasu do czasu mieszając.
- G. Dodać bezpośrednio do garnka 1 łyżkę cukru.
- H. Zamieszać, gotować jeszcze przez kilka minut, po czym garnek zestawić z płyty. Płytę wyłączyć z gniazdka.
- I. Gorącą pożywkę rozlać przez lejek do wcześniej umytych i wysuszonych kolb tak, aby przykryć dno kolby na wysokość ok. 1,5 cm (czyli ok. 25 ml pożywki). Bardzo ważne, żeby lejek był ustawiony pionowo i przed przełożeniem do kolejnej kolby chwilę odkapał, aby nie zabrudzić ścian pożywką (na takiej lepkiej powierzchni będą utykały muchy).
- J. Gdy pożywka w kolbach będzie ciepła, ale wciąż trochę płynna, należy na środek pożywki nakropić kilka kropel roztworu drożdży z punktu A, przy pomocy pipetki pausterowskiej lub innej, np. zakraplacza czy strzykawki.

- K. Pozostawić kolby w ustronnym miejscu do odparowania pary wodnej, nie przesuwając ręką/przedmiotami nad nimi, aby nie zakazić pożywki. Dopiero po odparowaniu ścian kolby wyłożyć bibułą i zatkać korkiem jak niżej.

3. Przygotowanie krążków z bibuły i korków z waty

- A. Odkazić lub umyć ręce. Korki z waty przygotować tak, aby zakrywały całkowicie otwór kolby, ale bez nadmiaru waty. Korek powinien być gładki, aby uniknąć utkania w nim much. W tym celu można zrobić wgłębienie pośrodku niewielkiego fragmentu waty, a następnie uformować go, wygładzić i przymierzyć do kolby. Po rozlaniu pożywki należy zatkać kolby korkami i poczekać, aż odparuje woda ze ścianek. W kolejnych etapach korki będą opalane nad płomieniem palnika, aby uniknąć zakażenia hodowli.
- B. Odkazić lub umyć ręce. Krążki z bibuły/ligniny wyciąć tak, aby dokładnie zakrywały dno kolby – w tym celu można odrysować ołówkiem dno kolby na ligninie. Przygotować krążki w liczbie minimum 2 sztuki na jedną kolbę.
- C. Krążki z bibuły zapakować razem w folię aluminiową i wysterylizować w autoklawie lub opalać pojedynczo obustronnie na długiej pęsetce w płomieniu palnika do momentu lekkiego zbrązowienia.
- D. Krążki po 1–2 sztuki rozłożyć „jak parasol” na powierzchni gotowej pożywki w kolbie (po jej nakropieniu drożdżami, ostygnięciu i przesuszeniu), przy użyciu długiej i czystej pęsety metalowej. Najczęściej krążki umieszcza się w kolbach na drugi dzień po rozlaniu w nich pożywek, aby uniknąć konieczności dodatkowego osuszania kolb oraz umożliwić wcześniejsze namnożenie drożdży na pożywce (to nimi odżywiają się muszki owocowe). Czasami, na skutek wydzielania dwutlenku węgla

przez świeże drożdże, pożywka lub krążek bibuły zostają uniesione do góry w kolbie, po czym samoistnie opadają po pewnym czasie lub można je delikatnie poprawić pęsetą.

4. Przygotowanie próbek na poczwarki

Odpowiednią liczbę próbek umyć wodą z płynem, wypłukać wodą destylowaną, osuszyć w cieplarni lub na tacy z ligniną. Probówki ustawić na statywie. Na dnie każdej próbki umieścić pęsetą lub eżą mały kawałek waty, zwilżyć go kilkoma kroplami wody i zatkać próbkę korkiem z waty.

5. Izolacja poczwarek

Przy użyciu lekko zwilżonej wodą eży pobrać pojedynczo dojrzałe (ciemne) poczwarki z kolb hodowlanych i delikatnie przenieść na zwilżony kawałek waty w próbce, po czym zatkać korkiem. W każdej próbce izolujemy tylko jedną poczwarkę. Na jeden genotyp much należy wyizolować możliwie jak najwięcej poczwarek (min. 10). Probówkę od razu podpisać markerem (data, symbol genotypu z hodowli macierzystej). Obserwować rozwój poczwarek; zwykle po jednym dniu przeistaczają się w młodą muchę.

6. Wpuszczanie przepoczwarzonych much do kolb z pożywką

Z pomocą lupy ocenić płeć i fenotyp dorosłej muchy w próbce. Opisać próbkę symbolem płci i genotypu muchy. Zaplanować krzyżowania much, np. samice o oczach typu dzikiego z samcami o oczach białych

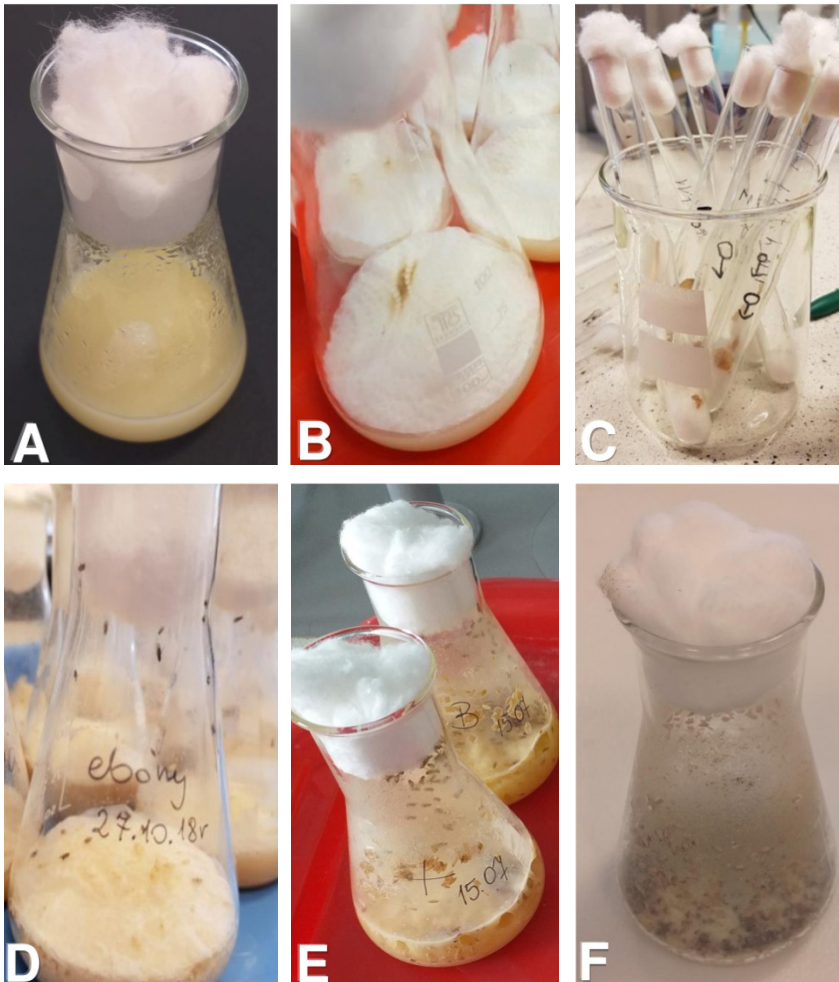
(mutacja typu *white*). Wpuszczać muchy, dobierając je w odpowiednie pary, do kolb z przygotowaną pożywką, na której wcześniej wyłożono krążki bibuły, i natychmiast zatkać kolby korkiem. Kolbę opisać (data założenia hodowli i genotyp/fenotyp much założycielek).

7. Prowadzenie hodowli

Prowadzić hodowlę w temperaturze pokojowej, notując pojawienie się kolejnego pokolenia lub pokoleń (jaj, larw i poczwarek). Wraz z pojawieniem się larw lub młodych poczwarek należy wypuścić pary rodzicielskie, aby nie doszło do ich przekrzyżowania się z pokoleniem potomnym. Obserwować liczebność i fenotyp tak uzyskanych much. W przypadku dłuższej hodowli muchy dorosłe należy przesypać do nowych kolb ze świeżą pożywką. Optymalny czas pożywki to 3–4 tygodnie w temperaturze pokojowej.

8. Pozyskiwanie much

Muszki do hodowli można też pozyskać, zwabiając je owocami lub roztworem drożdży. Przenosimy wówczas tylko same muchy do kolb. W tym przypadku przy dłuższej hodowli rośnie ryzyko zakażenia pożywki oraz nie ma kontroli nad genotypem wprowadzanej muchy.



Tablica barwna przedstawiająca kolejne etapy przygotowania i prowadzenia hodowli muszki owocowej. **A** – sterylna kolba z korkiem podczas suszenia ścian i pożywki oraz namnażania drożdży; **B** – w kolejnym dniu ściany kolb są suche i można na pożywkę rozłożyć opalone nad płomieniem palnika krążki bibuły; **C** – izolacja poczwarek do probówek; **D** – młoda hodowla muszek z mutacją ciała *ebony*, widoczne ciemne muchy dorosłe, a także jasnożółte larwy na powierzchni pożywki i krążka bibuły, a także w pożywkę; **E** – starsza hodowla muszek z widocznymi na ścianie młodymi i dojrzałymi poczwarkami; **F** – stara hodowla much, konieczny wcześniejszy pasaż much na nową pożywkę