

# 实验一 黑腹果蝇的培养与形态观察

## 一、实验目的

- (一) 观察并掌握果蝇形态的基本特点，学会区分雌雄果蝇；
- (二) 了解果蝇生活史中各个不同发育阶段的形态特点；
- (三) 观察果蝇几种典型突变体的表型特征；
- (四) 掌握实验果蝇的饲养、管理、麻醉、转瓶、接种等基本实验技术。

## 二、实验原理

黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 属于昆虫纲，双翅目，果蝇科，果蝇属。20 世纪初 Morgan 选择黑腹果蝇作为研究对象，利用新发现的白眼突变性状果蝇，设计系列严谨的杂交实验，发现了果蝇的伴性遗传以及连锁交换定律，第一次提出了基因在染色体上直线排列的观点，并因此于 1933 年被授予诺贝尔奖，开创了利用果蝇作为模式生物开展生命科学研究的先河。20 世纪 80 年代以后，果蝇的基因组操作取得重大进展，发展出一系列有效的实验技术，在发育的基因调控的研究、各类神经疾病的研究、帕金森氏病、老年痴呆症、药物成瘾和酒精中毒、衰老与长寿、学习记忆与某些认知行为的研究等方面均取得了突出成绩。2000 年，果蝇的全基因组测序基本完成，全基因组长约 165 Mb。

黑腹果蝇雌性体长 2.5 毫米，雄性略小。自然情况下，黑腹果蝇幼虫的首要食物来源是使水果腐烂的微生物，如酵母和细菌，其次是含糖份的水果等。

### (一) 果蝇的形态

#### 1. 身体各部分主要特征

果蝇头部有一对复眼，三个单眼和一对触角；胸部有三对足，一对翅和一对平衡棒；腹部背面有黑色环纹，腹面有腹片，外生殖器在腹部末端，全身有许多体毛和刚毛。

#### 2. 成虫雌雄的鉴别

雄性果蝇腹部有黑斑(black patch)，前肢有性梳 (sex combs)，而雌性没有，可以此来作区别雄性和雌性，如图 1 所示。



图 1 雌雄果蝇图

3. 果蝇常见的几种突变性状特征，如表 1 和图 2 所示。

表 1 常见突变型果蝇的性状特征

突变性状	基因符号	性状特征	所在染色体
白眼	<i>w</i>	复眼白色	X
棒眼	<i>B</i>	复眼横条形	X
黑檀体	<i>e</i>	体呈乌木色，黑亮	IIIR
黑体	<i>b</i>	体呈深色	IIL
黄身	<i>y</i>	体呈浅橙黄色	X
残翅	<i>vg</i>	翅退化，部分残留不能飞	IIR
焦刚毛	<i>sn</i>	刚毛卷曲如烧焦状	X
小翅	<i>m</i>	翅较短	X

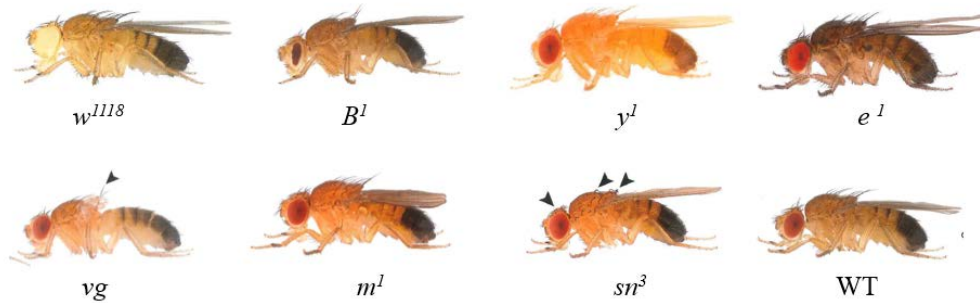


图 2 几种常见突变型果蝇图

## (二) 果蝇的生活史

果蝇的生活周期长短与温度关系很密切。30℃以上的温度能使果蝇不育和死亡，低温则使它的生活周期延长，同时生活力也降低，果蝇培养的最适温度为 20-25℃。

表 2 不同温度下果蝇的发育时间

	10℃	15℃	20℃	25℃
卵→幼虫			8 天	5 天
幼虫→成虫	57 天	18 天	6.3 天	4.2 天

从表 2 中可以看出，25℃时，从卵到成虫约 10 天。

卵：羽化后的雌蝇一般在 12 小时后开始交配，两天后才能产卵。卵长 0.5mm，为椭圆形，腹面稍扁平，在背面的前断伸出一对触丝，它能使卵附着在食物(或瓶壁)上，不致深陷到食物中去。

幼虫：从卵孵化出来后，经过两次蜕皮，发育成三龄幼虫，此时体长可达 4-5mm。肉眼可见其前端稍尖部分为头部，上有一黑色斑点即为口器。口器后面有一对透明的唾液腺，透过体壁可见到一对生殖腺位于躯体后半部两侧，精巢较大，外观上是一明显的黑点，而卵巢

则较小，可以此作为鉴别。幼虫活动力强而贪食，它们在培养基上爬行时，留下很多条沟，沟多而且宽时，表明幼虫生长良好。

**蛹：**幼虫生活 7-8 天准备化蛹，化蛹前从培养基上爬出，附着在瓶壁上，逐渐形成一梭形的蛹。在蛹前部有两个呼吸孔，后部有尾芽，起初蛹壳颜色淡黄而柔软，以后逐渐硬化，变为深褐色，表明即将羽化了。

**成虫：**幼虫在蛹壳内完成成虫体型和器官的分化，最后从蛹壳前端爬出。刚从蛹壳里羽化出来的果蝇虫体比较长，翅膀尚未展开，体表尚未完全几丁质化，故呈半透明的乳白色。透过腹部体壁，可以看到黑色的消化系统。不久，变为短粗圆形，双翅展开。体色加深。如野生型初为浅灰色，然后呈灰褐色。

### 三、实验器材

(一) 实验试剂：麦麸、蔗糖、丙酸、干酵母、琼脂、乙醚、二氧化碳等。

(二) 实验仪器：双目解剖显微镜、解剖针、培养瓶、毛笔、电陶炉、搪瓷缸（500ml）等。

(三) 生物材料：WT 黑腹果蝇及突变黑腹果蝇。

### 四、实验步骤

(一) 培养基的配制

#### 麦麸培养基

A：蔗糖 15g，加琼脂 0.9g，再加水 60ml。煮沸溶解。

B：麦麸 11g，加水 40ml，搅拌均匀。

先加热 A，待 A 中琼脂基本溶解后，倒入搅拌均匀的 B，混和加热至糊状，冷却至手背温感不太烫，加 0.67ml 丙酸，充分混匀后，再加 1.7g 干酵母粉，搅拌均匀后，趁热分装至指型管中，每管约 2cm 厚。待培养基冷却凝固后，用吸水纸吸干内管壁上的水分。每个瓶子用海绵塞封口，待用。

(二) 果蝇的麻醉

果蝇麻醉的方法常用的主要有两种：乙醚麻醉法以及二氧化碳麻醉法。其中二氧化碳麻醉法最为常用。

二氧化碳麻醉法：

这个方法比较安全，对果蝇伤害较小，很少能将果蝇伤害致死，且操作易于掌握，是实验研究中最常用到的。图3是本实验室二氧化碳麻醉法气路图。具体操作如下：

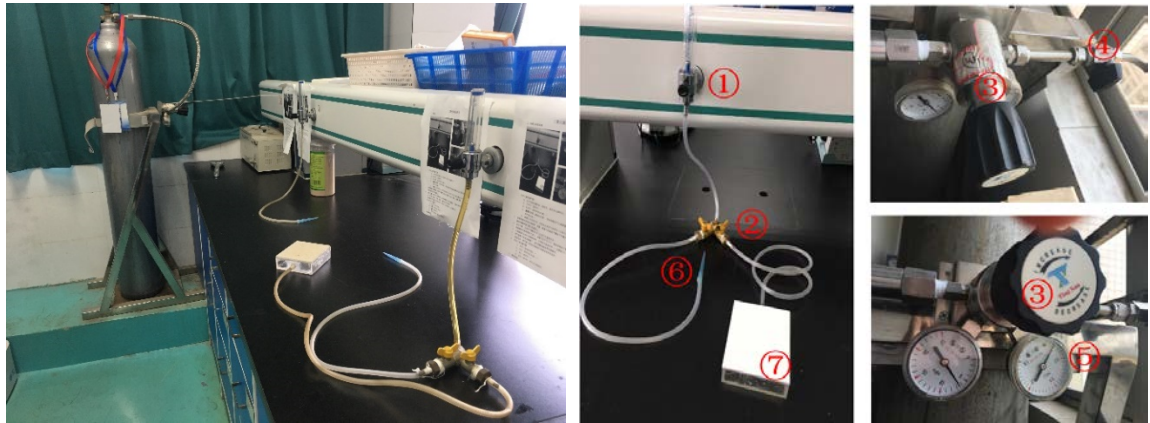


图3 二氧化碳气路

- 按一定顺序打开二氧化碳气路：
- 取需麻醉的果蝇管，倒置，将气嘴从下方插入管内，轻敲管壁，使麻醉的果蝇掉落于管口附近/滤纸上；
- 拔出气嘴，将管壁/滤纸上的果蝇倒入新的果蝇管中，用海绵塞封好管口，在管壁上做好标记（品种，日期，姓名），置于培养箱内培养；或将麻醉好的果蝇倒入已经在通气的气盒上，将气盒置于体视显微镜下，进行观察或挑选等实验操作。

### （三）果蝇的观察

#### 1. 果蝇生活史观察

用二氧化碳将果蝇麻醉，在气盒上挑选 3-5 对雌雄果蝇转入待用培养基中，置于 25℃ 进行培养，根据其生长周期，隔一定时间观察其生长情况（见图4）。

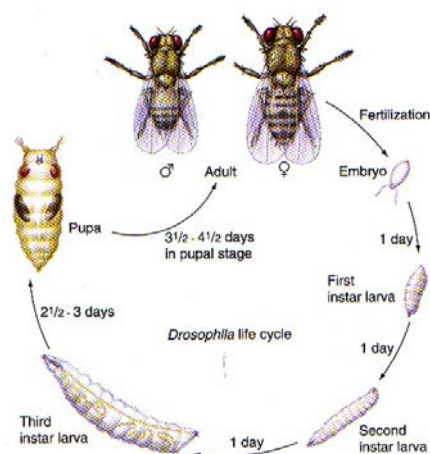


图4 25℃下果蝇生活史图

## 2. 果蝇性状观察

将 WT 及其它突变型果蝇用乙醚麻醉致死（果蝇翅膀外展 45 度角表示已死亡），置于体视显微镜下观察，区分各个不同品系果蝇之间性状的异同以及雌雄果蝇的异同。

重点观察：

- (1) 果蝇基本形态：包括果蝇的平衡棒、翅、刚毛、腹节、背纹、复眼、口器、触角等；
- (2) 雌雄果蝇的异同：
- (3) 不同品系果蝇之间性状的差异。
- (四) 果蝇的接种

将 WT 及突变型两种果蝇麻醉后，分别接入新鲜配制果蝇培养基中，每组每个品种各接两管，每管最好有 5 对果蝇。此两管将用于后续实验，请小心操作，不要混杂。

## 五、思考题

1. 如何裸眼及体视显微镜下鉴别雌雄果蝇？
2. 请举一例说明果蝇作为模式生物在生物学研究领域的应用。