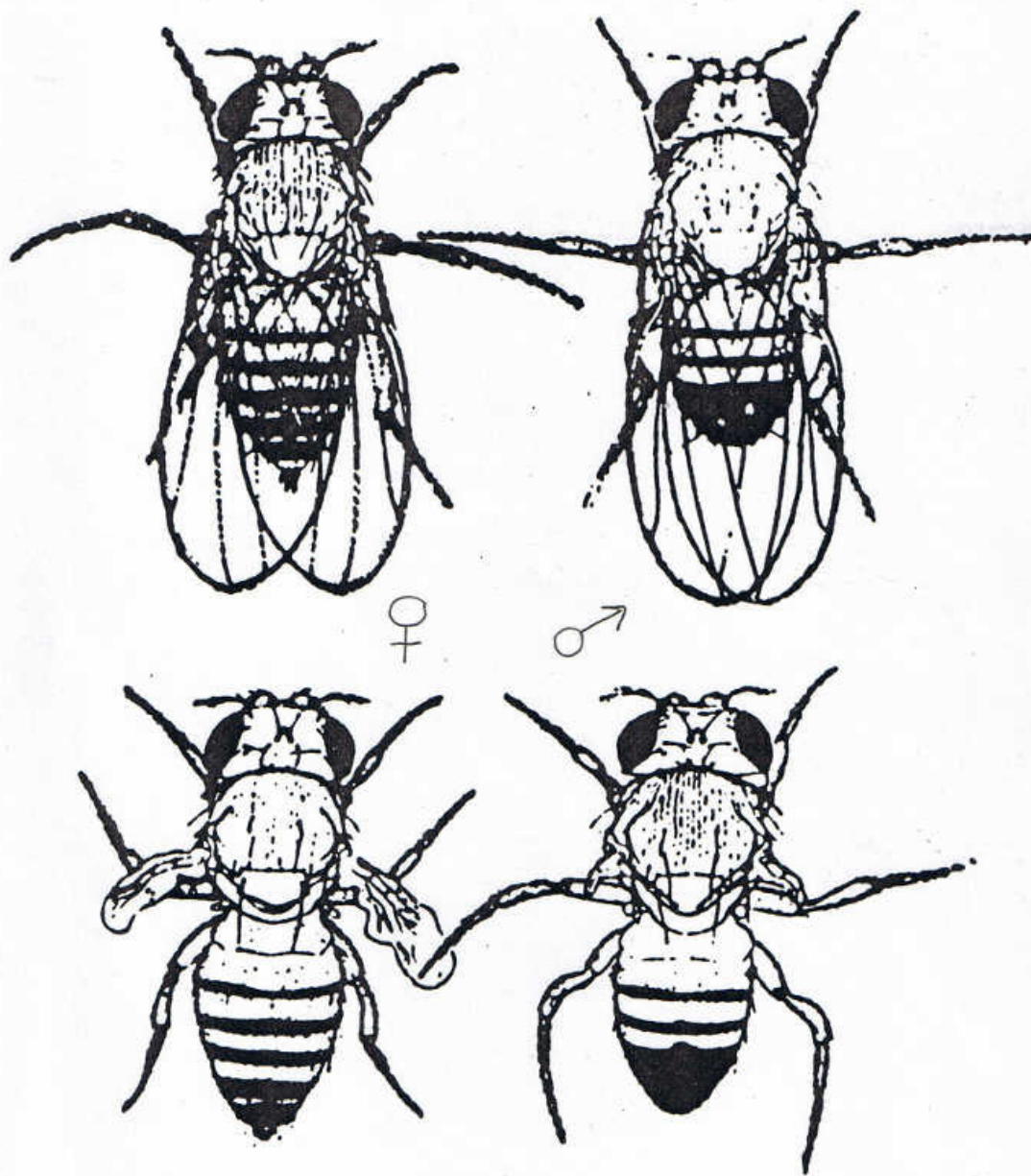


Arvelighedsforsøg med bananfluer



Bananfluer 1:30

BIOLOGISPECIALE

3.F, 1986/87.

Anni Haraszik

Påse Andreasen

Indholdsfortegnelse.

Indledning	1
Fortegnelse over vore Drosophila-stammer	2
Navngivning af forsøgsglas	2
Alment om bananfluen	4
Bananfluens aktivitetsrytme	5
Parrings-legen	6
Mitose/ meiose	8
Mendels 1. lov	9
Mendels 2. lov	12
Kønsbunden arv	14
Overkrydsning/ kobling	15
Forsøgsbeskrivelse, forventede resultater	17
Den daglige rutine	19
Madlavning	20
Infektionsfaren	22
Tidsforløb	23
Resultater	26
Statistikglas	30
Erfaringer	34
Vurdering	35
Konklusion	36
Litteraturliste.	37
Bilag.	
Fortegnelse over Drosophila stammer	38
Bananfluer som fiskefoder	39
Fotoreportage	40-46

Indledning.

Bananfluen, *DROSOPHILA MELANOGASTER*, findes næsten overalt på jorden. *Drosophila* er en særdeles velegnet organisme til genetiske forsøg, fordi:

- 1.den har enkle næringskrav og fylder lidt,
- 2.den gennemløber hele sin livscyklus på 10 dage ved 25°C,
- 3.den producerer et stort afkom,
- 4.den kan let bedøves til undersøgelse og sortering,
- 5.den har mange arvelige variationer, der let kan iagttages ved svag forstørrelse,
- 6.den er ret robust,
- 7.den har et lille antal kromosomer (4 par), der er let kendelige og lette at undersøge,
- 8.stamkulturer af *Drosophila* kan let skaffes fra forskellige kilder.

En intens udforskning af *Drosophilas* genetik gennem de sidste 50 år har resulteret i et væld af litteratur og kendskab til hundredvis af dens gener.

Udfra dette kendskab til "genetikens klassiker" bestemte vi os for at udføre forskellige forsøg, der kunne påvise de mendelske love.

Fortegnelse over vore drosophila-stammer.

Egenskaber.

- + vildtype. Røde øjne, gul/brunstribet krop.
- vg vestigial(2 67,0). Vinger stærkt reducerede, nærmest rudimentære.
- e ebony(3 70,7). Kropsfarven sort, langt mørkere end vildtypens.
Kroppen mindre, knap så robust.
- w white(1 1,5). Øjenfarve hvid.
- m miniature(1 36,1). Vinger små med grålig overflade.
- f forked(1 56,7). Børster korte, fortykkede og ofte bøjede, "proptrækker".
(Kromosomnummer, 1 er X-kromosomet genetsplacering i centimorgan)

Stammer.

- + vildtype
- w hvidøjet flue, kønsbundet egenskab.
- e,vg sort, kortvinget flue, ikke-koblede egenskaber.
- w,m,f hvid, kortvinget, proptrækkerbørstet flue, koblede egenskaber.
øjet

Navngivning af forsøgsglas.

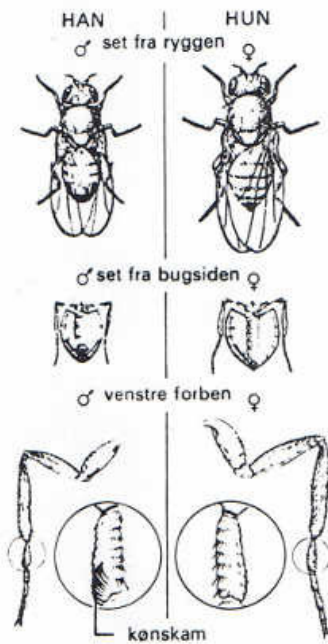
Da der i alle glas er tale om krydsning mellem vildtype og én af de recessive stammer, kan navngivningen foretages temmelig enkelt. Da de fluer vi fik sendende, hvade opholdt sig i de samme glas ca. en uge. kunne vi ikke regne med, at finde jomfruer der, hvorfor vi måtte tage os af deres afkom i stedet. Fluerne vi fik sendende kaldte vi 0. generation, og de blev puttet i glas med nr. 01, 02 osv, i praksis 1, 2 osv. Vildtypen blev naturligvis forkortet til +, hvidøjet til w, sort, uvinget til e og hvidøjet, kortvinget, proptrækkerbørstet til m. Således var der i glas +1 mindst 3 par fluer fra den oprindelige tilsendte bestand, etc. Da fluerne skulle skifte glas ca. hver anden dag, skulle deres forskellige opholdssteder også nummereres, og dette blev med bogstaver, således at +1a var det første glas, ovennævnte lille familie boede i. I dette glas ville der så også komme de første fluer, vi skulle sortere oftest muligt for at få jomfruer, foruden dem der ville komme i de tilsendte glas, kaldet stamglassene, 1 for hver stamme.

For hver stamme blev der midlertidigt oprettet han, hun og jomfruglas, og da der var nok fluer til at lave de første krydsningsglas, blev fluerne sendt videre til disse. Som eksempel skulle vi krydse w-hunner med +-hanner, og dette glas kom til at hedde wølla, underforstået at hannerne var vildtype. 11 fordi vi nu var nået til 1. generation, F₁, 1.glas af sin type, a stadig som det første glas med netop denne familie. Også i disse glas ville der komme hunner, der skulle bevares som jomfruer, disse blev sendt direkte videre til næste generations krydsningsglas.

Fordi der havde været problemer med jomfruerne, ville vi nu fortsat holde afkommet fra hver glas for sig, så vi evt. kunne føre fejlene tilbage til oprindelsen og eliminere resultater for de forurenede andre forsøgsglas' resultater. I glasset w♀11 fra før skulle vi bruge både hunnerne og hannerne i det nye krydsningsglas, så det nye glas kom til at hedde w♀21, for at vise dets herkomst samme bogstavbetegnelse, 21 viser at det er 2.generation, 1.glas.

I andre tilfælde skulle kun det ene køn fra det glas bevares, mens det andet køn skulle komme fra et rent stammeglas. Dette var tilfældet for e♀11, hvor 2.forsøg fordrede, at kun hannerne blev gemt, medens hunnerne skulle komme andetsteds fra. Derfor kom det nye glas til at hedde e♀♂31, e♀♂ for at kunne huske dels herkomst, dels at det var hannerne vi brugte fra dette glas, 31 for at vise, at det var 1.glas af "3." generation eller 1. generation af analysekrydsningen, for at adskille den fra e♀21. m♀♀22 skulle ikke skilles fra nogen F₂-glas, så det kom også op i 20'erne.

Alment om bananfluen.



Kønsbestemmelse.

Som det ses på figuren, er der tydelige forskelle på hannen og hunnen. Ses fluen fra ryggen, kan man med det blotte øje se, at hannen er noget mindre end hunnen, at dens bagkrop er mere buttet, hvor hunnens er spids, og at bagkroppen er mørkere end hunnens, hvis fluen er mere end 6 timer gammel, så vinger, farver osv, er helt udviklede. Ved forstørrelse kan man også se hannens kønskam som et tydeligt "komma" på forbenet. Disse kendetegn har vi brugt, og fundet tilstrækkelige til bestemmelse af kønnet, da vi fik rutine.

Start/videreførelse af "familie"/glas.

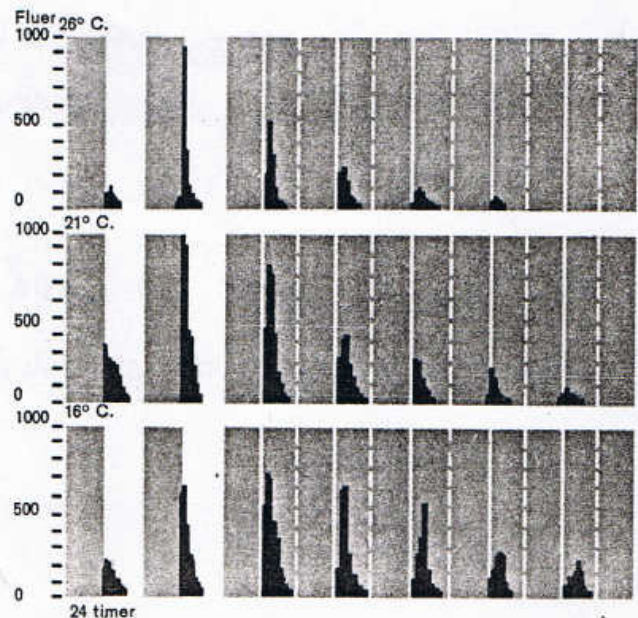
Når man har 6 hunner og 3 hanner af den/de ønskede stammer, kan man sætte dem sammen i et nyt glas. Herefter skal disse fluer skiftes over til nye glas hver 2./3.dag, for at glasset ikke skal blive for overbefolket. Dette vil nemlig føre til, at larverne bliver underernærede, og nogle genotyper vil blive forfordelt, så der kommer forvanskede resultater. Fx. fandt vi ud af undervejs, at "ebonyerne" var meget sarte, hvilket vi ikke tog hensyn nok til. Glassene holdes ved 25°C, så larverne kan udvikles hurtigst muligt, dog blev nogle af glassene også udsat for de lavere temperaturer vi brugte, når vi ville forhindre de nyklækkede fluer i at parre sig. Efter ca. et døgn vil ægget klække til larve, og efter endnu 4 døgn har larven gennemløbet 3 stadier og vil nu kravle op på glassets side for at forpuppe sig. Puppen er i begyndelsen hvid, men bliver efter få timer brun. Efter tre dage er den meget mørk, og efter 4,5 dag vil den voksne flue komme frem. Alle disse tal gælder dog kun som gennemsnit under ideelle forhold. Når fluen lige er kommet frem vil den endnu være hvid, og vingerne er helt sammenkrøllede. Efter 6 til 12 timer er fluen blevet gul m. sorte striber, eller evt. helt sort. Vingerne er nu også helt udfoldede. Desuden er fluerne nu frugtbare. De skal derfor skilles hver 12. time, dersom man ønsker jomfruer, evt. hver 14. time ved temperaturer på 15°-18° C.

Bananfluens aktivitetsrytme.

Alle dyr har deres egen indre rytme, tilstedeværelsen af en indre rytme hos bananfluen fremgår af den kendsgerning, at den kun bryder ud af puppehylstret ved daggry og ikke på andre tidspunkter i døgnet.

Enhver af disse rytmer synes at opstå i organismen indre og at være uafhængige af stimuli udefra. Hertil kommer, at de formentlig er medfødte og ikke er resultat af tillæring, selv om de måske ikke viser sig lige med det samme. Det er for eksempel umuligt at forudberegne, hvornår bananfluer bryder ud af puppehylstrene, hvis de holdes i mørke. Aktiviteten kan bringes ind i et rytmisk tidsmønster blot ved at udsætte fluerne for et enkelt lysglimt, der ikke bebøver at vare længere end en totusindedel sekund. Fra det tidspunkt vil den regelmæssige rytme gå i gang, skønt den ikke vil være synkroniseret med døgnet's skiftende perioder, medmindre fluen udsættes for netop disse perioder. Man er ikke helt klar over, hvorfor et så kort lysglimt har denne overraskende virkning, men en af forklaringerne kan være, at det virker som en synkronisering af flere forskellige indre

"ure", der hidtil har arbejdet i hver sin rytme og har været ude af takt med de andre, således at det ikke har været til at påvise nogen regelmæssighed. I samme øjeblik alle disse "ure" begynder at arbejde i takt med hinanden, træder den kollektive rytme tydeligt frem.



Bananfluerne bryder ud af puppehylstrene ved daggry. Rytmen er næsten upåvirket af temperaturen, selv i konstant mørke, men som diagrammerne viser, sker der en svag forskydning i rytmen ved 16° C (forholdet mellem tidspunkt og »fødselstal« er angivet med de røde figurer). Ved disse forsøg blev pupperne holdt i konstant mørke efter 48 timers normale lys-mørke vilkår.

Parrings-legen

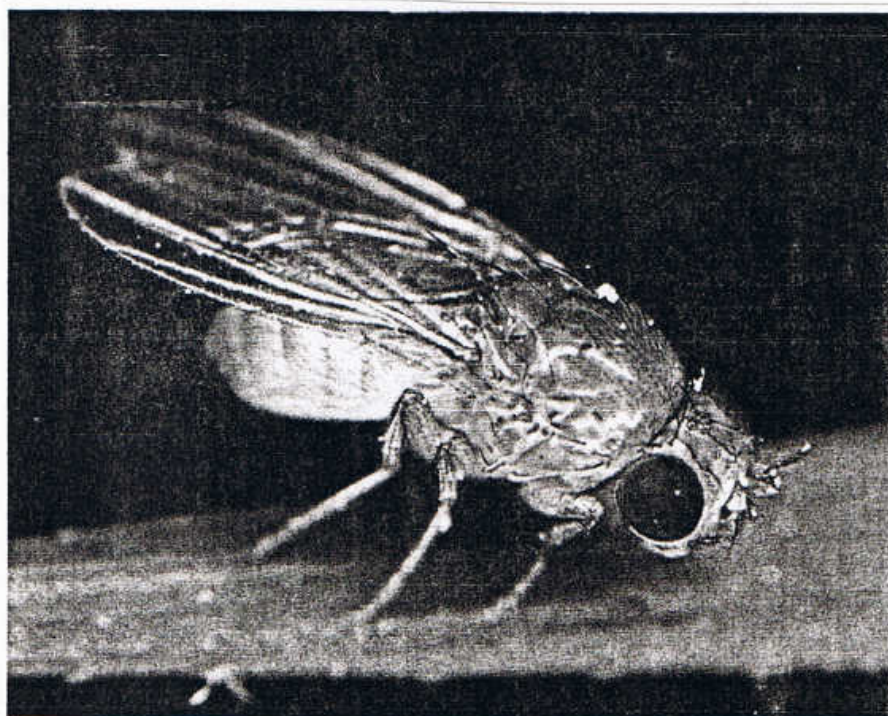
Frugtfluerne, hvortil bl.a. eddikefluen og bananfluen hører, er små insekter, hvis larver lever i frugt og andet og forvolder betydelig skade på frugthøsten i de varmere dele af verden. De fuldt udvoksede fluer tiltrækkes også af oplagret frugt og alkoholholdige drikkevarer og er derfor en plage. Under deres videnskabelige navn *Drosophila* er bananfluerne bedre kendt som genstand for genetiske forsøg. Der findes omkring 2000 arter, hvoraf nogle har

verdensvid udbredelse, men til trods for en betydelig overlappning med hensyn til udbredelsesområder og levesteder krydser arterne sig ikke med hinanden. De holdes adskilt af et særligt kurtiseringsritual.

En han-bananflue har en meget liberal indstilling til kurtisering. Han kurtiserer ikke bare enhver frugtflue uanset art, men også alle små bevægelige objekter. Hans fremgangsmåde er at nærme sig genstanden for hans interesse inden for et par millimeter og undersøge den ved hjælp af lugt og lyd. Han strækker den ene eller begge vinger ud og vibrerer med dem, hvilket frembringer en summen, der er så svag, at den



For at tiltrække sin mave strækker hanfrugtfluen den ene eller begge vinger ud og vibrerer med dem for at frembringe en »sang«, der består af en pulserende summen. Hunnen er i stand til at skelne mellem de forskellige arters frekvens.



kun kan høres, når man anbringer frugtfluen på en følsom mikrofonmembran. Denne summen består af korte lydimpulser af nøje afgrænset varighed og frekvens. Hver frugtflue-art har sin egen summen. Hunnen opfatter denne summen gennem sine følehorn, og hvis det er hendes egen arts "kendingsmelodi", lader hun hannen slikke hendes genitalier og kopulere. Hvis det er en fremmed summen, hvis hunnen ikke er kønsmoden eller hvis hun allerede har parret sig, afviser hun bejleren ved at besvare hans summen og sparke til ham med bagbenene. På denne måde opretholdes artens renhed gennem hunnens identificering af hannen. Denne identifikationsmekanisme er så præcis, at tidsmellemløbet mellem "kendingsmelodiernes" impulser er tilstrækkeligt til at sikre en effektiv skelnen mellem arterne. At de enkelte arter ikke krydser sig med hinanden, skyldes udelukkende hunnernes evne til at skelne mellem hannerne. Eller med en omskrivning af det gamle ordsprog: Manden spør, men kvinden rå'r.

Meiose (første deling)

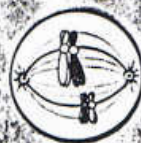
1. To kromosompar i hver celle. Hvert kromosom består af to identiske kromatider.



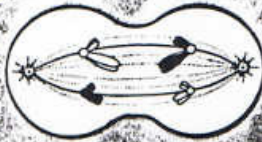
2. Hvert par to kromosomer mødes og danner en tetrade (bivalent) bestående af fire kromatider.



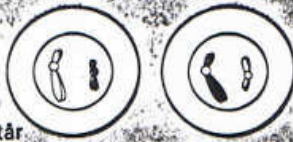
3. Kernemembranen forsvinder. Tetraderne lægger sig i tenens ækvatorialplan. Tenens tråde er fæstnet til centroméerne.



4. Hver bivalent deles i to kromosomer, som bevæger sig mod hver sin pol. Hvert kromosom består stadig af to kromatider. Cellen deler sig.



5. Resultatet er to celler. Hver indeholder halvt så mange kromosomer som den oprindelige celle. Kromosomerne består stadig af kromatidepar.



Mitose

1. To kromosompar i hver celle. Hvert kromosom består af to identiske kromatider.



centromer
kromosom bestående af to kromatider

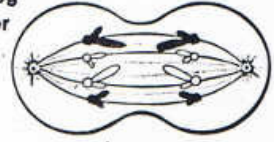


2. Der dannes ikke tetrade.

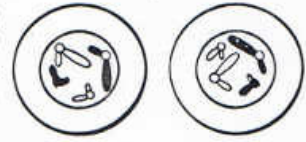
3. Kernemembranen forsvinder. Kromosomerne lægger sig i tenens ækvatorialplan. Tenens tråde er fæstnet til centroméerne.



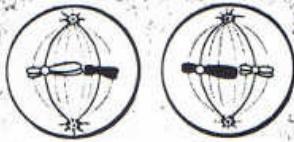
4. Kromatiderne skilles og bevæger sig mod hver sin pol. Cellen deler sig.



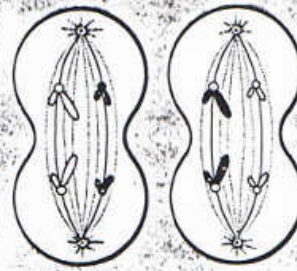
5. Resultatet er to celler. Hver indeholder det samme antal kromosomer som den oprindelige celle. Hvert kromosom består af ét kromatid.



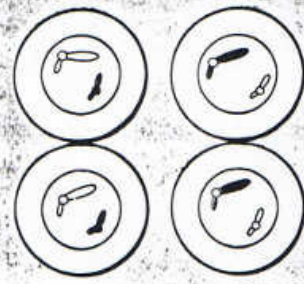
Meiose (anden deling)



6. Kromosomerne samles igen i tenens ækvatorialplan. Hver indeholder to kromatider.



7. Nu skilles kromatiderne og går til hver sin pol. Cellen deler sig.



8. Resultatet er fire celler. Hver indeholder halvt så mange kromosomer som den oprindelige celle. Hvert kromosom består nu af ét kromatid.

Figur : Forskellene på mitose og meiose. Ved meiosen danner kromosomerne par og der indgår to særskilte delinger. Resultatet er en halvering af kromosomtallet.

MENDELS FØRSTE LOV.

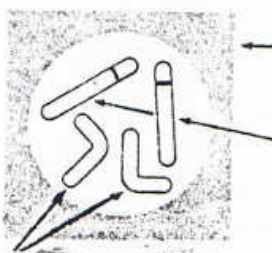
Bananfluen har 4 gange 2 kromosomer, som vi illustrerer som f.eks. på figur 1. Stregen og e'et viser, at her sidder genet for kropsfarve, i vores tilfælde ebo-ny, altså sort.

Fig. 1.
Kromosomet ser således ud.



Fig. 2.

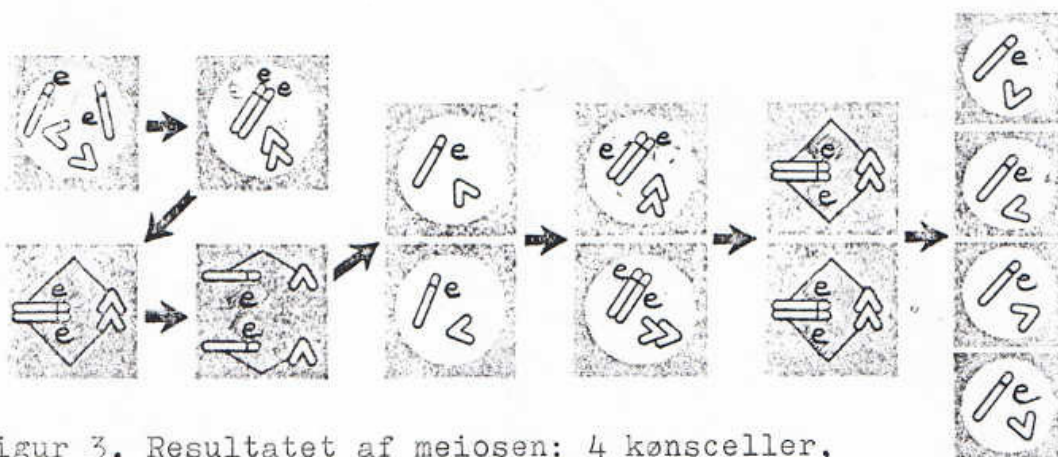
Figur 2 viser, at der i alle celler findes kromosompar. I denne celle har begge de aflangt illustrerede kromosomer genet e.



Dette er en celle af en bananflue.

I disse kromosomer sidder arveanlæggene for sort kropsfarve.

To andre kromosomer. De øvrige 4 kromosomer er udeladt.

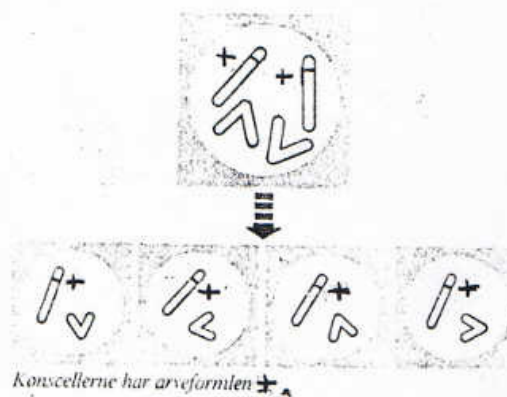


Figur 3. Resultatet af meiosen: 4 kønsceller, hver med et arveanlæg for sort kropsfarve. Kønscellerne har arveformlen e.

Både sorte og andre fluer har meiose, her ses eksempel på begge dele, de sorte på figur 3, de sribede og dermed normale, vildtypen, på figur 4.

Figur 4.

Når bananfluen uden e, altså med +, danner kønsceller, er det efter samme princip.



Kønscellerne har arveformlen +.

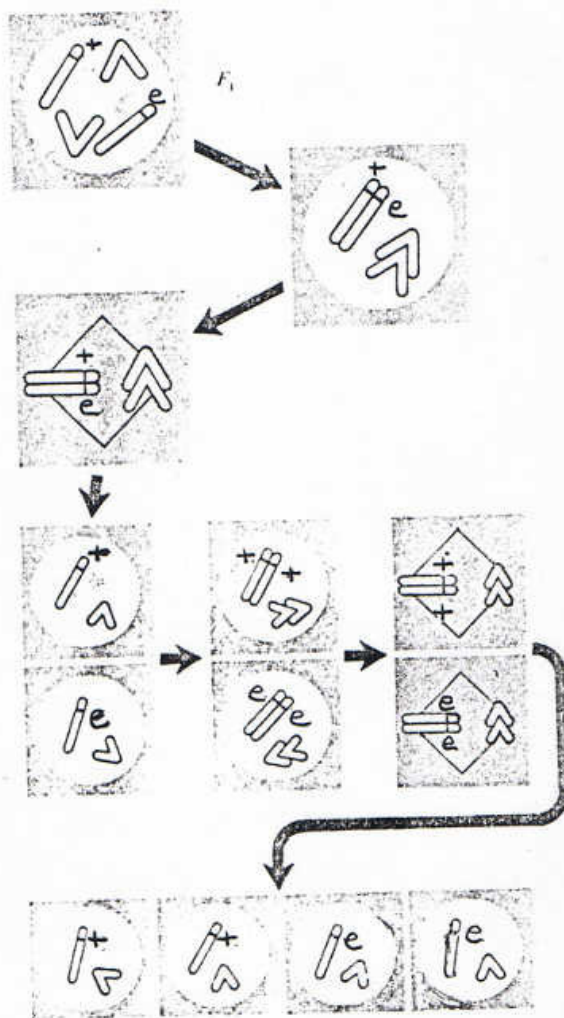
På figur 5 ses resultatet af en sammensmeltning mellem de to forskellige slags kønsceller.

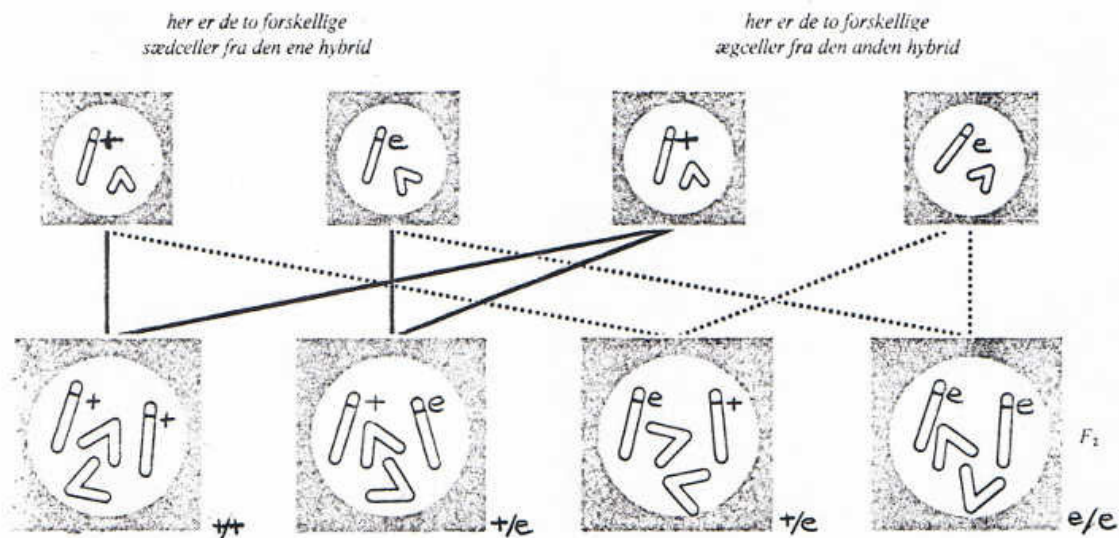
Figur 5.
Kønscellerne smelter sammen.



Resultatet er det samme, hvad enten kønscellen med "e" er sædcellen og kønscellen med "+" er ægcellen, eller omvendt. Den befrugtede ægcelle har arveformlen $+/e$. Det ene sæt kromosomer stammer fra moderen, det andet fra faderen. (Bananflue-genetikken er så godt udviklet, at den har sin egen nomenklatur. Hvor man ellers ville skrive ee, skriver bananfluegenetikken e/e . "+" står altid for vildtypen.) Det individ, der udvikles af den befrugtede ægcelle, er hybrid F_1 . Ved en hybrid forstår man afkommet af forældre med forskellige arveanlæg. Følgende almene regel gælder: alle F_1 -individer er ens. Hybriden skal nu parres med en af sine søskende, der naturligvis også har arveformlen $+/e$. For at forstå, hvad der sker, må vi se på hybridens kønscelledannelse (figur 6).

Figur 6.
Hybriden danner altså to slags kønsceller. Vi ser, at +, der stammer fra den ene af forældrene, er blevet skilt fra e, der stammer fra den anden af forældrene, ved hybridens kønscelledannelse. 50% af kønscellerne indeholder +, og de andre 50% indeholder e.

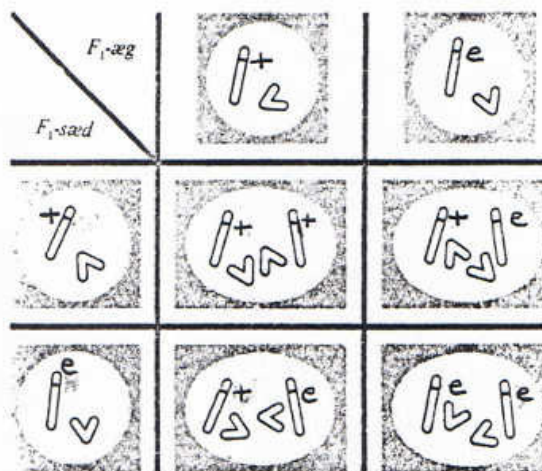




Figur 7.

Der er lige store chancer for hver af de 4 kombinationer. F_2 -generationen kommer følgelig til at bestå af bananfluer med arveformlerne $+/+$, $+/e$, $e/+$ og e/e , hvor de 3 første vil give stribet krop, og kun den sidste homozygotisk recessive e/e vil blive sort.

Man foretrækker ofte at stille begivenhedsforløbet i figur 7 op i et skema som figur 8.



Figur 8.

Af figur 6 kan man udlede Mendel's første lov:

De fra forældrene modtagne arveanlæg skilles atter ad ved hybridens kønscelledannelse, 50% af hver.

Mendel, som denne lov er opkaldt efter, var en czechisk augustinerpater, som efter langvarige forsøgspublicerede denne og Mendels 2. lov i 1865. Mendels arbejder fik ikke betydning i samtiden; ingen forstod disse loves almengyldighed. Først da 3 forskere i år 1900 selv fandt frem til disse love, fik man øje for Mendels geni.

MENDELS ANDEN LOV.

Hidtil har vi undersøgt krydsninger af typen $+/e \times +/e$ eller $+/+ \times e/e$ o.s.v. , altså krydsninger, hvor man kun holder øje med et enkelt genpar. I det følgende undersøges krydsninger af typen $+/+, e/e \times vg/vg, +/+$, hvor man holder øje med to genpar samtidigt.

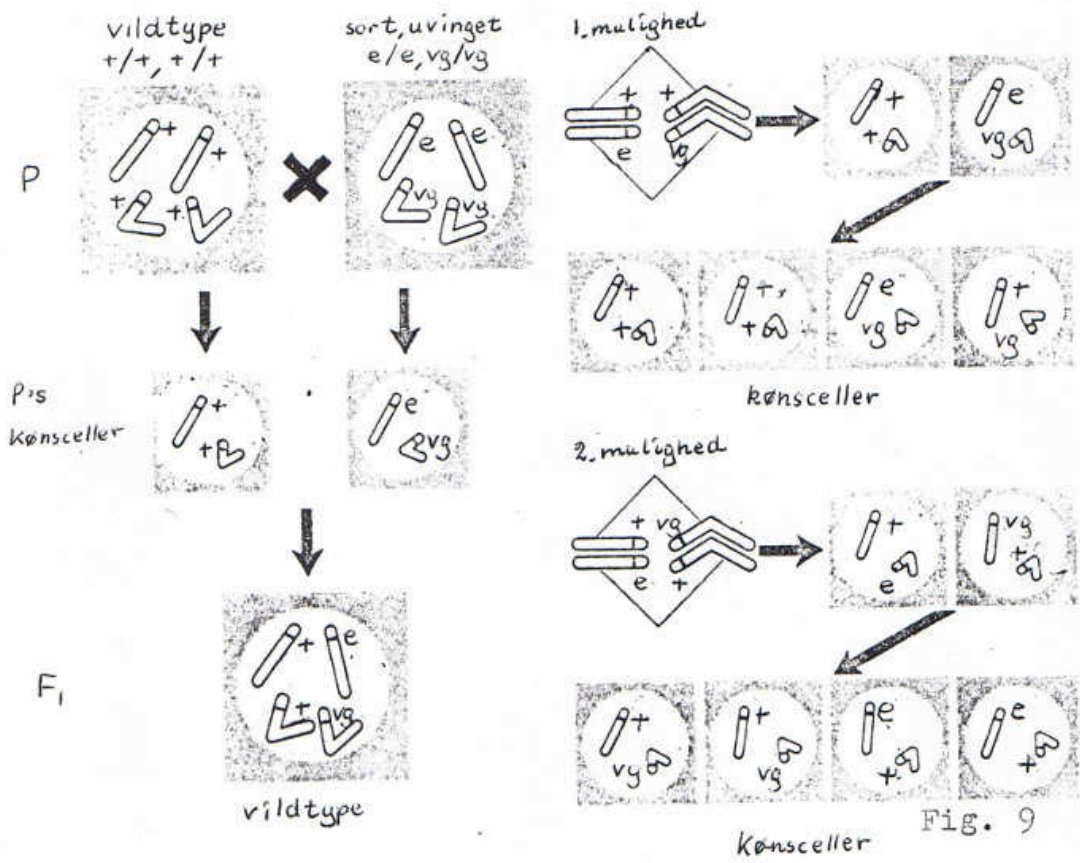
Vi kan først slå fast, at det er ligegyldigt for arvegangen hvilke egenskaber, der krydses sammen.

Genotypen for vildtypen er $+/+, +/+$. $+$ er dominerende. Genotypen for sort, uvinget er $e/e, vg/vg$. Begge er vigende. e sidder på de stavformede kromosomer og vg på de v-formede.

Når F_1 danner kønsceller, er der to muligheder for kromosomfordeling: første og anden mulighed på figur 9. Alle $+$ 'erne kommer ganske vist til F_1 fra én kønscelle, og e og vg kommer begge til F_1 fra en anden kønscelle. Men ved F_1 's kønscelledannelse følges e og vg lige så ofte ad som de vil skilles. Der er altså fri kombination mellem ikke-koblede kromosomer.

Alle fire kønscelle-typer dannes i samme antal (statistisk set 25 % af hver). Heraf udledes 2. mendelske lov:

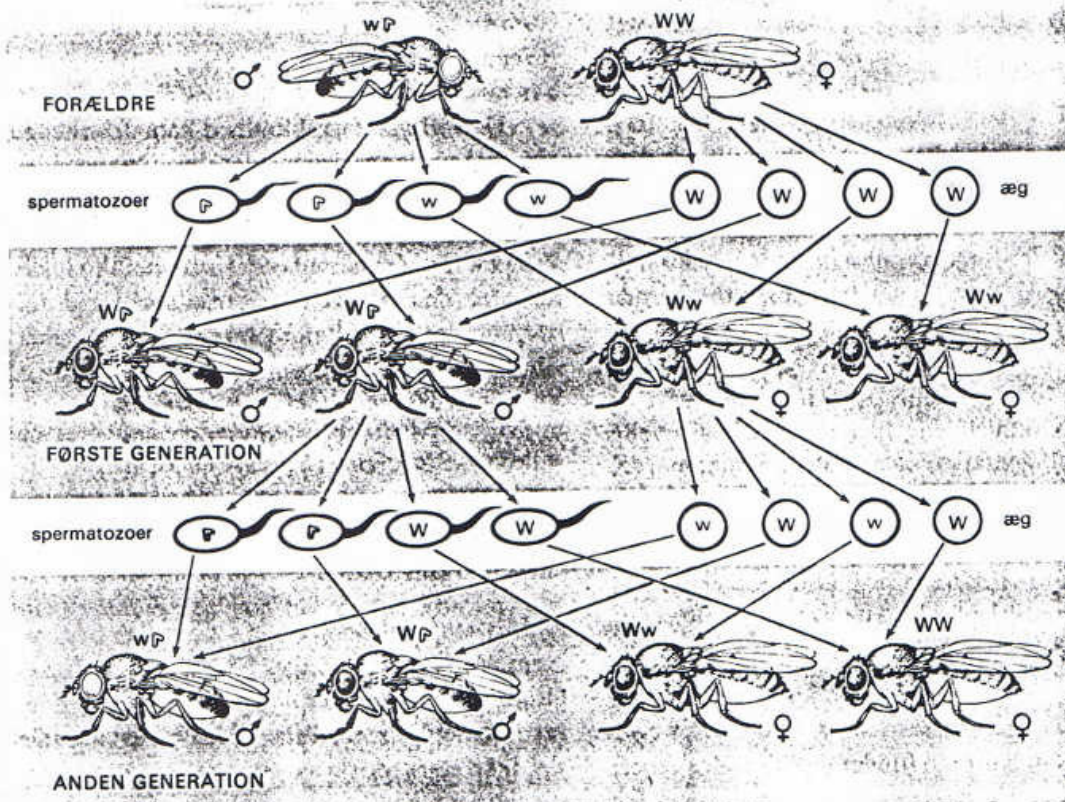
Forskellige genpar i F_1 fordeles til kønscellerne uafhængigt af hinanden.



	$+, +$	$+, vg$	$e, +$	e, vg
$+, +$	$+/+, +/+$	$+/+, +/vg$	$+/e, +/+$	$+/e, +/vg$
$+, vg$	$+/+, +/vg$	$+/+, vg/vg$	$+/e, +/vg$	$+/e, vg/vg$
$e, +$	$+/e, +/+$	$+/e, +/vg$	$e/e, +/+$	$e/e, +/vg$
e, vg	$+/e, +/vg$	$+/e, vg/vg$	$e/e, +/vg$	$e/e, vg/vg$

Figur 10.

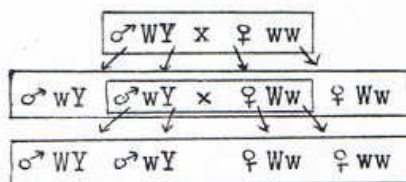
Kønsbunden arv.



Figur 1: Nedarvningen af hvide øjne hos bananfluen. Genet for hvide øjne sidder på X kromosomet.

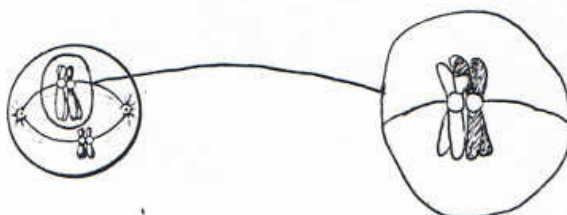
Som det ses på figur 1, kan der være forskel på nedarvningen, hvis der er forskel på kønnet. Medens hunnerne har 2 X-kromosomer vil hannen have 1 X- og 1 Y-kromosom. Som antydnet ovenfor bærer X-kromosomet genet for øjenfarve, medens Y-kromosomet er neutralt. Derfor vil en recessiv egenskab også kunne slå igennem hos en han, selv om den kun sidder på det ene kromosom, bare den sidder på kønskromosomet X. Ligeledes vil en han altid arve sit X-kromosom fra moderen, hvorfor hendes egenskaber altid vil blive sønnens. Dette ses i den reciprokke krydsning, figur 2.

Figur 2.

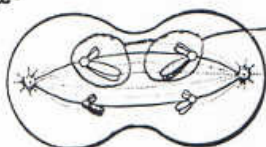


Overkrydsning/kobling.

3. Kernemembranen forsvinder. Tetraderne lægger sig i tenens ækvatorialplan. Tenens tråde er fæstnet til centromérene.

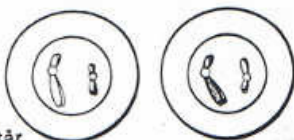


4. Hver bivalent deles i to kromosomer, som bevæger sig mod hver sin pol. Hvert kromosom består stadig af to kromatider. Cellen deler sig.

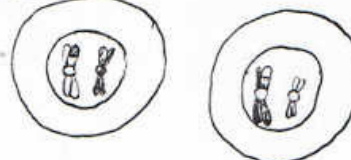


Krydsningen finder sted.

5. Resultatet er to celler. Hver indeholder halvt så mange kromosomer som den oprindelige celle. Kromosomerne består stadig af kromatidepar.



Egenskaberne skilles ad.



Og er nu hver for sig.

Figur 1.

Når overkrydsning mellem kromosomer skal beskrives, er det bedst at studere meiosens 1. deling endnu engang. Her ligger kromosomerne nemlig så tæt sammen, at de kan vokse sammen, for siden at blive skilt ad, med en ny kombination til følge. I praksis vil det betyde, at de allele gener bytter plads og bliver skilt ad, fra de andre gener, de var sammen med fra starten. Herved får man et mål for, hvorledes generne sidder i forhold til hinanden, idet afstanden måles i centimorgan eller procents sandsynlighed for, at overkrydsningen sker netop mellem de to gener, man vil fastlægge den indbyrdes afstand for. Jo tættere to gener sidder på hinanden, jo mindre vil sandsynligheden være for overkrydsning mellem dem. For bananfluerne gælder desuden den generelle regel, at der aldrig sker overkrydsning hos hannerne, hvorfor et kønskromosom vil vise de samme egenskaber mht. overkrydsning.

Forsøgsbeskrivelse, forventede resultater.

Kønsbunden arv.

1.forsøg; hvidøjet hun krydses med vildtypehan, afkommet krydses med sig selv.

P w/w x +/Y
 ↓
F₁ +/w x w/Y vildtypehunner, hvidøjede hanner
 ↓
F₂ +/w w/w +/Y w/Y hvidøjede og vildtype-hunner og -hanner

Da sandsynligheden for hver af kombinationerne i F er den samme, forventes 25% af hver.

2.forsøg; hvidøjet han krydses med vildtypehun, afkommet krydses med sig selv.

P +/+ x w/Y
 ↓
F₁ +/w x +/Y vildtypehunner og -hanner
 ↓
F₂ +/+ +/w +/Y w/Y vildtypehunner, hvidøjede og vildtype-hanner

Da sandsynligheden for han og hun er den samme, og sandsynligheden hos hannerne for hvidøjet og vildtype er den samme, forventes der 25% hvidøjede hanner, 50% vildtypehunner og 25% vildtypehanner.

Mendels love.

1.forsøg; sort, uvinget krydses med vildtype, afkommet krydses med sig selv.

P +/+, +/+ x e/e, vg/vg
 ↓
F₁ +/e, +/vg x +/e, +/vg
 ↓

F ₂	+, +	+, vg	e, +	e, vg
+, +	+/+, +/+	+/+, +/vg	+/e, +/+	+/e, +/vg
+, vg	+/+, +/vg	+/+, vg/vg	+/e, +/vg	+/e, vg/vg
e, +	+/e, +/+	+/e, +/vg	e/e, +/+	e/e, +/vg
e, vg	+/e, +/vg	+/e, vg/vg	e/e, +/vg	e/e, vg/vg

Genotype	Fenotype	Forholdstal		
+/+, +/+	vildtype	1	}	9 56,25%
+/e, +/+	vildtype	2		
+/+, +/vg	vildtype	2		
+/e, +/vg	vildtype	4		
e/e, +/+	sort	1	}	3 18,75%
e/e, +/vg	sort	2		
+/+, vg/vg	uvinget	1	}	3 18,75%
+/e, vg/vg	uvinget	2		
e/e, vg/vg	sort, uvinget	1 → 1		6,25%

Her går ud fra, at alle kasserne i ovenstående skema har lige stor sandsynlighed, dette giver de viste sandsynligheder, desuden vil e og vg hver for sig have 25% sandsynlighed i forhold til den tilsvarende vildtype.

2.forsøg, sort, uvinget krydses med vildtype,
afkommet krydses med sort, uvinget.

P +/+, +/ + x e/e,vg/vg

F +/e, +/vg x e/e,vg/vg vildtypehunner og -hanner

B +/e,+/vg +/e,vg/vg e/e, +/vg e/e,vg/vg alle 4 muligheder

Da afkommet denne gang kun kommer an på hybridens kønscelle, og denne kun har 4, lige sandsynlige muligheder, vil de 4 resultater også hver have 25% sandsynlighed.

Koblede gener.

Hvidøjjet, kortvinget, proptrækkerbørstet krydses med vildtype,
afkommet krydses med hvidøjjet, kortvinget, proptrækkerbørstet.

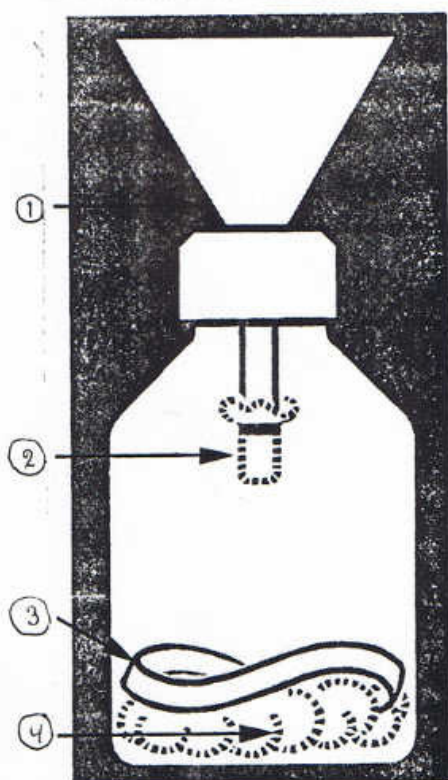
P +/+,+/+,+/+ x w/w,m/m,f/f

F +/w,+/m,+/f x w/w,m/m,f/f

F	Genotype	Sandsynlighed
	w/w,m/m,f/f	25,96%
	w/w,m/m,+/f	6,74%
	w/w,+/m,f/f	3,56%
	w/w,+/m,+/f	13,74%
	+/w,m/m,f/f	13,74%
	+/w,m/m,+/f	3,56%
	+/w,+/m,f/f	6,74%
	+/w,+/m,+/f	25,96%

Om generne w,m og f vides, at de sidder på samme gen, placeret hhv. 1,5, 36,1 og 56,7 centimorgan fra samme ende. Derfor vil der være en sandsynlighed på $(36,1-1,5)\%=34,6\%$ for en overkrydsning mellem w og m. Tilsvarende er sandsynligheden for overkrydsning mellem m og f 20,6%. Sandsynligheden for at begge overkrydsninger sker, er $34,6\% \cdot 20,6\%=7,1276\%$. Sandsynligheden for enten fænotype w,+,f eller +,m,+ vil være den samme, altså halvdelen af $7,1276\%=3,5638\%$. På samme måde kan de andre sandsynligheder regnes ud.

Den daglige rutine.



For overhovedet at kunne arbejde med fluerne, skal de i de fleste tilfælde bedøves, og dette gøres mest praktisk med den her viste "ætermaskine". Her kan mange fluer bedøves samtidig og nemt. Plastictragten er smeltet fast i et hul i skruelåget. I tragtens spids er der sat et stykke gaze, så fluerne fastholdes dér. Lige under tragten er der et lag luftig plastic som spærrelag mellem det underliggende vat og gazen. Før maskinen tages i brug, har man nemlig haft låget af og har hældt lidt æter ned i flasken, så vattet er gennemvædet og afgiver bedøvende dampe. Imidlertid vil fluerne omgående dø ved berøring med vattet. Dampene vil være nok til at bedøve fluerne i løbet af sekunder, så der kan arbejdes med dem i ca. 5 min.

Når ætermaskinen er klar til brug, kan man finde et glas der skal tømmes for fluer. Ved at slå glassets bund mod underlaget i en hurtig rytme holdes fluerne på bunden, så proppen kan tages af. Hurtigt tages glasset så op og vendes med bunden i vejret ned i tragten. Glasset holdes tætsluttende ned i tragten, så ingen fluer kan undslippe, og hele opstillingen slås nu mod underlaget, så alle fluer havner i bunden af tragten og bliver der. Gennem glassets sider kan man se, hvornår fluerne er helt bedøvede. Hvis glasset har været brugt i lang tid, risikerer man, at maden i bunden af glasset rasler ud og lægger sig ovenpå tragtens cylinderbund, i dette tilfælde må man lade evt. fluer ovenpå kravle op i glasset, hurtigt sætte proppen i, vente til fluerne i tragten må være bedøvede og så manøvrere maden op af tragten og tømme resten af fluerne i glasset ud.

Efter 10 sekunder, hvor alle fluer har ligget stille, kan de tømmes ud på det stykke pap, der normalt var underlag. Her er der måske brug for mikroskop, hvis mere end kønnet og antallet skal bestemmes, og der er brug for pensel til at vende og adskille fluerne med. Når de interessante karakteristika er noteret sendes fluerne videre. måske til avl, måske til glycerolkirkegården efter endnu en dosis æter, der denne gang er dødelig.

Hvis fluerne sættes tilbage på et glas, bør glasset ligge vandret, indtil fluerne er vågne, for ikke at havne nede i maden for længe.

MADLAVNING:

Bananfluen, *Drosophila melanogaster*, dyrkes i små glas med en diameter på 25 mm og en højde på 100 mm - nogle glas variere lidt fra prototype - , som lukkes med skumgummi-propper. De er fyldt med 5-10 cm³ af en substrat, hvis bestanddele per liter er:

Vand.....	1000 ml
Dan-agar.....	15 g
Almindeligt sukker.....	60 g
Bageri-gær.....	150 g
Metylparaoxybenzoat.....	1,2 g

Apparat-liste: Kasserolle
Asbestplade
Alm. gasapparat
Fiskeris
Bredmule-ske
Eterflaske ,2stk.
Kulturglas ,200 stk.
Glastragt
Kulturglas-plasticholdere, 4 stk.
Mikroskop
Pensler, 2 stk.
Papstykker, 2 stk.
Flamingoholdere (flade), 4 stk.

Substratet fremstilles som følger:

1. Gæren (150 g) sættes i god tid til opslemning i 250 ml koldt vand (20-30°). Vi registrerede, at selv om opslemningen stod adskillige timer, gærede den ikke den mindste smule, hvilket ellers var hensigten. Vi prøvede da at komme sukker i opslemningen fra begyndelsen. Dette resulterede i, at opslemningen gærede voldsomt, hvorved det ønskede resultat var opnået. Gæren deles i to portioner og rystes begge med 100 ml vand. Dette overføres til en stor beholder og der tilsættes yderligere 50 ml vand.

2. Danagar: 100 ml koldt vand hældes i meljævneren, derefter tilsættes 15 g Danagar, og der rystes. Dette overføres til kasserollen, og der tilsættes 650 ml lunkent vand, hvorefter der opvarmes til kogning.
3. Når agaren er opløst, tilsættes 60 g sukker til den kogende opløsning. Derefter tilsættes gæropløsningen(1) under stadig omrøring, og substratet holdes derpå kogende under stadig omrøring i mindst et kvarters tid. Det er meget vigtigt, at substratet gennemrøres grundigt under kogningen, da det meget nemt brænder på i bunden.
4. Substratet afkøles til ca. 30° og tilsættes derefter 1,2 g metylparaoxybenzoat. Derpå omrøres grundigt.
5. Til slut fordeles substratet på kulturglassene, før temperaturen er faldet til mindre end et halvt hundrede grader. Bliver temperaturen lavere begynder substratet at stivne, hvorpå det opvarmes til en passende temperatur igen ($50-80^{\circ}$). Glassene skal være rene, helst autoklaverede dvs. steriliseret vha. trykkoger, eller anbragt i varmeskab i ca. to timer ved 150° C , før påfyldningen sker. Før og efter påfyldningen skal de åbne glas dækkes af et rent viskestykke, og ca. en halv times tid efter påfyldningen lukkes glassene med skumgummipropperne. For tidlig propning medfører en ubehagelig dannelse af kondensvand i glassene. Ganske små mængder af kondensvand kan forårsage, at fluerne drukner, når de anbringes i glassene. Substratet tåler ikke autoklavering i glassene, så disse bør opbevares så kort tid som muligt og så koldt som muligt, i vores tilfælde i et køleskab.

Infektionsfaren.

Svampe- og bakterier kan ved at overgro kulturerne, så disse i værste fald uddør, være til stor gene. Foruden det til substratet satte fungicide er de vigtigste midler mod infektion:

- a. Kogetiden ved substratfremstillingen skal overholdes.
- b. Der skal udvises den største renlighed ved substratfordelingen.
- c. Kulturglas, nye såvel som brugte, må aldrig henstå uden skumgummiprop, og glas man er færdig med, skal omgående fjernes fra de øvrige og helst straks autoklaveres (uden prop og eventuelle fluer) og renses.
- e. Skift fluerne til nye glas, så ofte det lader sig gøre. Saml f.eks. jomfruerne i ét glas, og kasser dette, når jomfruerne overføres til paringsglas. Kasser paringsglasset, når parrene føres videre til æglægningsglasset. Skal voksne fluer af en eller anden grund gemmes i længere tid (hanner fra én stamme, mens man venter på jomfruer fra en anden stamme), så skift fluerne til et rent kulturglas så ofte som muligt, helst mindst hver anden dag. Der skal altid være substrat i disse glas. Fluerne dør af tørst på få timer i et helt tomt glas.

Da skumgummipropperne var et stykke tid om at komme, benyttede vi først "brugte" propper. Før anvendelse blev de kogt op i en trykkoger og senere tørret forsigtigt i et varmeskab. Da skumgummipropperne kom, begyndte vi udelukkende at benytte disse, således at rengøring af propper blev unødvendigt.

Tidsforløb.

- 18/12 1987 Efter lange diskussioner og gennemlæsning af bøger sætter vi os hen og skriver et brev til Århus Universitet. Vi bestiller fem stammer af DROSOPHILA MELANOGASTER (bananflue) . Desuden ringer vi, og bestiller propper og kemikalier.
- 6/1 1987 Bananfluerne ankommer med posten undtagen én af stammerne. Vi finder glas, vasker og autoklaverer dem. Varmeskabet reserveres de følgende 8 uger .
- 7/1 1987 Da propperne ikke er kommet endnu, trykkoges propperne fra det foregående forsøg.
- 8/1 1987 Vi laver mad for første gang. Maden rækker til 72 glas.
- 9/1 1987 De tilsendte fluer deles op i "små familier". De sættes i varmeskab.
- 12/1 1987 Til vores store sorg er vi kommet til at udrydde alle vores levende eksemplarer af én af stammerne, nemlig de små skrøbelige "ebonyer". (De blev derfor vore hjertebørn). Konstaterer at en flue kan dø i kondensvand!
- 14/1 1987 Der konstateres larver i de først igangsatte glas, selv i "ebonyernes" stamglas. (Glæde).
- 15/1 1987 Der laves mad for anden gang. De første pupper har antaget en brunlig farve.
- 16/1 1987 Der lægges planer om en sort, hvidøjet flue, men de opgives indtil videre pga. mangel på de sorte fluer. Der installeres en lampe og en timer, så der er lys i tidsrummet 4.00-16.00 .
- 19/1 1987 De første fluer er klækkede, og der oprettes glas for hanner, hunner og jomfruer. For at undgå 12-timer-vagter, ringes der til Århus angående yderligere viden om sammenhængen mellem lys/varme og klækning. Vi håber, at fluerne kun klækker og avler når der er lys og varme, således at fluerne, vi tømmer ud om eftermiddagen højst er 12 timer gamle og ubefrugtede. Ved et uheld bliver et glas smadret , og den første flue undslipper. Om eftermiddagen skruer vi ned for varmeskabet, for at dæmpe aktiviteten.

- 20/1 1987 Der skrues op for varmen om morgenen, hvilket vi gør til fast praksis, når vi ikke kan komme hver 12. time. Om eftermiddagen skiller vi atter de nyklækkede fluer i hanner og (forhåbentlig) jomfruer. Dette fortsættes indtil der er nok til at lave et passende antal krydsninger.
- 21/1 1987 Der er ved at være fluer nok. Per får en lille familie, så han selv kan dyrke sit fiskefoder.
- 22/1 1987 Der bliver oprettet krydsningsglas. Uheldigvis opdager vi én han hos w,m,f-jomfruerne!!!
- 23/1 1987 Vi tæller hvor mange fluer der er kommet ialt fra hver familie. De mest og mindst produktive familier fra hver stamme bevares, resten sættes sammen i 3 stammeglas og overlades til sig selv.
- 26/1 1987 Til statisitkbrug holdes der fortsat øje med de ovennævnte fredede familier, og da krydsningsglassene er oprettet kan vi løbende slå alle nyklækkede fluer ihjel. I dag var der en hel del, der blev slået ihjel, og vi gjorde den erfaring, at fluer ikke dør omgående i glycerol. (De døde fluer anbringer vi i et glas med glycerol, så de præserves).
- 29/1 1987 Der blev observeret larver i jomfruglassene Der er tid til at påbegynde en fotoreportage. Om aftenen deltager vi i forældreintroduktion.
- 30/1 1987 Vi muger ud i de glas, der er så gamle, at de er uproduktive. Disse renses, og der hældes ny mad på . Nu flytter vi over i væksthuset pga. 12-timersvagten.
- 31/1 1987 Fra nu er det fast praksis at komme både morgen og aften. Denne aften kommer den første flue i krydsningsglassene. Den flue anbringes, ligesom dem, der kommer senere, i nye krydsningsglas, indtil der er tilstrækkeligt til en ny familie.
- 2/2 1987 De tre første af de nye krydsningsglas er færdige .
- 9/2 1987 De sidste krydsningsglas er færdige, dog er der pga. et mindre uheld ét glas, der aldrig får en "hel familie" .
- 14/2 1987 Efter at have sat de nye krydsningsglas ind i ruti-

nen med at skifte og tømme glas, er der nu kun tællearbejde tilbage, og de første fluer af den afgørende generation kom i dag, den første dag i vinterferien. Vi kommer stadig daglig for at tælle fluer.

- 5/ 3 1987 De tilbageværende levende fluer kan ikke bruges til nogle af vore statistikker og slås derfor også ihjel. Alle glas tømmes for mad og vaskes, og vi rydder nogenlunde op.
- 17/ 3 1987 Efter i 3 spændende måneder at have brugt øjenkræfter og hovedregning til tællearbejdet, mindst én blok papir til notater, utallige poser lakrids og andet godt til at forsøde den brøgte fritid med, afsluttes "Aktion Bananflue". I løbet af disse 3 måneder registrerede vi mindst 7000 fluer, hvoraf ca. 20 måske besørgede sig friheden ved at flyve, foruden de utalte larver, vi skyllede ud under vask af glas. Omend rapporten, vi afleverede efter denne periode, blev lang og havde en endnu længere fremstillingsproces bag sig, skyldtes længden mest, at vi brugte mange illustrationer og gode citater fra kloge bøger, og også gerne ville have sjove detaljer med. Som f.eks. at bananfluehannen er 1,5 mm lang, med vinger 2,5 mm, og at den vejer 1,0 mg. Hunnen er 0,5 mm længere og 0,1 mg tungere.

Kønsbunden arv.

1. forsøg

w ♀ ²¹	w	+
♀, ♂	85,82	93,91

p= 0,85

w ♀ ²²	w	+
♀, ♂	80,74	98,75

p= 0,22

w ♀	w	+
♀, ♂	165,156	191,166

p= 0,28

2. forsøg

w ♂ ²¹	w	+
♀, ♂	0,65	150,83

p= 0,35

w ♂ ²²	w	+
♀, ♂	0,73	168,87

p= 0,50

w ♂	w	+
♀, ♂	0,138	318,170

p= 0,20

Mendels love.
Første forsøg.

e ♀ 21	e	+
vg	23	38
+	38	160

~~$p < 0,001$~~ $p = 0,04$

e ♀ 22	e	+
vg	38	59
+	68	189

$p < 0,001$
0,0055

e ♂ 21	e	+
vg	1	0
+	0	218

~~$p = 0,04$~~ $p < 0,001$

e ♂ 22	e	+
vg	8	22
+	24	189

$p < 0,001$

Mendels love.
 Andet forsøg .

e♀♂31	e	+
vg	16	16
+	15	12

Mendels 1. lov: e/+ p= 0,52
 vg/+ p= 0,82

Mendels anden lov: p= 0,85

e♀♀32	e	+
vg	27	31
+	25	61

p < 0,001

e♂♂31	e	+
vg	0	0
+	0	40

p < 0,001

e♂♀32	e	+
vg	5	31
+	32	109

p < 0,001

Koblede gener.

$\sigma^{\text{mutant}} \times \text{♀}^+$
 $\text{♀ F}_1 \times \sigma^{\text{mutant}}$

m $\sigma^{\text{♀}}$ 21	m	+	m	+
f	6	0	7	1
+	4	1	1	12
	w		+	

Koblede gener, genafstand.

w,m 28,1 centimorgan

m,f 18,8 centimorgan

alle 3 gener p=0,21

m ♀♀ 22	m	+	m	+
f	53	5	19	13
+	27	10	2	44
	w		+	

$\text{♀}_1^{\text{mutant}} \times \sigma^+$
 $\text{♀ F}_1 \times \sigma^{\text{mutant}}$

Kobling, alle 3 gener

$p < 0,001$

m ♀♀ 23	m	+	m	+
f	52	19	19	29
+	32	36	14	51
	w		+	

Kobling, alle 3 gener

$p < 0,001$

Statistikglas.

Sideløbende med de faktiske krydsningsforsøg videreførte vi nogle såkaldte statistikglas. Vi udvalgte de to glas fra hver af de tre stammer, der var mest produktive. Dette havde to formål

- 1) Finde ud af hvor mange fluer 6 "forældre" (3 hunner og 3 hanner) er istand til at avle, når de lukkes inde sammen. Dette var en nødvendig oplysning. I de faktiske krydsningsforsøg var det nødvendigt at vide hvor mange glas, det var nødvendigt at starte op for at få tilstrækkeligt afkom til at eftervise Mendels love.

- 2) Se hvor stort afkom et opstartet kulturglas (3 hunner og 3 hanner) producerer.

Glas	Skiftedato	Antal "forældre"-fluer/oplysninger. (<u>glasnr.</u>) (♀,♂)
a	9/1	Fluerne fra Århus deles ud i nye glas.
b	12/1	W: $\begin{array}{c c c c c c c} 1 & 2 & 3 & 4 & 5 & 6 & 7 \\ \hline (2,1) & (1,3) & (1,2) & (3,2) & (0,0) & (1,4) & (1,2) \end{array}$ M: $\begin{array}{c c c c} 1 & 2 & 3 & 4 \\ \hline (2,3) & (3,2) & (3,2) & (2,3) \end{array}$ +: $\begin{array}{c c c c c c} 1 & 2 & 3 & 4 & 5 & 6 \\ \hline (4,1) & (4,3) & (3,2) & (5,3) & (5,3) & (5,3) \end{array}$ NB! <u>Alle e/vg er døde.</u>
c	14/1	
d	16/1	W: glas 5-7 frasorteres, da der ikke er noget liv i disse glas.
e	19/1	+ : glas "la" smadres og udgår derved af statistikken.
f	22/1	W: $\begin{array}{c c c c c c c} 1 & 2 & 3 & 4 & 5 & 6 & 7 \\ \hline (2,2) & (1,3) & (1,2) & (3,2) & (0,0) & (1,3) & (1,2) \end{array}$ M: $\begin{array}{c c c c} 1 & 2 & 3 & 4 \\ \hline (2,1) & (3,2) & (3,2) & (3,2) \end{array}$ +: $\begin{array}{c c c c c c} 1 & 2 & 3 & 4 & 5 & 6 \\ \hline (4,1) & (4,3) & (3,2) & (4,3) & (5,2) & (5,3) \end{array}$
g	24/1	W: glas nr. 1,3,5,6 og 7 frasorteres. M: glas nr. 3 og 4 frasorteres. +: glas nr. 2,3,4 og 5 frasorteres.

Fortsættes.

Glas	Skiftedato	Antal "forældre"/oplysninger.
h	26/1	W: $\frac{2}{(1,3)} \mid \frac{4}{(3,2)}$ M: $\frac{1}{(1,0)} \mid \frac{2}{(2,2)}$ +: $\frac{1}{(4,1)} \mid \frac{6}{(4,3)}$
i	28/1	
j	31/1	
k	2/2	W: $\frac{2}{(1,2)} \mid \frac{4}{(3,2)}$ M: Hele forældreflokken er uddød. +: $\frac{1}{(4,1)} \mid \frac{6}{(4,3)}$
l	4/2	
m	8/2	
n	11/2	W: $\frac{2}{(1,2)} \mid \frac{4}{(3,2)}$ +: $\frac{1}{(3,1)} \mid \frac{6}{(1,3)}$
o	13/2	
p	16/2	Dette er den sidste gang forældre- fluerne skiftes over i nye glas; men på grund af den nye mad, se afsnit "erfaringer" under madlavning, uddør hele denne forældregenerati- on af sig selv.
	26/2	De få resterende fluer slås ihjel.

Afkommet af "forældre-generationen" tælles og slås derefter ihjel, da disse udelukkende tjener til statistisk brug. De følgende datoer angiver de dage, hvor denne proces foregår.

Januar			
19	MANDAG	×	UGE4
20	TIRSDAG	×	
21	ONSDAG	×	
22	TORS DAG	×	
23	FREDAG		
24	LØRDAG		
25	SØNDAG		
26	MANDAG	×	UGE1
27	TIRSDAG	×	
28	ONSDAG	×	
29	TORS DAG	×	
30	FREDAG		
31	LØRDAG	×	

(Fortsættes)

Februar			
1	SØNDAG	×	
2	MANDAG	×	UGE 6
3	TIRSDAG	×	9 MANDAG UGE 7
4	ONSDAG		10 TIRSDAG
5	TORS DAG	×	11 ONSDAG
6	FREDAG		12 TORS DAG
7	LØRDAG		13 FREDAG
8	SØNDAG	×	14 LØRDAG
			15 SØNDAG

Statistik-optællingen gav følgende resultat: $\left(\frac{\text{♀}}{\text{♂}}\right)$ Periode.

Stamme.	+1	+6	2W	4W	1M	2M
Glas a	?	$\left(\frac{28,22}{20/1-22/1}\right)$	$\left(\frac{7,5}{20/1-(26/1)}\right)$	$\left(\frac{2,4}{20/1-26/1}\right)$	$\left(\frac{0,2}{20/1-22/1}\right)$	$\left(\frac{18,20}{20/1-(26/1)}\right)$
b	$\left(\frac{42,43}{22/1-27/1}\right)$	$\left(\frac{28,35}{22/1-23/1}\right)$	$\left(\frac{10,14}{(26/1)-(26/1)}\right)$	$\left(\frac{10,14}{(26/1)-29/1}\right)$	$\left(\frac{26,29}{22/1-(26/1)}\right)$	$\left(\frac{1,7}{(26/1)-(26/1)}\right)$
c	$\left(\frac{29,15}{(26/1)-27/1}\right)$	$\left(\frac{16,22}{(26/1)-28/1}\right)$	$\left(\frac{11,2}{(26/1)-27/1}\right)$	$\left(\frac{5,4}{(26/1)-(26/1)}\right)$	0	$\left(\frac{14,13}{(26/1)-29/1}\right)$
d	$\left(\frac{27,15}{(26/1)-(31/1)}\right)$	$\left(\frac{25,23}{(26/1)-(31/1)}\right)$	$\left(\frac{1,2}{27/1-28/1}\right)$	$\left(\frac{12,16}{(26/1)-(31/1)}\right)$	$\left(\frac{2,1}{(26/1)-28/1}\right)$	$\left(\frac{2,2}{(26/1)-(31/1)}\right)$
e	$\left(\frac{12,11}{(31/1)-3/2}\right)$	$\left(\frac{19,20}{29/1-2/2}\right)$	$\left(\frac{25,19}{29/1-1/2}\right)$	$\left(\frac{12,5}{(31/1)-3/2}\right)$	0	$\left(\frac{3/1}{(31/1)-(31/1)}\right)$
f	$\left(\frac{14,14}{(31/1)-3/2}\right)$	$\left(\frac{11,5}{(31/1)-3/2}\right)$	$\left(\frac{3,4}{(31/1)-(5/2)}\right)$	$\left(\frac{7,5}{1/2-3/2}\right)$	$\left(\frac{2,4}{2/2-3/2}\right)$	$\left(\frac{6,8}{(31/1)-3/2}\right)$
g	$\left(\frac{14,18}{2/2-11/2}\right)$	$\left(\frac{12,4}{2/2-(8/2)}\right)$	$\left(\frac{9,8}{2/2-(8/2)}\right)$	$\left(\frac{8,11}{3/2-(8/2)}\right)$	0	$\left(\frac{12,4}{2/2-(5/2)}\right)$
h	$\left(\frac{5,8}{(8/2)-(8/2)}\right)$	$\left(\frac{6,3}{(8/2)-(8/2)}\right)$	$\left(\frac{0,1}{(13/2)-(13/2)}\right)$	$\left(\frac{1,0}{11/2-11/2}\right)$		
i	$\left(\frac{7,1}{(8/2)-11/2}\right)$	$\left(\frac{2,5}{(8/2)-(10/2)}\right)$	$\left(\frac{7,3}{(10/2)-(13/2)}\right)$	$\left(\frac{1,0}{11/2-11/2}\right)$		
j	$\left(\frac{4,3}{11/2-(13/2)}\right)$	$\left(\frac{4,3}{11/2-11/2}\right)$	$\left(\frac{1,0}{(13/2)-(13/2)}\right)$	$\left(\frac{2,2}{11/2-14/2}\right)$		

Fortsettes.

16 MANDAG	×	UGE 8	23 MANDAG	UG 8
17 TIRSDAG			24 TIRSDAG	
18 ONSDAG	×		25 ONSDAG	×
19 TORSDAG	×		26 TORSDAG	×
20 FREDAG	×		27 FREDAG	×
21 LØRDAG			28 LØRDAG	
22 SØNDAG			Marts	

1 SØNDAG × FASTELAVN

Stamme.							
Glas	+1	+6	2W	4W	1M	2M	
k	(1,0) 15/2-15/2	(8,6) (13/2) -15/2	(7,11) (13/2) -18/2	(4,2) 14/2-15/2			
l	(5,6) 16/2 -25/2	(9,10) 15/2-19/2	(3,1) (18/2) -18/2	(1,2) (18/2) -20/2			
m	(8,12) 19/2 -25/2	0	(1,0) (25/2) -25/2	(4,3) (18/2) -25/2			
n	(25/2) -25/2	0	0	0			
o	(3,2) (25/2) -26/2						
p	(2,2) 27/2-1/3						

De i parentes angivne datoer viser de dage, hvor vi ikke kan være sikre på, at fluerne er kommet på en bestemt dato, da glassene ikke er blevet tømt hver dag.

Erfaringer.

Madlavning: Som tidligere omtalt gærede opslemningen - bestående af vand og gær - ikke, i de 4-5 timer dén fik lov at trække før selve madlavningen. Vi prøvede da at komme sukker i opslemningen fra starten af. Dette resulterede i, at opslemningen gærede; men senere skulle dette desværre vise sig at få uheldige konsekvenser.

Den "nye" mad bliver ikke, som ved den oprindelige fremgangsmåde, gummiagtig, men snarere geléagtig, klistret således at fluerne simpelthen ikke kan komme fri af dén, hvis de først er kommet i kontakt med dén. Ligeledes er der en tendens til langt flere infektionsangreb. Dette hænger sandsynligvis sammen med, at de æg, der måtte blive lagt, ikke udvikler sig tilstrækkeligt hurtigt, således at svampe og bakterier overgrod kulturerne, så disse uddør.

Fluers svagelighed: Fluetyperne e/vg er yderst svagelig i forhold til de øvrige. Dette konstaterede vi, da det første kuld af disse døde.

Fluer kan drukne i kondensvand!

VURDERING.

Kønsbunden arv.

1. og 2. forsøg.

Disse forsøg kan umiddelbart godkendes med χ^2 -test. Ved nærmere analyse af resultaterne, ser man imidlertid to karakteristiske træk, dels overvægt af hunner, dels overvægt af vildtyper. Det første skyldes overbefolkning i glassene, hvorved de mere robuste hunner har lettere ved at overleve. Det andet skyldes, at vi var mindre opmærksomme på, hvor let en jomfru holder op med at være det. For sent gik det op for os, at vores lys- og varme-reguleringsystem ikke fungerede så godt som det burde. Var der blevet taget højde for disse uopmærksomheder, ville sandsynlighederne naturligvis have været større.

Der er evt. en tendens til at mutationen hos en lidt mindre overlevende end vildtypen.

Mendels love.

1. forsøg.

Alle 4 glas bliver forkastet som usandsynlige. Det vil sige, at der må være ting, vi ikke har taget hensyn til, da vi opstillede de forventede resultater. For $e^{\text{♀}}21$ og $e^{\text{♀}}22$ er der fejl pga. en overvægt af vildtyper og e,vg i forhold til det ventede. Dette skyldes sandsynligvis også "jomfrufejl". "Falske" jomfruer i P-generationen vil give for mange e,vg 'er i forhold til antallet af fluer, der kun har én af de recessive egenskaber, og også i forhold til rene vildtyper, men i dette tilfælde viser overbefolkningen sig igen. e,vg viste sig fra starten at være en svagelig mutant, hvorfor der blev for stor overvægt af vildtyper. Med hensyn til $e^{\text{♂}}21$ er det klart, at dette er et groft tilfælde af, at ingen af vores såkaldte jomfruer var det! Irriterende er kun den ene e,vg , som vi ikke kan give nogen forklaring på. I $e^{\text{♂}}22$ er der også "jomfrufejl", men her var der lige pludselig en god forklaring. Antages det, at halvdelen af de 6 hunner var døtre af korrekt krydset jomfruer, og at den anden halvdel kun kunne lave vildtype-afkom, stiller sagen sig noget bedre: $p > 0,99!$

Mendels love.

Forsøg 2.

Her kommer det første resultat belejligt, idet dét kan godkendes, muligvis pga. det lille antal af fluer. e^{♀♀}32 har for mange vildtyper, samme "jomfrufejl" som i det tilsvarende glas i 1. forsøg. e^{♂♂}31 viser som i første forsøg "jomfrufejl", og e^{♂♀}32 også, her er resultatet dog også endnu mere forskubbet pga. svagelighed.

Koblede gener.

Med hensyn til m^{♂♀}21 er sandsynligheden stor nok, men pga. det lille antal fluer, er grundlaget for at finde genafstandene for lille, og disse bliver da også ret forkerte, begge for små. m^{♀♀}22 og m^{♀♀}23 er for usandsynlige til, at teorien holder, endnu en gang har "jomfruerne" snydt os, således at det meste af materialet bliver ubrugeligt!

Konklusion.

Mange af fejlene kunne have været undgået ved at have studeret vejledningen til forsøgene grundigere, da denne faktisk tager højde for vores problemer. Men dette erkendte vi for sent, og selv om det blev en dyr erfaring, får vi nok aldrig lejlighed til at gøre fejlen god igen.

Litteraturliste.

"Grundbog i genetik, evolution og etologi" Ole Husen, Ib Geert Petersen og Ralph Sonne-Hansen, RIO-BIO, 1983.

"Arvelighedslære", Eigil Holm, Eigil Holm's Forlag, 1980.

"Biologisk forskning", Bent Christensen, Hans Greve og Svend Sporing, Gyldendal, Universitetets Zoologiske Museum, 1963.

"Akvariebog", lånt af Per Jepsen.

"Dyrenes parringsleg", Robert Burton, Lademann, København, 1979.

"Dyrenes adfærdsmønster", Lademann, 1965, I.D.Carthy.

"Biologi for gymnasiet og HF", Jens Bøgeskov, Marianne Hartmann Hansen, Jens Prom, Munksgård, København, 1979.

FORTEGNELSE OVER DROSOPHILA STAMMER

som kan rekvireres ved skriftlig henvendelse til

DROSOPHILA LABORATORIET

Genetisk Afdeling
Institut for Genetik og Økologi
Aarhus Universitet
Ny Munkegade
8000 Århus C

- (13) 1) + : vildtype stamme
- (13) 2) vg : vestigial (2-67,0). Vinger stærkt reducerede, nærmest rudimentære.
- 3) st : scarlet (3-44,0). Øjenfarve lysende gullig-rød, mørkere med alderen.
- 4) cn : cinnabar (2-57,5). Øjenfarve klar rød, noget mørkere med alderen.
- (13) 5) e : ebony (3-70,7). Kropsfarven sort, langt mørkere end vildtypens. Farven noget lysere hos helt unge fluer.
- 6) se : sepia (3-26,0). Øjenfarven mørk brun-rød hos unge fluer, bliver nærmest brun-sort med alderen.
- 7) ss^a : spineless-aristapedia (3-58,5). Antenner stærkt omdannede, nærmest benlignende.
- 8) bw : brown (2-104,5). Øjenfarven lysebrun hos unge fluer, bliver mørkere med alderen. De dobbelt recessive kombinationer bw/bw cn/cn, bw/bw st/st samt bw/bw v/v har fænotypisk hvide øjne.
- (15) 9) w : white (1-1,5). Øjenfarve hvid.
- 10) B : Bar (1-57,0). Har bjælkeformede øjne i homozygotisk (B/B) og hemizygotisk (B/Y) tilstand. Bar-genet er semidominant, idet B/+ -hunner har nyreformede øjne, dvs kan skelnes fra begge de to homozygoter, B/B og +/+.
- 11) Sb: Stubble (3-58,2). Sb/+ har korte, kraftige børster. Homozygoten (Sb/Sb) lethal.
- 12) vg, st: se beskrivelsen. Ikke koblete.
udgået, i stedet sendes nu 13.
- (13) 13) e, vg: se beskrivelsen. Ikke koblete.
- 14) e, st: se beskrivelsen. Koblete.
- (15) 15) w, m, f: white - miniature - forked. white: se ovenfor. miniature (1-36,1): vinger, små med grålig overflade. forked (1-56,7): børster korte, fortykkede og ofte bøjede. Koblete.
- 16) Cy: Curly (2-6,1). Vingerne krøllede ved 25°C, men almindelig vildtype vinger ved 19°C. Cy-kromosomet bærer en letal, således at homozygote Cy/Cy fluer ikke fremkommer. Kromosomet holdes derfor balanceret over et andet letalbærende 2.-kromosom, som også bærer øjenfarvemutanten Pm, hvorfor fluerne har brune øjne.

Listen omfatter kun stammer, som det er let at skelne fra vildtypen efter kort tids øvelse. Mutantgenets navn er efterfulgt af to tal. Første tal indikerer nummeret på det kromosom, hvorpå det pågældende gen er lokaliseret, andet tal angiver genets placering på kromosomet i overkrydsningsenheder. To gener udviser kobling, såfremt de er på samme kromosom med en indbyrdes afstand, som ikke overstiger 50 enheder. Kromosom 1 er X-kromosomet, 2, 3 og 4 er autosomer.

Med venlig hilsen

Jørgen Bundgaard
lektor

Lisbeth Bangtson

Bananfluer som fiskefoder.

Da vi relativt hurtigt fik en overproduktion af fluer, begyndte vi at annoncere med "bananfluen som fiskefoder". *Drosophila melanogaster* er specielt velegnet til fiskefoder, da den har en nem kultivering, stor produktivitet og hurtigt generationsskifte. Det skal nævnes, at især de vingeforkrøblede er velegnet, da disse ikke kan flyve. En af de personer vi afsatte fluer til, var i besiddelse af en madopskrift, som er noget hurtigere at fremstille, end den vi brugte. Denne opskrift og andre oplysninger vedrørende bananfluen ses nedenunder.

Foder og fodring

Røde myggelarver (*Chironomider*)

Chironomiderne er en dansemyggefamilie, hvis larver anvendes som foder under navnet røde myggelarver, da larverne har en kraftig rød farve på grund af et højt indhold af blodfarvestoffet hæmoglobin. Størrelsen som de foregående myggelarver. De røde myggelarver lever i dyndror på bunden af vandhuller og store søer, hvor de spiller en stor rolle i naturens husholdning. De optræder ofte i kolossale mængder, således i op til 3000 individer pr. m² visse steder i Esrum Sø. Andre chironomider lever i rindende vand, medens nogle er minerere i vandplantestængler, og flere andre livsformer kendes.

Man ser sjældent de røde myggelarver, som i virkeligheden kan fanges det meste af året; man må derfor foretage blindfangst, evt. med en solid sigte skrabe de øverste slamlag af søbunden, og derefter si slammet fra. Man kan på denne måde ofte samle temmelig store mængder af dette foder. *Chironomiderne* forekommer ikke så tilgængeligt her i landet, at de har fået nogen særlig betydning for danske akvarister, medens de anvendes meget i Tyskland, hvorfra de kan importeres.

Bananfluer (*Drosophila*)

Det mest praktiske, kultiverbare insektfoder, der opfylder de krav, som kan stilles til et godt foderemne: nem kultivering, stor produktivitet og hurtigt generationsskifte. Den ringe størrelse, 2-4 mm, gør dem til et godt foder for selv små fisk. Slægten *Drosophila* (de dugelskende) tæller

flere arter, hvoraf særlig *D. melanogaster* har vist sig velegnet, især de vingeforkrøblede former, der er et resultat af arvelighedsforskernes kunstige udvælgelse, og som ikke kan flyve, er anvendelige her. Sådanne fluer kaldes vestigialfluer. (Se også s. 43). En anden, noget større art, eddikfluen, kan behandles og bruges som *melanogaster*.



Bananfluen, *Drosophila*, er et velegnet foder for selv små fisk. (Foto: Scheel).

Bananfluer har gullig til hvidlig grundfarve, ofte med mørke bagkropstværband og røde øjne. Efter at hunfluen er blevet befrugtet (ca. 12 timer efter klækningen), lægger den tidligst 36 timer efter parringen de første æg, som alt efter temperaturen udvikler sig til maddiker; ved 20°C forpupper disse sig efter 8 dage, og en uge senere klækkes den færdige flue. Ved 25°C forkortes tiden med ca. 33%; temperaturer over 30°C virker steriliserende på fluerne. Ved lavere temperaturer end 20°C foregår udviklingen meget langsomt. En enkelt hunflue kan levere op til flere hundrede efterkommere. Bananfluerne lever og tiltrækkes af gærende stoffer, hvilket man benytter sig af ved kultivering samt indfangning af „løsgående“ individer. Kulturer anlægges i rum-

Fiskenes pleje

melige, ikke for høje sylteglas; som næringssubstrat anvendes en sejt ikke for flydende og ikke for tør grød i et lag, som ikke bør være mere end 1½ cm tykt. Rasp eller knuste cornflakes hældes i bunden af glasset. 5 g bagegær og lidt sukker udrøres i vand, til alt er opløst. Gær vandet hældes nu over bundlaget, til dette er glinsende af væde. Denne kulturform er nem og renlig at anvende og efterlader kun lidt aske på bunden; blot må man sørge for, at kulturen ikke tørrer ud. Kulturglasset podes med 50-100 fluer; man kan nedlægge nogle strimler trækpapir, et stykke skumgummi eller andet, som fluerne kan sætte sig på; herefter overbindes glasset med et stykke gaze, gardisette eller en gammel nylonstrømpe. Kulturen stilles varmt, ikke for lyst, og nye kulturer anlægges hver 14. dag efter behov.

Fra kulturen kan fluerne rystes ud på vandfladen, hvor de fleste fisk hurtigt lærer at snappe det næringsrige foder. Vingede fluer bør dog æterbedøves, inden man fodrer. Også larverne kan rense- de anvendes til alle fisk.

Fluer til start af kulturen kan om efteråret fanges på gærende frugt, eller man må tiltuske sig avlsmateriale.

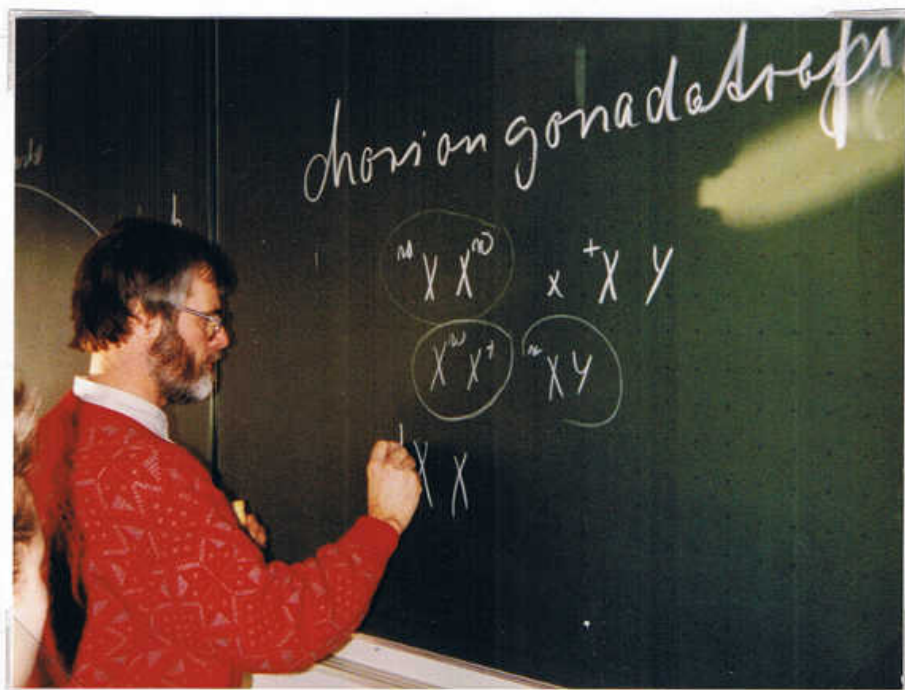
ORMEFODER

Mikroorm (*Anguillula silusiae*)

0,2-2,5 mm store, næsten glasklare orm, hørende til rundormenes (*Nematodernes*) gruppe. Anvendelsen som foder har været kendt i Danmark siden 1925. Et omdiskuteret foder anvendt både

Fotoreportage.

Den spæde begyndelse.



Teori. Vi diskuterede naturligvis hvilke forsøg, der skulle laves, og teorien bag dem, før vi bestemte os for, hvilke fluer, der skulle bestilles til hvilke forsøg.



Ankomst. Fra den første dag, bananfluerne ankom, har de formået at være årsag til vilde diskussioner, glæde og sorg og naturligvis fascination over de små liv.

Det første praktiske.

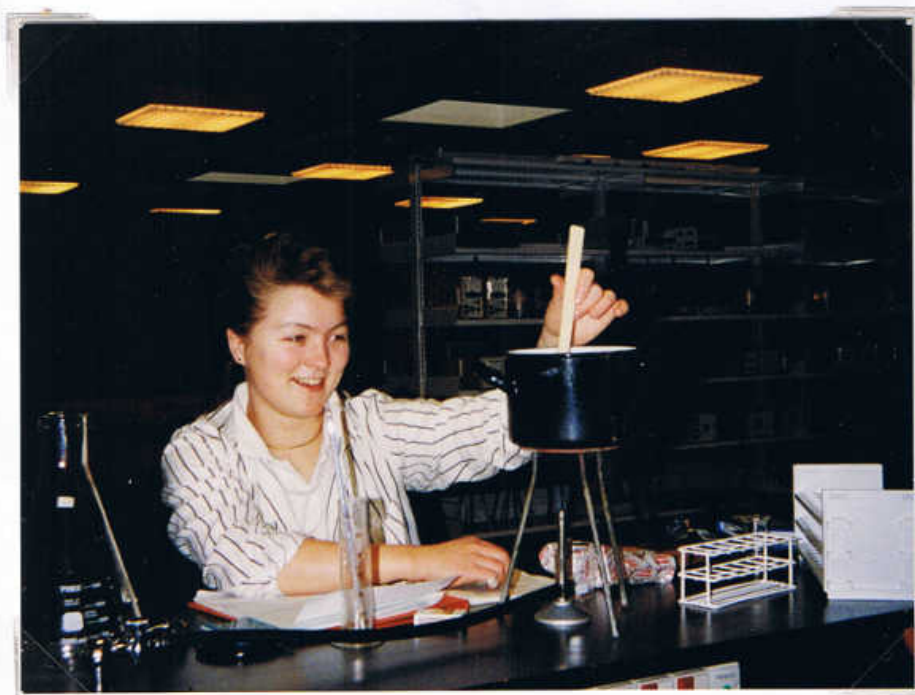


Glasvask. Før forsøgene overhovedet kunne gå i gang, skulle der ryddes op i materiellet, begyndende med hvad der siden blev rutine, nemlig at vaske glassene.



Glastørring. Bananfluen er, som vi hurtigt erfarede, meget skrøbelig. Glassene, som blev grundigt skuret og skrubbet, måtte derfor siden en tur i varmeskab, for at blive steriliseret.

Glasfyldning.



Madlavning. Derefter skulle glassene fyldes med et substrat, der blev lavet i laboratoriet under vilde protester pga. stanken af gær. Men naturligvis blev der også tænkt på vore "sultne" maver...



Propning. Efter afkøling skulle glassene proppes og helst også i køleskab. I dette tilfælde kunne vi bruge de fine nye propper, direkte fra pladen.

Redskaberne.



Glassene. Efter at have gjort maden parat blev fluerne flyttet for første gang og lå så til opvågning i en bakke, før de blev flyttet over i de mere praktiske rammer.



Bedøvelse/død.

Med æter og ætermaskine blev fluerne gjort samarbejdsvillige, og de fleste nåede at opleve æter mindst én gang. De fleste af disse fik derefter en dødelig dosis æter, før de røg ned i glycerolkirkegården.

Daglige rutine.



Bedøvelse. Med mikroskop og notatpapir lige ved hånden, og fluer til bedøvelse, er vi midt i arbejdet, spændte på hvilke fluer, mikroskopet vil vise os denne gang.



OG bagefter. Efter bestemmelse af de nødvendige karakteristika, tages beslutningen om den videre skæbne, i dette tilfælde overlever fluerne, og manøvreres forsigtigt op fra underlaget, med pensel, ind i et nyt glas.

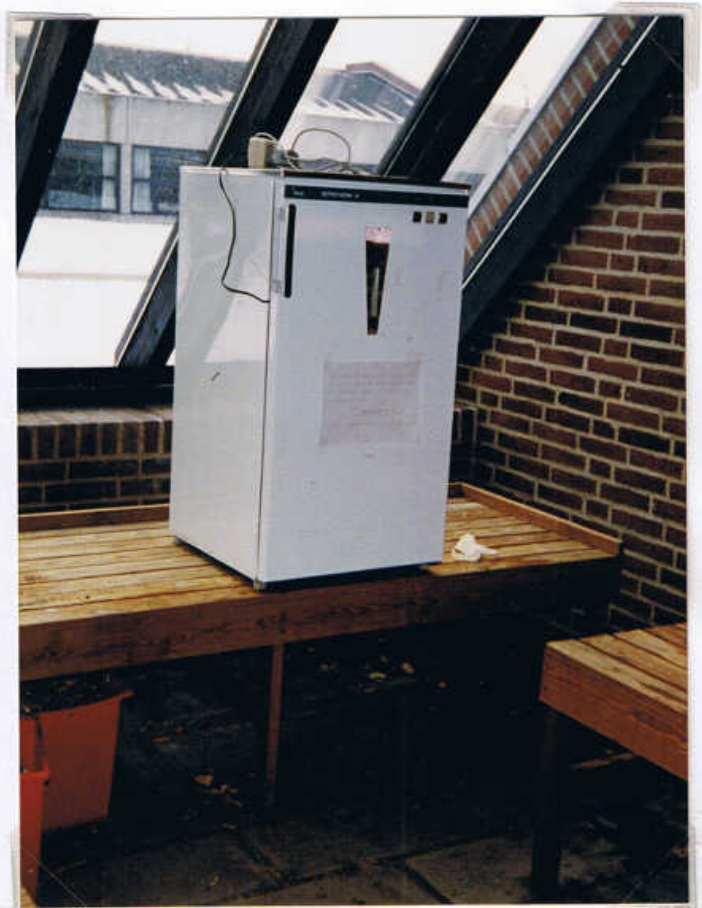


Boliger.

Varmeskabet.

Her var grundbe-
tingelsen for
hurtige generationer,
og vi pylrede om
fluerne med lys-
og varmeregulering.

Væksthuset. Da der
kun var det afslut-
tende tællearbejde
tilbage, flyttede
vi ud i væksthuset,
hvortil vi kunne få
en nøgle. Her ind-
rettede vi os hyg-
geligt med masser
af plantekasser,
hvide mus med lilla
pletter og én i
regnvejr opdukkende,
yderst irriterende
vanddråbe, der hav-
de det med akkurat
at kunne ramme én
lige i nakken!





DROSOPHILA MELANOGASTER.

Hvilken triumf var det ikke, at fastslå det bedste bevis, for "Aktion bananflue", et billede af racen, godt nok sløret og skævt, men genkendeligt som en wmf-hun. Dejligt!

Genetikforsøg med bananfluer.

Specialet er godt gennemarbejdet, men I burde have anført jeres krydsninger på en lidt mere overskuelig måde. Med tydelig angivelse af fæno- og genotyper.

Det er synd at jeres forsøg i flere tilfælde gik i "fisk" men det kan der jo ikke ændres noget ved nu.

Til eksamen vil jeg nok give jer nogle bananfluekrydsninger, som I så skal fortolke, foruden at I jo skal gøre rede for jeres eget forsøg.

ca. 9↑