



Mantenere *Drosophila melanogaster* in laboratorio

Preparazione mezzo di crescita per *D. melanogaster*

Note generali

Il seguente mezzo di crescita è utilizzato nel laboratorio “Biologia molecolare degli insetti” presso l’Istituto di Bioscienze e BioRisorse del CNR a Napoli.

E’ un mezzo abbastanza compatto da resistere alla liquefazione prodotta da intensa attività larvale. Una volta dispensato nei contenitori, questi possono essere conservati per 3-4 giorni a temperatura ambiente (TA); tuttavia, per ceppi più deboli o incroci appena avviati, è consigliato usare mezzo fresco o, al massimo, vecchio di 1-2 giorni. Se conservato ad una temperatura di 4°C questo mezzo resiste una settimana, ma può trasudare quando portato a TA. Per ridurre questo inconveniente, i contenitori devono essere lasciati a TA per 24 ore prima della conservazione a 4°C.

Ricetta

I quantitativi riportati sono per fare circa 1,3 litri di mezzo, abbastanza per riempire circa 60 contenitori di 3 cm di diametro, o 130 di 2 cm di diametro.

H ₂ O di rubinetto	1,1 litro
Lievito di birra	100 grammi
Polenta precotta	90 grammi
Zucchero	100 grammi
Agar alimentare	3-4 grammi
p-hydroxymethyl benzoato	2,5 grammi
etanolo 95%	30 millilitri

Procedimento di cottura

Il procedimento di cottura è fondamentale per ottenere un mezzo di crescita di qualità. Un cattivo mezzo di crescita spesso è semplicemente un mezzo troppo asciutto. Bisogna tenere presente che variazioni apparentemente piccole nel procedimento di cottura possono tradursi in una sostanziale differenza nella qualità del mezzo di crescita se provocano una aumentata perdita di acqua. Esempi di parametri cui bisogna prestare attenzione sono: il rapporto quantità di mezzo rispetto al volume della pentola, assenza di un coperchio sulla pentola, necessità di lunghi tempi di cottura, ambiente di lavoro particolarmente secco.

- Mettere il lievito in una pentola contenente H₂O di rubinetto e portare a bollore.
- A parte, pesare e miscelare bene polenta, zucchero e agar.
- Dopo 5-10 minuti di bollore, tempo necessario a disattivare il lievito, versare nell’acqua/lievito, la miscela precedentemente preparata.



- Aspettare che il tutto riprenda a bollire e, da questo punto, cuocere per circa 10 minuti girando continuamente.
- Spegnerne la sorgente di calore.
- Miscelare il p-hydroxymethyl benzoato precedentemente disciolto in etanolo al 95%.
- Dispensare il mezzo nei contenitori, riempiendoli per $\frac{1}{4}$ circa, avvalendosi di un opportuno apparecchio o di un cilindro di plastica.
- Far asciugare il mezzo per un tempo opportuno, da calcolare sperimentalmente, sotto il flusso di aria di un ventilatore per evitare l'ingresso di moscerini contaminanti nei contenitori.
- Tappare con ovatta idrofoba.

Note sugli ingredienti

Polenta

Non tutte le marche sono utilizzabili, per cui è consigliato testarle prima di comprarle in stock. Nel nostro lab usiamo "Polenta Valsugana".

Agar

La quantità di agar deve essere determinata sperimentalmente in dipendenza di marca o lotto di consegna.

Lievito

Può essere usato lievito in polvere o in granuli. Nel nostro lab usiamo panetti di lievito di birra, che vengono congelati immediatamente dopo l'acquisto, per una conservazione a lungo termine.