



Mantenere *Drosophila melanogaster* in laboratorio

Raccolta vergini di *D. melanogaster*

Note generali

Le femmine di *D. melanogaster* da utilizzare per gli incroci non devono essersi precedentemente accoppiate, per garantire la rispondenza al genotipo atteso nella progenie. A 25°C le femmine adulte non si accoppiano per circa 6 ore, mentre a 18°C questo tempo si allunga fino a circa 16 ore. Queste femmine che non si sono mai accoppiate sono dette vergini, e possono essere raccolte utilizzando le tre procedure di seguito riportate:

Metodo dell'allontanamento: Rimuovere tutte le mosche presenti nel contenitore 8-10 ore prima della raccolta. Questa rimozione deve essere fatta molto accuratamente, controllando bene la superficie del mezzo. Trascorse 8-10 ore dalla rimozione, tutte le femmine presenti saranno vergini. Raccoglierle in piccoli gruppi in contenitori indipendenti riempiti con mezzo fresco e lasciarle per 2-3 giorni per assicurarsi che non nascano larvette. In caso contrario non sono usabili perché non sono vergini e vanno scartate. Poiché le femmine di *D. melanogaster* sono sensibili al foto-periodo, tendono a nascere la mattina presto, per cui le prime raccolte nella giornata assicureranno il maggior numero di vergini raccolte; tuttavia, la raccolta è possibile durante tutto il giorno.

Metodo visivo: Le femmine nate da poco, e quindi vergini, sono più grandi delle femmine più anziane e, a differenza di queste, presentano una pigmentazione più chiara. Inoltre, nelle prime ore dopo l'uscita dall'involucro pupale, presentano una macchia scura nella regione addominale (il meconio, cioè le tracce dell'ultimo pasto prima di impuparsi). Tenendo presenti questi parametri di riconoscimento, si possono raccogliere le vergini al microscopio. Questo metodo è suggerito se occorrono poche vergini.

Cicli di Temperatura: E' una procedura di due raccolte al giorno che usa cicli di temperatura e che può rendere massimo il numero di vergini raccolte in una giornata. Ad una temperatura di 18°C, lo sviluppo è rallentato e le femmine non si accoppiano per almeno 16 ore dopo l'eversione dall'involucro pupale. Rimuovere le mosche nel tardo pomeriggio e porre i contenitori a 18°C; il mattino seguente, il 98% delle femmine sarà vergine. Si raccolgono e si riportano i contenitori a 25°C per 6 ore; le femmine, che sono vergini per definizione, sono raccolte e i tubi sono messi nuovamente a 18°C per la notte; il mattino seguente, le femmine/vergini sono raccolte nuovamente. Il 2% delle femmine non vergini sarà eliminato sulla base della presenza di piccole larve nei contenitori in cui si lasciano singoli gruppi indipendenti di vergini raccolte per un paio di giorni.