

10.9

Mendel neu entdeckt: Kreuzungsexperimente mit *Drosophila*

Impressum:

Titel: Mendel neu entdeckt: Kreuzungsexperimente mit Drosophila (Drosophila melanogaster)

Arbeitshilfe Nr. 10.9

Verfasser: Ingo Mennerich

Abbildungen Foto Titel: Wikimedia Commons,
Ei, Larven (S. 7): Dr. Renate Becker nach Mainx
Alle anderen Grafiken: Verfasser

Herausgeber: Landeshauptstadt Hannover
Fachbereich Bibliothek und Schule
Schulbiologiezentrum
Vinnhorster Weg 2
30419 Hannover
Tel: 0511/168-47665
Fax: 0511/168-47352
E-Mail: schulbiologiezentrum@hannover-stadt.de
Internet: www.schulbiologiezentrum.info



Inhalt

Vorwort.....	4
Nomenklatur der Drosophila-Gene.....	5
Chromosomale Grundlagen der Vererbung bei Drosophila.....	5
Genotyp und Phänotyp unserer Drosophila-Kulturen.....	6
Optimale Entwicklungsbedingen.....	7
Eiablage und Eier.....	7
Larven.....	7
Puppen.....	7
Ausschlüpfende Jungfliegen.....	8
Unterscheidung von Männchen und Weibchen.....	8
Paarung.....	8
Haltung der Fliegen.....	9
Herstellung des Futterbreis und Vorbereitung eines Neuansatzes.....	9
Umsetzen der Fliegen.....	10
Betäuben der Fliegen mit Ether, CO ₂ oder Kälte.....	11
Auslese beim Umsetzen.....	12
Vorschläge für Kreuzungsexperimente.....	12
Einfache monohybride Kreuzungen, Uniformitäts- und Spaltungsregel.....	12
Dihybride Kreuzungen, Neukombination der Gene.....	13
Kreuzung „wild“ x „vestigial“ (monohybrid, dominant-rezessiv) und Rückkreuzung.....	14
Kreuzung „wild“ x „ebony“ (monohybrid, dominant-rezessiv) und Rückkreuzung.....	16
Kreuzung „vestigial“ x „ebony“ (dihybrid, dominant rezessiv).....	18
Geschlechtsgebundene Vererbung.....	19
Monohybrider Erbgang: Weibchen „white“ (w / w) x Männchen „wild“ (w ⁺ / -).....	20
Monohybrider Erbgang: Weibchen „wild“ (w ⁺ / w ⁺) x Männchen „white“ (w / -).....	21
Kreuzungen mit „curly“.....	22
Kreuzung CY ⁺ / CY ⁺ (“wild”, rezessiv) x CY / CY ⁺ (“curly”, dominant).....	23
Gendrift in “curly“-Kultur: Kreuzung CY/CY ⁺ (“curly”) x CY/CY ⁺ (“curly”).....	24
Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWG).....	25
Gendrift: Das HWG unter der Bedingung unterschiedlicher relativer Fitness.....	26



Vorwort

Drosophila oder einfach Tau-, Frucht-, Obst- oder Essigfliege genannt, ist ein sechsbeiniger und zweiflügeliger kleiner Gast auf halb vergessenem Obst oder in lange nicht heruntergebrachten Müllsäcken. „*Drosophila melanogaster*“ heißt, wörtlich übersetzt, die „dunkelbäuchige, den Tau liebende“ (griech. *drosos*, Tau und *phila*, weibliche Form von *philos*, liebend). Die Fruchtfliege (vom engl. „fruit fly“) ist ursprünglich in den Tropen beheimatet und ist möglicherweise erstmalig mit Sklaventransporten aus Afrika in die USA gelangt. Sie hat weltweit und nicht nur in Küchen ausgebreitet: *Drosophila* machte weltweit Karriere in vielen berühmten wissenschaftlichen Instituten und eröffnete uns tiefe Einblicke sowohl in die Vererbung und Ausprägung genetischer Informationen als auch in die Steuerungsmechanismen der Entwicklung von Lebewesen.

Die Fruchtfliege half in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts bei der Aufklärung der materiellen Vererbungsmechanismen: Diese Arbeit ist vor allem mit der Gruppe um Thomas Hunt Morgan verknüpft. Sie führte zu einer für die damalige Zeit sehr präzise Kartierung der Gene auf den Chromosomen. Der Träger der genetischen Information, die DNA und die Übersetzung der Basensequenzen in Proteine wurden erst später entdeckt.

Drosophila gab 1995 auch Anlass für den Nobelpreis für Medizin und Physiologie: Christiane Nüsslein-Volhard erforschte zusammen mit Eric F. Wieschaus und Edward B. Lewis genetische Steuerungsmechanismen der Embryonalentwicklung der Fruchtfliege.

Ihre Erkenntnisse lassen sich mit großem Wert für die Medizin auch auf die Entwicklung des Menschen übertragen. Und sie brachte die vielleicht beunruhigende Erkenntnis, dass *Drosophila* in vielen Lebewesen steckt und der Weg von der Einzelle zum „fertigen“ Lebewesen bei *Drosophila* und der so genannten „Krone der Schöpfung“ vieles gemeinsam hat.

Drosophila fand über die Genetik und die Entwicklung auch Eingang in die Schule: Kaum ein Lebewesen lässt sich so leicht und billig für den experimentellen Genetik-Unterricht einsetzen.

Ein Milchkarton und eine faulende Banane hält 200 Fliegen zwei Wochen lang bei Laune, schreibt Martin Brookes in seinem sehr zum Lesen empfohlenen Buch „Die Fliege.

Erfolgsgeschichte eines Labortiers“ (Rowohlt Taschenbuch Verlag, Reinbek 2003). Mutanten-Reinzuchten werden im Lehrmittelhandel angeboten und lassen sich mit geringem Aufwand vermehren und fast beliebig miteinander verpaaren..

Mutanten lassen sich heutzutage mit dem Programm „flylab“ bequem auch virtuell am Rechner „kreuzen“. Das mag eine die Schüler motivierende Alternative für den unter Zeitdruck stehenden Lehrer sein, lässt aber die Lust am forschenden Entdecken außen vor.

Dabei ist die *Drosophila*-Zucht und Kreuzung so einfach durchzuführen, dass sie sogar nach Hause verlagert werden kann. Diese Arbeitshilfe möchte Ihnen Mut machen, es selbst einmal auszuprobieren.

Das Schulbiologiezentrum Hannover hält seit über 30 Jahren Kulturen vom Typ „wild“, „white“, „ebony“, „curly“ und „vestigial“ und gibt diese – nach Vorbestellung - kostenlos zur Weiterkreuzung und zur Beobachtung der Insektenentwicklung an Schulen ab.

Im Darwin-Jahr 2009 möchten wir mit dieser Arbeitshilfe einen weiteren Baustein unseres Angebots mit Informationen unterfüttern. Sie ergänzt die nunmehr 30 Jahre alte Arbeitshilfe „Die Taufliege im Unterricht“ die wir zeitgleich in neuer digitalisierter Form auflegen.

Diese Arbeitshilfe beleuchtet am Beispiel einer Kultur vom „Curly“-Typ wie sich das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht unter der Bedingung unterschiedlicher relativer Fitness verschiebt.

Hinweisen möchten wir auf weitere Arbeitshilfen zur Mendel-Genetik: 10.1 Kreuzungen mit Mais, 10.4 Kreuzungen mit Labormäusen und 10.10 Kreuzungen mit Erbsen

Wir hoffen, Ihre Arbeit an der Schule hiermit unterstützen zu können. Für darüber hinausgehende Fragen, Anregungen und Kritik stehen wir gerne zur Verfügung.

Ingo Mennerich, März 2009



Nomenklatur der Drosophila-Gene

Die Wildform *Drosophila melanogaster* ist rotäugig. 1910 wurde von Thomas Hunt Morgan in einer Kultur vom Wildtyp eine weißäugige, weibliche Mutante entdeckt. Die lang ersehnte Mutation wurde „white“ genannt und hatte nachhaltige Folgen für die Nomenklatur aller später entdeckten *Drosophila*-Gene: Nach allgemeiner Konvention wird heute ein „normales“, nicht mutiertes Gen mit dem Namen der Mutation und mit einem hochgestellten Kreuz bezeichnet. „w⁺“ (white⁺) heißt also nicht „weißäugig“ sondern „rotäugig“ (wie der Wildtyp)! Das klein geschriebene Allel „w“ (white) signalisiert, dass die Mutation (!) rezessiv ist. „w⁺“ ist dominant, wird aber auch klein geschrieben.

Die nur eingeschränkt flugfähige Mutation „curly“ mit aufgebogenen Flügeln wird durch das dominante (mutierte) Allel „CY“ geprägt. Der große Anfangsbuchstabe wird aber auch beim rezessiven Wildallel CY⁺ benutzt

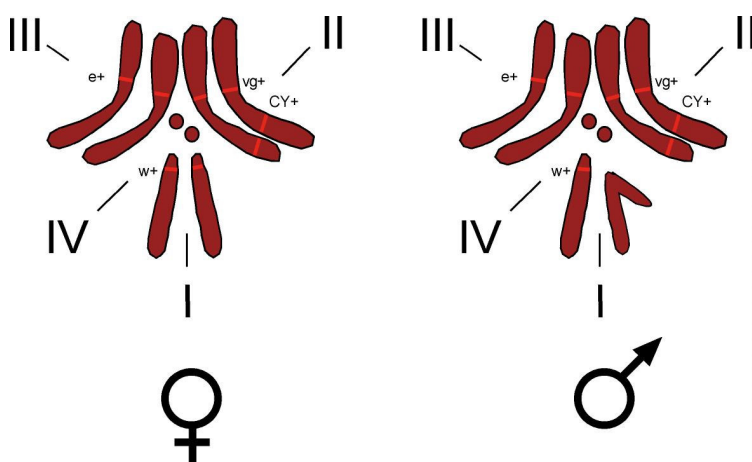
Diese etwas gewöhnungsbedürftige Schreibweise spiegelt die Entdeckungsgeschichte der Gene: Die „normalen“ Gene wurden durch die Mutation dieser Gene entdeckt.

Allelpaar			Phänotyp
w ⁺ /w ⁺	white ⁺ /white ⁺	Wildform: Homozygot	rotäugig
w ⁺ /w	white ⁺ /white	Wildform: Heterozygot	rotäugig
w/w	white/white	Mutante: Homozygot (Weibchen)*	weißäugig
w/ -	white/ -	Mutante: Hemizygot (Männchen)*	weißäugig

*) „white⁺“ bzw. „white“ wird geschlechtsgebunden vererbt, siehe „Geschlechtsgekoppelte Vererbung“.

Chromosomale Grundlagen der Vererbung bei Drosophila

Drosophila melanogaster enthält im Kern jeder Körperzelle einen doppelten (diploiden) Satz von 4 Chromosomen: 2 x 3 Chromosomen sind Autosomen. Sie werden mit den römischen Ziffern II, III und IV bezeichnet. Das Chromosomenpaar IV ist sehr klein. Die beiden anderen sind Geschlechtschromosomen (Gonosomen): Sie tragen die Bezeichnung „I“, wohl deshalb, weil das erste mutierte Allel „white“ auf einem Geschlechtschromosom liegt. Weibchen besitzen 2 gleiche Geschlechtschromosomen, XX genannt, Männchen ein X und ein (kürzeres) Y-Chromosom. Die Geschlechtschromosomen werden oft auch mit I-X bzw I-Y bezeichnet.



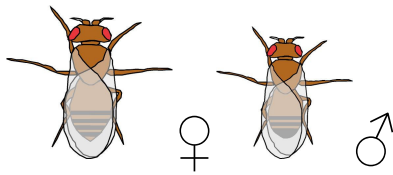
Die im Schulbiologiezentrum Hannover verfügbaren Stämme heißen „wild“, „white“, „ebony“, „curly“ und „vestigial“. Das für die roten Komplexaugen der nicht mutierten Wildform entscheidende Gen „w⁺“ liegt auf dem X-Chromosom (I-X). Dies ist auch der Genort des beim weißäugigen Typs „white“ mutierten Allels „w“. Weißäugigkeit wird daher geschlechtsgekoppelt vererbt. Die Allele „curly“ (aufgebogene Flügel, CY) und „vestigial“

(verkümmerte Flügel, vg) bzw. ihre nicht mutierte Wildformen liegen auf dem Chromosom II und werden normalerweise gekoppelt weitergegeben. Das mutierte Allel CY ist gegenüber der Wildform CY⁺ dominant. Das mutierte Allel vg ist gegenüber der Wildform vg⁺ rezessiv.

Das Allelpaar „ebony“ liegt auf dem Chromosom III. Die Mutation e ist rezessiv gegenüber der Wildform e⁺.

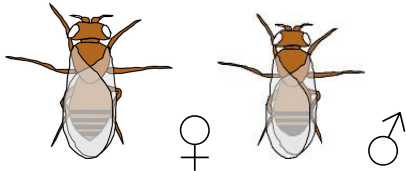


Genotyp und Phänotyp unserer Drosophila-Kulturen



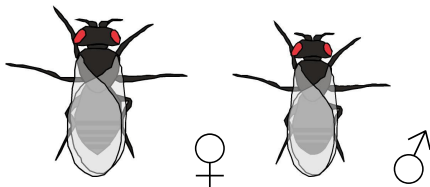
„wild“

Der Genotyp von „wild“ enthält „w⁺“, „e⁺“ und „vg⁺“ ist dominant in Bezug auf die Farbe der Komplexaugen (rot), die Körperfarbe (wildfarben) und die Flügel (normalflügelig). Er ist rezessiv in Bezug auf das Gen „curly“ (CY). Heterozygote Träger von „w⁺“, „e⁺“ und „vg⁺“ zeigen die Elemente des Wildtyps. Heterozygote Träger des dominanten Gens CY⁺ haben aufgebogene Flügel.



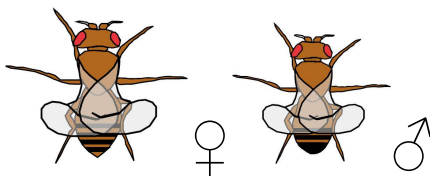
„white“

„w“ ist rezessiv. Die Allele w bzw w⁺ befindet sich auf dem Geschlechtschromosom I-X und liegen bei weißäugigen Weibchen homozygot (w / w) und bei weißäugigen Männchen hemizygot (w / 0) vor. Tiere vom „white“-Typ sind wildfarben und normalflügelig. Die geschlossene „white“ Kultur bleibt in Bezug auf die Augenfarbe reinrassig.



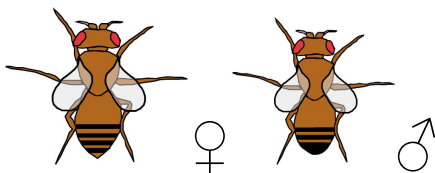
„ebony“

„e“ ist rezessiv und wird geschlechtsunabhängig vererbt. Bei homozygoten „ebony“- Tiere (e / e) ist die Körperfarbe des Wildtyps durch starke Melanineinlagerung dunkel. Die Augenfarbe und die Flügelform bleiben davon unbeeinflusst. Heterozygote Träger des Allels (e / e⁺) sind wildfarben. Die geschlossene „ebony“-Kultur bleibt reinrassig (vergleiche dagegen „curly“!).



„curly“:

„curly“ wird geschlechtsunabhängig vererbt und ist grundsätzlich heterozygot (CY⁺/CY) da (CY/CY) letal ist. Das bedeutet, dass in einer geschlossenen „curly“-Kultur Tiere vom „wild“-Typ (normalflügelig) entstehen und dass das Verhältnis („curly“ : „wild“) langfristig durch Ausfall der CY/CY-Individuen zugunsten des Wildtyps verschiebt (Gendrift, Hardy-Weinberg-Gleichgewicht). Die Körper- und die Augenfarbe entsprechen dem Wildtyp. Das „curly“ gen liegt auf dem selben Chromosom wie „vestigial“ (Genkopplung). Beide können mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit durch Crossing over (Austausch von Chromosomenabschnitten) unabhängig voneinander vererbt werden.



„vestigial“

„vestigial“ ist rezessiv (vg / vg⁺) wird geschlechtsunabhängig vererbt. Homozygote Tiere haben verkümmerte Flügel und sind flugunfähig. Die geschlossene „vestigial“-Kultur bleibt reinrassig.

Optimale Entwicklungsbedingungen

Zum Körperbau und zur Entwicklung von *Drosophila melanogaster* lesen Sie bitte die sehr ins Detail gehende Arbeitshilfe 15.6 „Die Taufliege im Unterricht“ von Dr. Renate Becker.

Im Rahmen der *Drosophila*-Kreuzungen möchten wir uns hier auf das zur erfolgreichen Zucht notwendigen Informationen beschränken.

Die Lebenserwartung ist abhängig von Umweltbedingungen (Nahrungsangebot, Populationsdichte, Temperatur, Luftfeuchte) und ihrer genetischen Ausstattung (Geschlecht, Mutanten). Mutanten scheinen früher zu sterben als die Wildform.

Die im Folgenden genannten Angaben beziehen sich auf Kulturen mit Futterbrei (siehe dort) der Zucker und Hefen enthält und der Schimmel und Wildhefen unterdrückt.

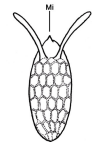
Die Lebensdauer der Weibchen beträgt im Durchschnitt 26 Tage, die der Männchen 33 Tage. *Drosophila* ist in den Tropen beheimatet: Die Idealtemperatur liegt bei 25°C. Die Luftfeuchtigkeit sollte bei 60% liegen was im geschlossenen Gefäß durch den feuchten Futterbrei gewährleistet ist. Temperaturen von 30°C und mehr führen zu Hitzestress und deutlichem Nachlassen der Fruchtbarkeit.

Die Entwicklungsgeschwindigkeit ist temperaturabhängig: Bei 25°C vergehen 10 Tage zwischen Eiablage und Schlupf der Fliege, bei 20°C 13 Tage, bei 15°C etwa 90 Tage.

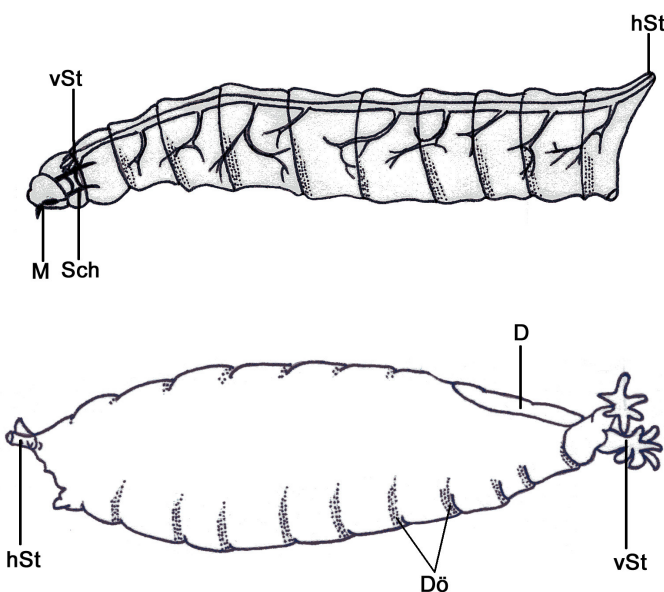
Aus dem Ei entwickelt sich eine Made (Larve) die sich nach zwei Häutungen verpuppt, innerhalb der Puppenhülle eine Metamorphose durchmacht und als geflügeltes Insekt schlüpft.

Eiablage und Eier

Weibliche *Drosophila* legen nach erfolgter Paarung nach etwa drei Tagen 200 – 300 Eier in den Nahrungsbrei. Sie sind etwa 0,5 mm lang, deutlich strukturiert und mit zwei der Atmung dienenden Fortsätzen versehen.



Larven



Die Larve schlüpft nach etwa 22 Stunden. Sie stellt das etwa 4 Tage währende Fressstadium des Insekts dar. Die fußlose Larve (Made) ist durchscheinend weißlich, segmentiert und lässt den Magen-Darm-Trakt und die Gonaden erkennen (relativ große dunkle Hoden bei den Männchen, winzige Ovarien bei den Weibchen). Am Vorderende befinden sich die dunklen Mundwerkzeuge. Sie häutet sich zwei mal und klettert im dritten und letzten Häutungsstadium an der Innenwand des Kulturgefäßes in die Höhe, um dort zu verharren und sich zur Puppe zu verwandeln. Dieses Stadium ist an den so genannten Puppenhörnern zu erkennen, paarigen Ausstülpungen der Tracheen (Atemröhren) an der Vorderseite der Larve.

Puppen

Das Puppenstadium dauert 4 – 6 Tage. Dabei bildet sich eine aushärtende und immer dunkler werdende Puppenhülle aus. Innerhalb der Puppenhülle wird Larvengewebe in Gewebetypen der Imago verwandelt und embryonal angelegte Imaginalscheiben veranlasst zu wachsen und etwa zu Flügeln und Beinen auszuwachsen. Die Befehle dazu liegen im Genom *Drosophilas* verankert. Diese Genabschnitte werden durch bestimmte Regulatorgene an- und ausgeschaltet. Unter günstigen Umständen lässt sich bereits im späten Puppenstadium erkennen, ob die schlüpfende Fliege männlich oder weiblich sein wird: Männchen tragen an den Vorderbeinen eine als „Geschlechtskamm“ (sex comb) bezeichnete dunkle Borstenreihe. Mit diesem Kamm hält sich das Männchen bei der Paarung am Weibchen fest.

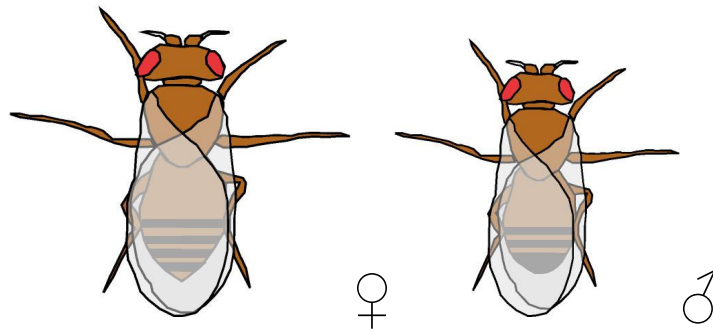


Ausschlüpfende Jungfliegen

Die aus der Puppenhülle schlüpfende Jungfliege sieht bleich und etwas aufgedunsen aus und unterscheidet sich so von adulten Tieren. Die Weibchen sollten so früh wie möglich, auf jeden Fall innerhalb der ersten 6 Stunden nach dem Schlupf isoliert werden, denn nach 8 – 12 Stunden sind die bereits geschlechtsreif. Nur durch frühe Selektion sich vermeiden, dass unkontrolliert befruchtete Fliegen in die Zuchtneuansätze gelangen.

Unterscheidung von Männchen und Weibchen

Weibchen sind etwas größer als die Männchen. Ihr Hinterleib läuft spitz zu, der der Männchen ist abgerundet. Der Hinterleib der Weibchen ist gleichmäßig dunkel gebändert, die Männchen besitzen weniger Bänder die auf die auf die letzten Hinterleibsegmente konzentriert sind. Auf den bereits im Puppenstadium erkennbaren Geschlechtsskamm der Männchen ist bereits hingewiesen worden.



Wir empfehlen, das Trennen der Geschlechter („Sexing“) mit dem Typ „vestigial“ einzuüben. Hier liegt der Hinterleib durch die verkümmerten und abgespreizten Flügel frei und auf dem Rücken oder auf der Seite liegende Fliegen lassen sich mit der Präpariernadel leicht in eine stabile Bauchlage bringen. Achten Sie dabei auf den Geschlechtsskamm der Männchen. „wild“ und „curly“ sind schwerer zu unterscheiden. Bei „ebony“ ist der Körper dunkel, so dass die Zeichnung des Hinterleibs darunter fast verdeckt bleibt. Der die dunklen Borsten des Geschlechtsskammes der Männchen fallen nur wenig auf.

Paarung

Die Paarung wird eingeleitet in dem das Männchen mit abgespreizten und vibrierenden Flügeln um das Weibchen herumläuft um sich dann hinter ihm aufzustellen und mit den Vorderbeinen die Geschlechtsöffnung des Weibchens zu betasten. Anschließend biegt das Männchen den Hinterleib nach unten und begattet das Weibchen. Die Kopulationsdauer liegt bei etwa einer halben Stunde.

Dabei werden wenige hundert, sehr lange in Samenflüssigkeit schwimmende Spermien übertragen die das Weibchen in Samentaschen (Receptaculum seminis und Spermatheken) „zwischenlagert“. Die Samentaschen enthalten in der Regel Spermien von mehreren Männchen. Es scheint aber so zu sein, dass die Spermien der letzten Paarung einen großen Teil der älteren Konkurrenten abtöten.

Weibchen verweigern sich aber auch in dem sie ihren Geschlechtsapparat (Legeröhre, Ovipositor) als „Waffe“ nach außen stülpen.

Haltung der Fliegen

Drosophila kann prinzipiell in allen Gefäßen gehalten werden, also auch und mit fein durchlöcherter Folie versehenen und abgeschnittenen Milchkartons. Sie können natürlich auch Würstchengläser oder Milchflaschen verwenden. Große und hohe Gefäße eignen sich für Massenkulturen.

Im Schulbiologiezentrum halten wir die Kulturen in 100 ml Weithalsflaschen die mit einem luftdurchlässigen Schaumstopfen verschlossen werden. Die Kulturen werden alle zwei bis drei Wochen in eine neue, mit Futterbrei versehene Flasche umgesetzt. Beim Umsetzen gelangen nur die erwachsenen Fliegen in das neue Zuchtgefäß. Das Eier, Larven und Puppen enthaltende alte Gefäß wird für vier weitere Wochen am Leben erhalten. Die schlüpfenden Fliegen bleiben so als Sicherheitsreserve erhalten.

Statt der Weithalsflaschen sind auch Babynahrungsgläschen oder Marmeladengläser verwendbar, vorausgesetzt, sie haben passende Schaumstoffstopfen zur Verfügung. Von Wattestopfen möchten wir abraten, da sich viele Fliegen zwischen den Wattefäden aufhalten, das Umsetzen erschweren und durch Lücken am Rand in die Freiheit entkommen.

In den Futterbrei wird eine aus einem Rundfilter für Kaffeemaschinen selbst gefertigte Tüte gesteckt. Die Larven kriechen an der Tüte hoch und verpuppen sich am Rand.

Herstellung des Futterbreis und Vorbereitung eines Neuansatzes

Grundsätzlich ist Drosophila mit etwas faulendem Obst (Weintrauben, Banane, Birne) zufrieden. Um eine in geschlossenen Gefäßen schnell auftretende Schimmelbildung zu vermeiden sollte die „Bananenlösung“ zugunsten eines speziellen „Futterbreies“ vermieden werden.

Im Handel sind spezielle Nährmedien für Drosophila erhältlich. Es gibt Instant-Medien, die mit etwas Wasser versetzt sofort einen aufquellenden Futterbrei ergeben, der alle Nährstoffe enthält und Bakterien und Schimmel unterdrückt. Zu nennen ist „Formula 4-24®“, erhältlich z.B. bei der Fa. Jörk Klawun in Eutin oder beim US-amerikanischen Lehrmittelvertriebs Carolina (Burlington, N.C., USA).

Sie können aber auch selbst auf recht einfache Weise einen Futterbrei herstellen, der aus Zuckerrübensirup, Maisgries und Wasser besteht und gegen Schimmel und Wildhefenbefall mit Nipagin (4-Hydroxybenzoesäuremethylester) bzw. Hefe versetzt wird. Nipagin (1 g) ist im Schulbiologiezentrum Hannover erhältlich. Die Hefe, die sich ebenfalls vom zuckerhaltigen Futterbrei ernährt bildet einen Teil der Nahrung, besonders der Larven. Die Vergärung des Zuckers schafft ein leicht alkoholisches und anlockendes Milieu. Der Maisgries dient in erster als Strukturmittel und nimmt die Feuchtigkeit und den Zucker so auf, dass keine klebrige Masse entsteht.

Unter normalen Raumbedingungen sollten die Fliegen alle 2 – 3 Wochen in ein neues Kulturgefäß mit frischem Brei umgesetzt werden. Es erfolgt also keine Futterzugabe!

Der Futterbrei besteht aus folgenden Komponenten
(Mengenangabe für 5 Gläser à 100 ml)

Zuckerrübensirup, z. B. „Graftschafter Goldsaft“ (hell)	1 EL
Polenta (Maisgries)	35 g
Wasser	250 ml
Nipagin	0,3 g
Hefe (Trockenhefe)	1 g



Weiterhin wird benötigt:

Rundfilter (94 mm), z.B. Melitta (für Kaffeemaschinen)

- Geben Sie das Wasser und den Zuckerrübensirup in einen Topf und erhitzen Sie die Mischung bis sich der Sirup aufgelöst hat.
- Geben Sie den Maisgries (Polenta) dazu und lassen ihn unter leichtem Rühren aufkochen.
- Lassen Sie den Brei etwas abkühlen und quellen.
- Rühren Sie Nipagin und Hefe unter den Brei
- Füllen Sie 5 sterile (oder ausgekochte) Gläser zu etwa 2/5 mit dem Brei.
- Lassen Sie den Brei abkühlen
- Nach dem Abkühlen streuen Sie bitte noch etwas Hefe über die Breioberfläche
- Zum Schluss wird die Tüte aus Filterpapier in den Brei gesteckt.

Falten Sie einen Rundfilter pro Ansatz zu einer Tüte: Halbieren Sie den Filter durch Umschlagen und falten Sie den entstandenen „Halbmond“ vier bis fünfmal über bis eine Tüte entsteht. Stecken Sie die Tüte mit der Spitze mittig ins Glas in den Futterbrei. Bitte keinen Klebstoff verwenden! Es macht nichts, wenn die Tüte etwas aufgeht, dadurch vergrößert sich sogar die Oberfläche und es bilden sich Nischen.

Sollten Sie den Zuchtansatz nicht gleich benötigen hält er sich verschlossen einige Wochen im Kühlschrank.

Umsetzen der Fliegen

Drosophila-Kulturen werden nicht nachgefüttert sondern umgesetzt

Das Umsetzen ist notwendig

- um Kulturen über einen langen Zeitraum zu erhalten
- und / oder
- um Kreuzungsexperimente in „jungfräulicher“ Umgebung anzusetzen

Beim Umsetzen werden in der Regel nur die erwachsenen Tiere ins neue Zuchtgefäß gelangen. Die im alten Ansatz verbleibenden Eier, Larven und Puppen entwickeln sich noch mehrere Wochen weiter. Das lässt also durchaus noch mehrmaliges Umsetzen zu. Das Ansetzen von Kreuzungsexperimenten muss stets mit einem Neuansatz beginnen weil sich andernfalls im Futterbrei bereits „unkontrolliert“ entstandene Jungstadien befinden.

Das Umsetzen der Fliegen auf den neuen Futterbrei muss zügig vonstatten gehen und sollte vorher am besten mit dem flugunfähigen Typ „vestigial“ geübt werden.

Es ist empfehlenswert, die Tiere nicht allein, sondern „mit vier Händen“ in die neuen Gläser zu bringen. Dabei sollten die Rollen klar verteilt sein und jeder sollte im „Notfall“ in der Lage sein, schnell den Part des Anderen zu übernehmen.

Stellen Sie mit Fliegenbrei und Filtertüte versehene Gläser und Stopfen bereit.

Legen Sie ein glattes Küchenhandtuch unter die Gläser.

Schlagen Sie das „alte“ Glas mit Fliegenkultur mehrfach leicht auf die Tischplatte bis alle Fliegen nach unten gefallen sind (kurze „Schreckstarre“). Ziehen Sie den Stopfen heraus und stülpen Sie das „neue“ Glas zügig (!) umkehrt darüber (Rand an Rand!) Umfassen Sie beide Gläser und achten Sie darauf, dass die Öffnungen dicht aneinander gepresst bleiben.

Drosophila fliegt bzw. läuft („vestigial“) zum Licht hin. Machen Sie sich das zunutze indem Sie das „alte“ Glas durch Umfassen abdunkeln und beide Gläser so halten, dass das „neue“ Glas zum Licht hinzeigt.



Eine aus transparenter (!) Overheadfolie geschnittene Scheibe, auf das „alte“ Glas gelegt und nach der „Übersiedlung“ zwischen den Gläsern herausgezogen kann das Umsetzen erleichtern. Nehmen Sie auf jeden Fall durchsichtiges Material, sonst besteht das Risiko, dass sich darauf absetzende Fliegen nicht erkannt werden.

Es kann sinnvoll sein, beim Umsetzen einen Zwischenschritt einzuschalten, die Fliegen zu betäuben (siehe „Betäuben der Fliegen“) und zu kontrollieren ob wirklich nur die „gewünschten“ Typen übersiedeln.

Vergessen Sie nicht – der Übersicht halber – die Neuansätze mit dem Typ und dem Datum des Umsetzens zu versehen.

Betäuben der Fliegen mit Ether, CO₂ oder Kälte

Zur gezielten Zucht müssen bestimmte Tiere herausselektiert und verpaart werden. Dazu werden sie kurzzeitig betäubt und unter dem Binokular herausgesucht.

Als Betäubungsmittel eignet sich sparsam (!) verwendeter Ether oder Kohlenstoffdioxid.

Betäubung mit Ether:

Als Betäubungsglas stellen Sie ein leeres, auf den Rand des Zuchtgefäßes passendes Glas und einen passenden Schaumstoffstopfen bereit. Geben sie einen Tropfen Ether auf den Boden des Betäubungsglases (nicht in das Kulturgefäß!). Öffnen Sie das die Fliegenkultur und drücken Sie das Betäubungsglas auf den Rand des Kulturgefäßes. Umschließen Sie das Kulturgefäß mit einer Händen. Dadurch dunkeln Sie es ab. Halten Sie jetzt beide Gläser so, dass der Boden des Betäubungsglases zum Lichteinfall zeigt und die Fliegen, ihrem Instinkt folgend ins Helle fliegen. Sollte die Ethermenge zu groß ausfallen kann es geschehen, dass er sich auch im Kulturgefäß ausbreitet und die Tiere dort herausgeschüttelt werden müssen. Das ist von Nachteil, weil dann natürlich auch tote Tiere ins Betäubungsgefäß gelangen.

Die betäubten Fliegen können jetzt auf ein Blatt Papier oder in eine Petrischale geschüttelt werden. Ein Tropfen Ether in eine 100ml-Weithalsflasche gegeben betäubt die Fliegen für 10 – 15 Minuten.

Sollten die Fliegen frühzeitig erwachen kann ein Deckel auf die Petrischale gesetzt und mit einem weiteren Tropfen Ether nachbetäubt werden.

Benutzen Sie bitte beim Narkotisieren keine Pasteurpipetten: Die aufgezogene Ethermenge verdunstet unter Druckentwicklung so schnell, dass die im Pipettenröhrchen befindliche Flüssigkeit von selbst aus der Pipette herausschießt.

Alternativen zur Betäubung mit Ether:

Kälte: Die einfachste, das Nervensystem und das Verhalten der Fliegen nach der Narkose nicht beeinträchtigende Methode ist das Herunterkühlen der Kultur im Kühlschrank. Der Nachteil ist, dass der Inhalt des Kulturglases, einschließlich der toten Tiere, herausgeschüttelt werden muss und dass sich die Fliegen bei Raumtemperatur natürlich schnell wieder erholen.

Kohlenstoffdioxid: Die CO₂-Anästhesie ist eine einfache, geruchlose Methode die verhältnismäßig lange vorhält. CO₂ wird entweder direkt aus der Glasflasche genommen oder – um zu verhindern, dass die Fliegen bei zu weit geöffnetem Hahn aus dem Kulturgefäß gewirbelt werden – in einem Behälter zwischengelagert. CO₂ ist schwerer als Luft und lässt sich daher – unsichtbar! – von einem Glas ins andere gießen. Kohlenstoffdioxid kann bei Fehlen einer Gasflasche mit Hilfe eines Sprudelwasserbereiters erzeugt werden. Dazu muss die zum Gerät gehörende Flasche einfach ohne Wasserfüllung eingesetzt werden.

Man kann CO₂ auch mit Brausetabletten und Essig in einem geschlossenen Gefäß herstellen und das Gas über einen Schlauch in das Kulturgefäß leiten.

Das Betäuben sollte zunächst mit dem flugunfähigen Typ „vestigial“ geübt werden.



Auslese beim Umsetzen

Das Schulbiologiezentrum Hannover bemüht sich, Ihnen sortenreine Kulturen anzubieten. Wir sind aber kein Handelsunternehmen: Auch bei bestem Willen kann es vorkommen, dass sich einmal „ebony“ in eine „wild“ Kultur gemischt hat.

Um ganz sicher zu gehen sollten Sie die Tiere beim Umsetzen zunächst in ein Betäubungsglas fliegen bzw. laufen lassen und narkotisiert unter dem Binokular untersuchen. Erst dann geben Sie die Fliegen in das vorbereitete neue Zuchtgefäß.

Vorschläge für Kreuzungsexperimente

Historisch gesehen sollte an erster Stelle die Kreuzung des rotäugigen Wildtyps („wild“) mit der weißäugigen Mutante „white“ stehen. Die Kreuzungsergebnisse der beiden Typen ist aber vom Geschlecht der Elterngeneration abhängig, was das die Interpretation der Vorgänge nicht gerade erleichtert. Daher beginnen wir mit den „klassischen“ mono- und dihybrid dominant rezessiven Erbgängen und schließen im ersten Fall die entsprechenden Rückkreuzungen mit ein. An diesen Experimenten ist die erste Mendelsche Regel (Uniformitätsgesetz), die zweite Mendelsche Regel (Spaltungsregel) und die dritte Mendelsche Regel (Gesetz von der Neukombination der Gene) ableitbar.

Einfache monohybride Kreuzungen

Der Begriff „monohybrid“ meint ein Allelpaar mit verschieden gearteten (heterozygoten) Partnern. Wir schlagen vor, mit einer einfachen monohybriden, dominant rezessiven Kreuzung zu beginnen, vergleichbar mit der in der Arbeitshilfe 10.1 dargestellten (homozygoten) Kreuzung von violetterm und gelbkörnigem Mais oder der in Arbeitshilfe 10.4 vorgestellten Kreuzung einer weißen AKR-Maus mit einem schwarzen C57Bl-Partner. In beiden Fällen erhalten wir eine einfarbige, uniforme erste Filialgeneration (violette Kolben bzw. schwarze Mäuse), die untereinander zur F2 weitergekreuzt im Verhältnis 3 : 1 aufspaltet.

Als Einstieg in das Thema empfehlen wir einen, bei uns im Schulbiologiezentrum Hannover ausleihbaren Satz aus gelben und grünen Erbsen die, ausgezählt, ein Verhältnis von etwa 3 : 1 (gelb : grün) ergeben.

Als Partner wählen wir zunächst „wild“ und „vestigial“, nicht zuletzt um das „Sexing“ zunächst an den stummelflügeligen Stamm „vestigial“ zu üben: Bei der Auslese von Weibchen wird schnell auffallen, dass die den Hinterleib überragenden Flügel des Wildtyps das Erkennen des Geschlechts nicht ganz einfach macht.

Bei „ebony“ ist die Bänderung des Hinterleibs kaum zu erkennen und der dunkelborstige Geschlechtsskamm bei den Männchen hebt sich nur wenig hervor. Das sichere Erkennen der Geschlechter setzt hier schon etwas Übung voraus.

Kreuzung „wild“ x „vestigial“:

Beide Partner unterscheiden sich nur in Bezug auf die bei „vestigial“ verkümmerten Flügel. Beide sind also rotäugig und wildfarben

- Die F1 der beiden Kreuzungspartner hat normale Flügel (vg^+ / vg)
- Die aus der F2 isolierten stummelflügeligen Nachkommen sind alle vom „vestigial“-Typ und homozygot (vg / vg).
- Ob die normalflügeligen Tiere dem homozygoten „wild“-Elter (vg^+ / vg^+) entsprechen oder heterozygot sind (vg^+ / vg) muss durch die Rückkreuzung mit dem rezessiven „vestigial“- Elter (vg / vg) entschieden werden.



Kreuzung „wild“ x „ebony“:

Beide Partner unterscheiden sich nur in Bezug auf die bei „ebony“ durch verstärkte Einlagerung von Melanin dunkle Körperfarbe. Beide sind also rotäugig und normalflügelig.

- Die F1 der beiden Kreuzungspartner ist wildfarben (e^+ / e)
- Die aus der F2 isolierten dunklen Nachkommen sind alle vom „ebony“-Typ und homozygot (e / e).
- Ob die wildfarbenen Tiere dem homozygoten „wild“-Elter (e^+ / e^+) entsprechen oder heterozygot sind (e^+ / e) muss durch die Rückkreuzung mit dem rezessiven „ebony“-Elter (e / e) entschieden werden.

Dihybride Kreuzungen, Neukombination der Gene

Der Begriff „dihybrid“ bezeichnet zwei jeweils unterschiedlich geartete, also doppelt heterozygote Allelpaare. Die beiden Allelpaare sollten auf zwei bei der Keimzellbildung (Meiose) unabhängig voneinander auf Spermien und Eizelle verteilten Chromosomen liegen. Bei der dihybriden Kreuzung kann es mit statistischer Wahrscheinlichkeit zur Neukombination der Allele kommen woraus „neue“ homozygote Nachkommen entstehen.

Auch hier empfehlen wir als Einstieg das Auszählen einer dihybriden F2-Generation aus gelben-glatten und grünen-runzeligen Erbsen (Arbeitshilfe 10.10), das Auszählen von Maiskörnern (Arbeitshilfe 10.1) und das Kreuzen (oder die Interpretation von Kreuzungen) von Labormäusen (Arbeitshilfe 10.4).

Kreuzung „vestigial“ x „ebony“:

Das Gen „vestigial“ (vg^+ , normalflügelig bzw. v, stummelflügelig) liegt auf Chromosom II, „ebony“ (e^+ , wildfarben bzw. e, dunkle Körperfarbe) auf dem Chromosom III. Sie können bei der Meiose unabhängig voneinander verteilt werden. Die Gene „vg“ und „e“ sind rezessiv.

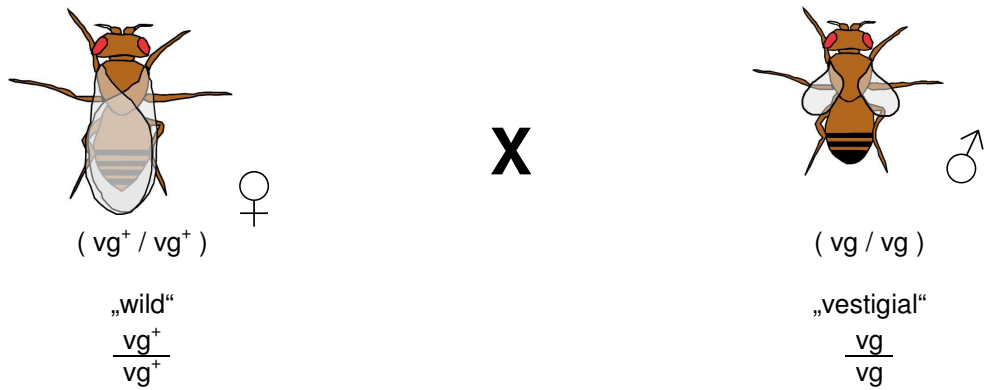
Die F1-Generation der Kreuzung „vestigial“ x „ebony“ ist einheitlich (erstes Mendelsches Gesetz, Uniformitätsgesetz) und phänotypisch wie der Wildtyp gestaltet.

Die F2 spaltet im Idealfall im Verhältnis 9 : 3 : 3 : 1 auf. Unter den potenziell vier homozygoten Typen sind zwei den Eltern der P-Generation gleich („vestigial“ und „ebony“) und einer ist vom Typ „wild“. Als vierter Typ entsteht „vestigial ebony“, eine „neue“ dunkle Rasse mit verkümmerten Flügel die die beiden rezessiven Eigenschaften der Elterngeneration in sich vereinigt ($vgvg / ee$). Sie kann, wie alle homozygoten Nachkommen isoliert und als reinerbige Rasse weiter gezüchtet werden.

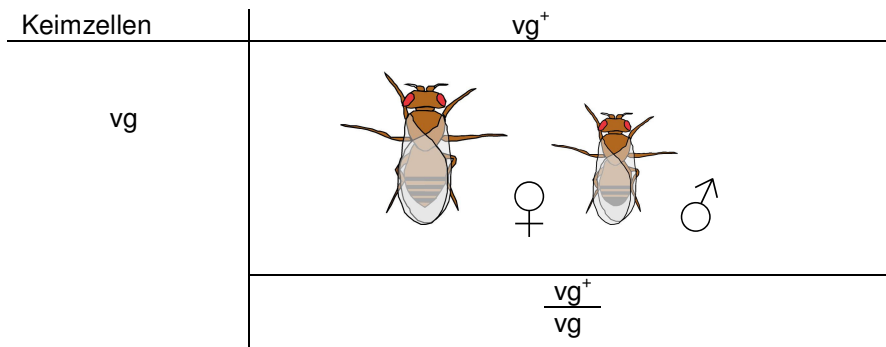


Monohybrider, dominant rezessiver Erbgang
Kreuzung „wild“ (vg^+ / vg^+) X „vestigial“ (vg / vg)

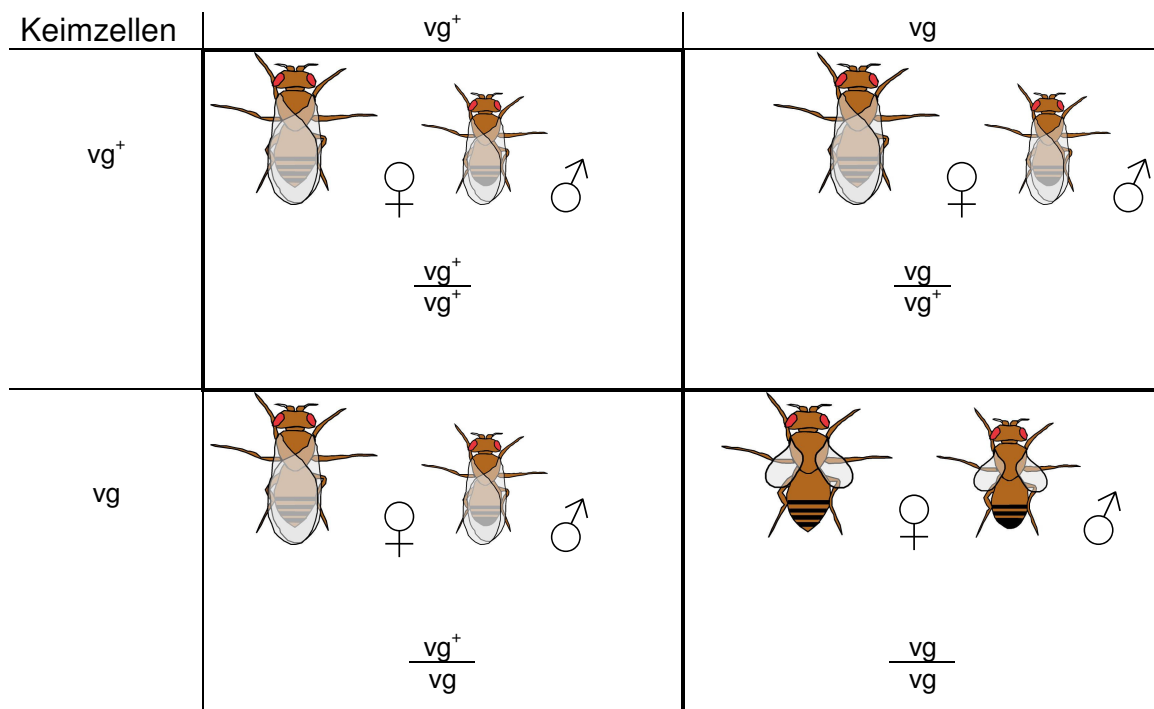
P



F1 (1. Mendelsches Gesetz: Uniformitätsregel)

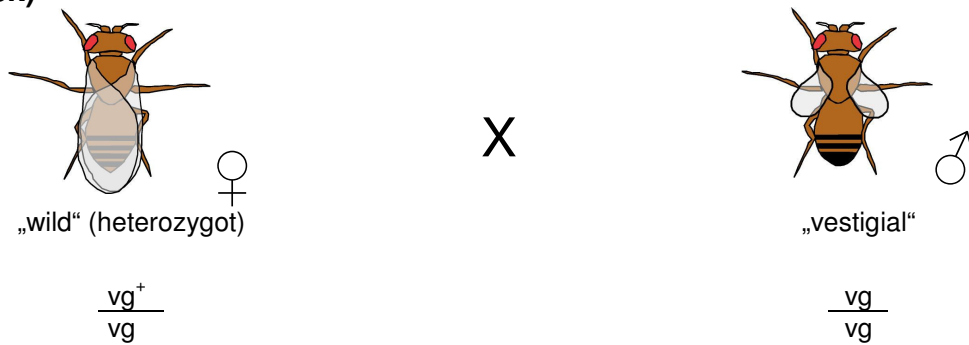


F2 (2. Mendelsches Gesetz: Spaltungsregel)



Rückkreuzung (aus F2 „wild“ x „vestigial“) mit rezessivem Elter („vestigial“)

P(Rück)



F1(Rück)

Keimzellen	vg^+	vg
vg	<p>$\frac{vg^+}{vg}$</p>	<p>$\frac{vg}{vg}$</p>
vg	<p>$\frac{vg^+}{vg}$</p>	<p>$\frac{vg}{vg}$</p>

Ist der normalflügelige Elter heterozygot (vg^+/vg), ist das Ergebnis 1 : 1

- 50 % stummelflügelige, homozygote Nachkommen („vestigial“)
- 50% normalflügelige, heterozygote Tiere

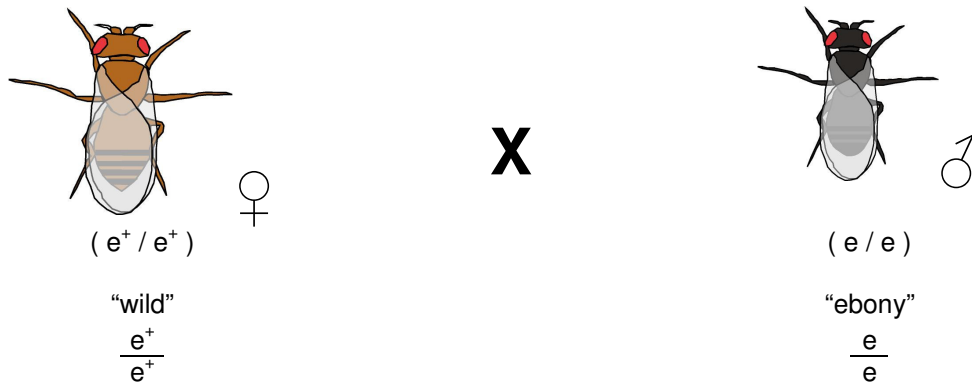
Ist der normalflügelige Elter homozygot („wild“, vg^+/vg^+), ist das Ergebnis 1 : 2 : 1

- 25% normalflügelige, homozygote Nachkommen („wild“, vg^+/vg^+)
- 50% normalflügelige, heterozygote Tiere (vg^+/vg)
- 25% stummelflügelige, homozygote Tiere („vestigial“, vg/vg)

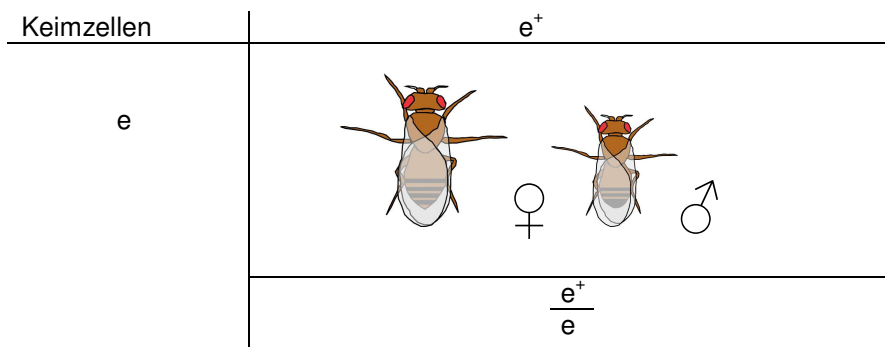


**Monohybrider, dominant rezessiver Erbgang:
Kreuzung e^+/e^+ („wild“, dominant) x e/e („ebony“, rezessiv)**

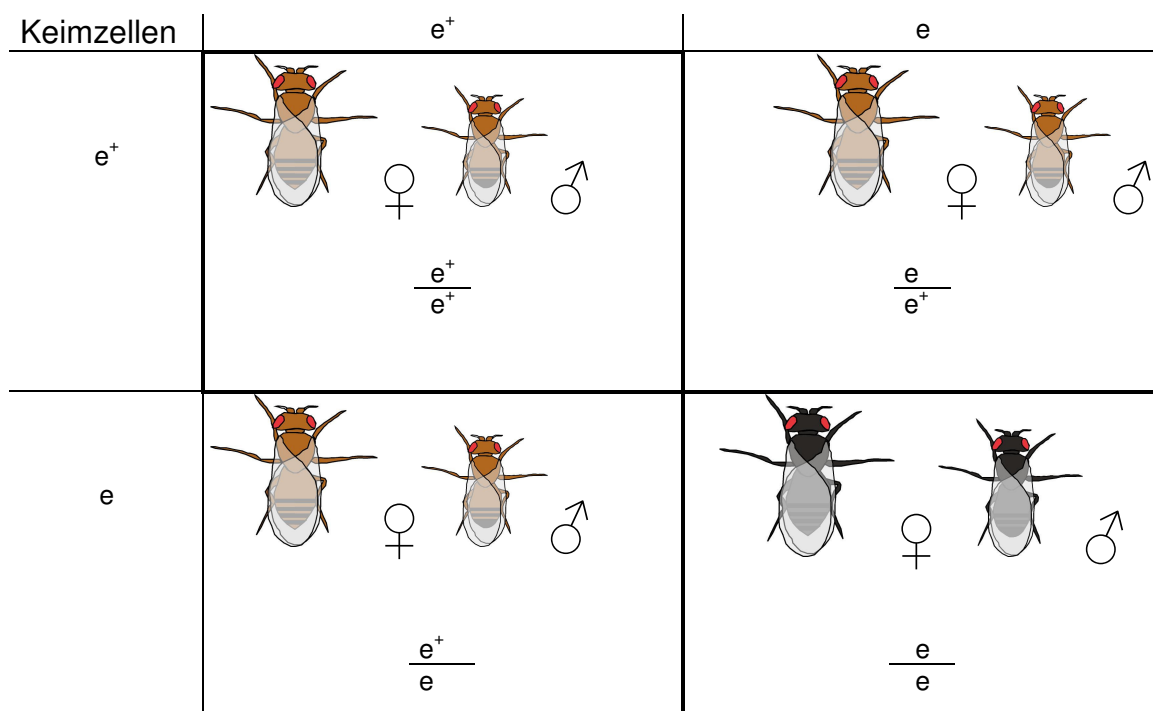
P



F1 (1. Mendelsches Gesetz: Uniformitätsregel)

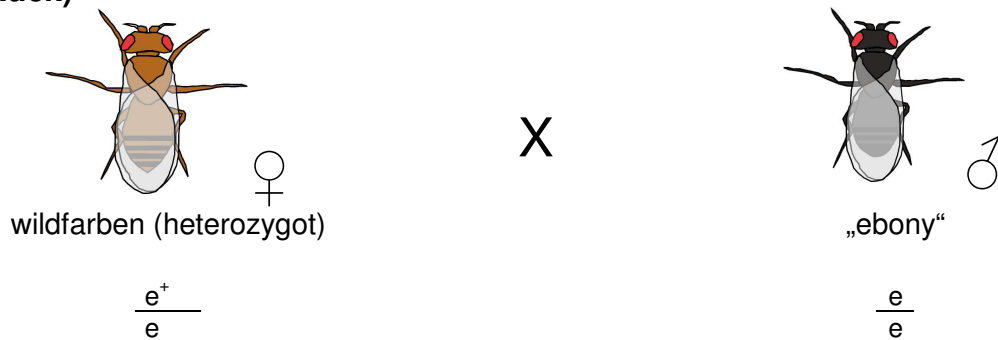


F2 (2. Mendelsches Gesetz: Spaltungsregel)



Rückkreuzung (aus F2 „wild“ x „ebony“) mit rezessivem Elter („ebony“)

P(Rück)



F1(Rück)

Keimzellen	e^+	e
e	<p>$\frac{e^+}{e}$</p>	<p>$\frac{e}{e}$</p>
e	<p>$\frac{e^+}{e}$</p>	<p>$\frac{e}{e}$</p>

Ist der wildfarbene Elter heterozygot (e^+/e), ist das Ergebnis 1 : 1

- 50 % dunkle, homozygote Nachkommen („ebony“)
- 50% wildfarbene heterozygote Tiere

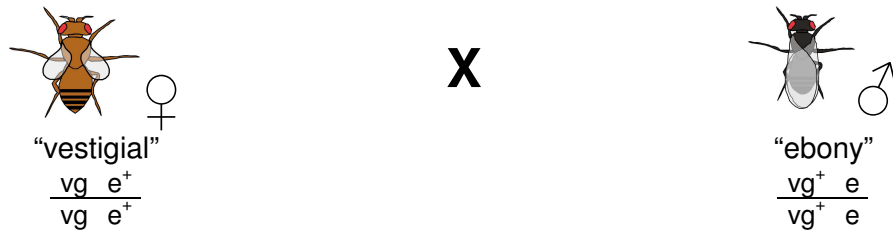
Ist der wildfarbene Elter homozygot („wild“, e^+/e^+), ist das Ergebnis 1 : 2 : 1

- 25% wildfarbene, homozygote Nachkommen („wild“, e^+/e^+)
- 50% wildfarbene, heterozygote Tiere (e^+/e)
- 25% dunkle, homozygote Tiere („ebony“, e/e)

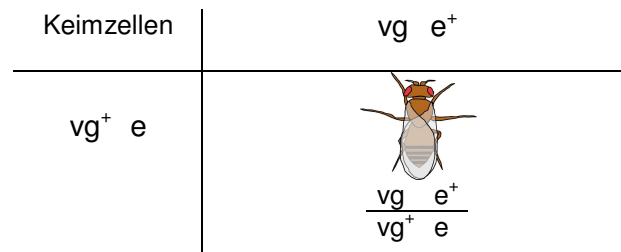


Dihybrider Erbgang: Kreuzung „vestigial“ x „ebony“










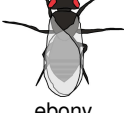






P



F1 (1. Mendelsches Gesetz: Uniformitätsregel)



F2 (3. Mendelsches Gesetz: Regel Neukombination der Gene)

Keimzellen	$vg\ e^+$	$vg\ e$	$vg^+\ e$	$vg^+\ e^+$
$vg\ e^+$	 vestigial $\frac{vg\ e^+}{vg\ e^+}$	 vestigial $\frac{vg\ e^+}{vg\ e}$	 wild $\frac{vg\ e^+}{vg^+\ e}$	 wild $\frac{vg\ e^+}{vg^+\ e^+}$
$vg\ e$	 vestigial $\frac{vg\ e}{vg\ e^+}$	 vestigial ebony $\frac{vg\ e}{vg\ e}$	 ebony $\frac{vg\ e}{vg^+\ e}$	 wild $\frac{vg\ e}{vg^+\ e^+}$
$vg^+\ e$	 wild $\frac{vg^+\ e}{vg\ e^+}$	 ebony $\frac{vg^+\ e}{vg\ e}$	 ebony $\frac{vg^+\ e}{vg^+\ e}$	 wild $\frac{vg^+\ e}{vg^+\ e^+}$
$vg^+\ e^+$	 wild $\frac{vg^+\ e^+}{vg\ e^+}$	 wild $\frac{vg^+\ e^+}{vg\ e}$	 wild $\frac{vg^+\ e^+}{vg^+\ e}$	 wild $\frac{vg^+\ e^+}{vg^+\ e^+}$

Geschlechtsgebundene Vererbung

T. H. Morgan entdeckte 1910 in einer *Drosophila*-Laborkultur mit rotäugigen Wildformen ein weißäugiges Männchen. Es wurde isoliert und mit einem rotäugigen Weibchen verpaart. Diese Kreuzung lieferte ausschließlich rotäugige Nachkommen. Kreuzte man die F1 untereinander weiter, so traten wieder weißäugige Exemplare auf. Allerdings waren fast alle weißäugigen Nachkommen Männchen, weißäugige Weibchen waren sehr selten.

Dies führte zur Vermutung, dass die Mutation „white“ an das Geschlecht gebunden ist. Morgan war zunächst kein Anhänger der Chromosomentheorie der Vererbung und lehnte – wie viele Wissenschaftler zu Anfang des 20. Jahrhunderts - die Erkenntnisse Gregor Mendels ab. Später rang er sich – unterstützt durch die Forschungsergebnisse seiner Mitarbeiter wie etwa Sturtevant – nicht nur zur Anerkennung der Chromosomentheorie und der Mendelvererbung durch sondern entwickelte ein Verfahren, mit dem die mutierten Gene und damit auch die nicht mutierten Wildallele mit für die damalige Zeit großer Präzision auf den Chromosomen lokalisiert werden konnten (Genkartierung).

Weibchen haben – das wurde durch die um die Jahrhundertwende deutlich verbesserte Mikroskopier- und Färbetechnik erkannt - 4 Chromosomenpaare, darunter zwei gleichartige „X“ genannte Geschlechtschromosomen. Männchen haben nur ein X-Chromosom und ein wesentlich kleineres Y-Chromosom. Die Tatsache, dass die Mutante „white“ in der F2 seltener als der rotäugige Wildtyp auftrat wurde folgerichtig so erklärt:

- Das Gen liegt doppelt vor.
- Die beiden Allele liegen auf zwei zueinander passenden Chromosomen
- Das Gen ist rezessiv. Es ist dem dominanten Wildallel untergeordnet.
- Dadurch kann es phänotypisch Generationen überspringen.
- Das Gen liegt auf dem X-Chromosom. Läge es auf einem anderen Chromosom, müssten weißäugige Weibchen und Männchen langfristig mit gleicher Häufigkeit auftreten.
- Ein weißäugiges Weibchen muss zwei mutierte Allele „white“ besitzen. Die Kombination „w⁺/w“ dagegen führt zu rotäugigen, der Wildform gleichen Tieren. Bei weißäugigen Männchen reicht das Vorhandensein eines „w“-Allels aus, denn es gibt auf dem Y-Chromosom keinen dominanten Partner.

Zwei auf den Boden geworfene Münzen verdeutlichen den geschlechtsgekoppelten Vererbungsmechanismus des „white“ Allels: Die Chance beim Wurf einer einzigen Münze entweder „Kopf“ oder „Zahl“ zu erhalten beträgt 1:1, also 50%. Wenn man das Spiel mit zwei Münzen wiederholt gibt es vier Möglichkeiten und jede Variante tritt mit einer Wahrscheinlichkeit von 25% auf.

Da das mutierte „white“-Allel im normalen Genpool nur selten vorkommt und ein großer Teil in heterozygoten rotäugigen Tieren „versteckt“ ist, ist die Chance in Zuchtgefäß weißäugige Weibchen zu finden sehr gering (Vergleiche dazu „Hardy-Weinberg-Gleichgewicht“ und „Gendrift“).

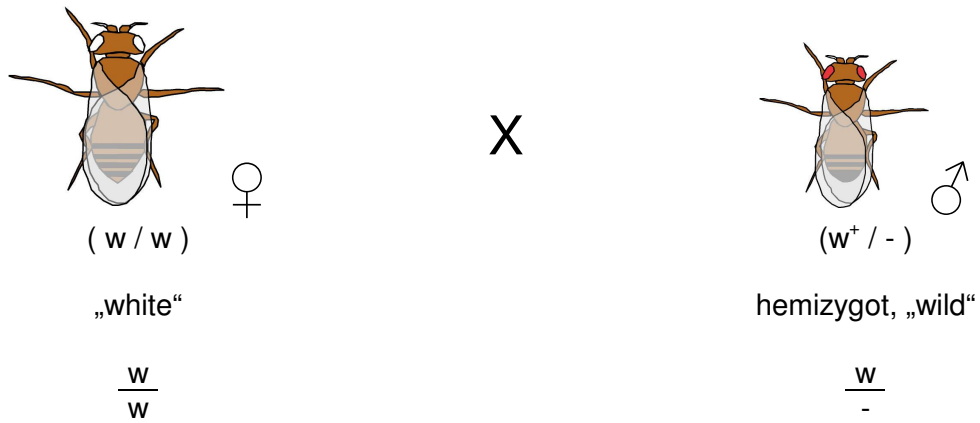
Aus der Kreuzung der homozygoten Stämme „wild“ (w⁺ / w⁺) und „white“ (w / w) gehen nur dann weißäugige Tiere hervor, wenn das Männchen rot- und das Weibchen weißäugig ist. Dann sind alle weiblichen Nachkommen rot- und alle Männchen weißäugig.

Ist das Männchen der Elterngeneration dagegen weiß- und das Weibchen rotäugig dann sind alle Nachkommen rotäugig.

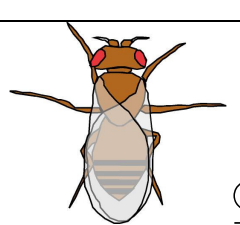
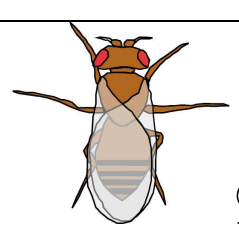
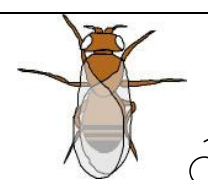
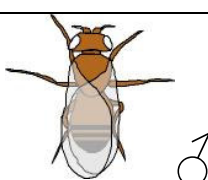


Monohybrider Erbgang: Weibchen „white“ (w / w) x Männchen „wild“ (w⁺ / -)

P



F1

Keimzellen	w	w
w ⁺	 $\frac{w}{w^+}$ ♀	 $\frac{w}{w^+}$ ♀
-	 $\frac{w}{-}$ ♂	 $\frac{w}{-}$ ♂

Ergebnis 1 : 1

- 50 % rotäugige Weibchen (heterozygot)
- 50% weißäugige Männchen (hemizygot)

Kreuzungen mit „curly“

Wird „wild“ mit „curly“ gekreuzt scheint das erste Mendelsche Gesetz der Uniformität innerhalb der F1 nicht zu gelten. Das Ergebnis von 50% „wild“ und 50% „curly“ ist, sowohl was die Elterngeneration als auch die Nachkommen angeht geschlechtsunabhängig, was darauf hinweist, dass das Gen für die Stummelflügeligkeit nicht auf dem Chromosom I liegt.

Das Verhältnis 1 : 1 erinnert an die Rückkreuzung des monohybriden Vererbungsschemas und lässt darauf schließen, dass der eine Elter heterozygot sein muss.

Und tatsächlich: Werden die „curly“-Individuen dieser Kreuzung isoliert, sind die F1-Nachkommen nicht uniform und sind entweder „wild“- oder „curly“-Typen. Auch hier scheint also das erste Mendelsche Gesetz auf den ersten Blick (!) keine Gültigkeit zu haben. Das Herstellen einer „curly“-Reinzucht scheint nicht möglich zu sein! Verwirrend ist zunächst auch, dass das Verhältnis „wild“ / „curly“ nicht 3 : 1 sondern 2 : 1 beträgt.

Tatsächlich sind alle Tiere vom Typ „curly“ heterozygot (CY^+ / CY). Die Erklärung für das eigenartige 2 : 1 Verhältnis ist, dass CY ist in doppelter Ausprägung letal ist. Es gibt keine lebenden CY/CY Tiere!

Das hat in einer „curly“-Population zwei wichtige Konsequenzen die Kreuzungen mit diesem Typ ganz anders gestalten als die bisher betrachteten.

- Reine „curly“-Zucht gibt es nicht. Es treten immer auch „wild“-Typen auf die keine Verunreinigungen darstellen.
- Die „wild“-Individuen erzeugen, isoliert weitergezüchtet, nur „wild“-Nachkommen.
- Die Zahl der „curly“-Individuen nimmt mit jeder Generation zugunsten des „wild“-Typus ab

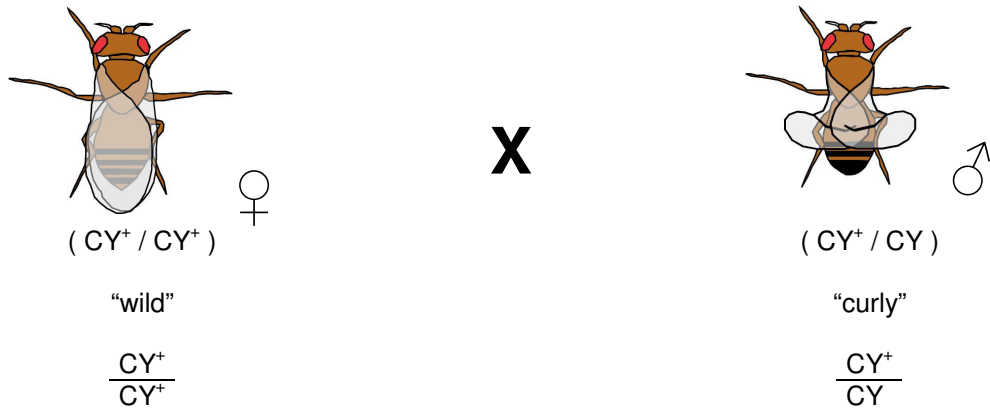
Der relative Rückgang der Tiere vom Typ „curly“ ist ein Beispiel für die so genannte Gendrift bei der unvorteilhafte Mutationen mit mathematisch nachvollziehbarer Wahrscheinlichkeit aus dem Genpool eliminiert werden.

Die Populationsdynamik in einer „curly“-Kultur lässt sich mit dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWG) und durch Berechnung der Gendrift nachvollziehen.



Kreuzung CY^+ / CY^+ ("wild", rezessiv) x CY / CY^+ ("curly", dominant)

P



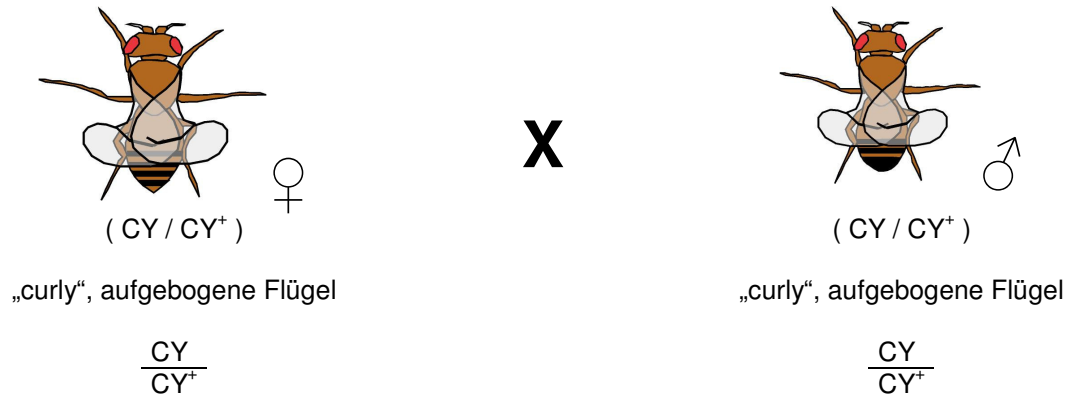
F1

Keimzellen	CY^+	CY^+
CY^+	<p>♀ ♂</p> <p>$\frac{CY^+}{CY^+}$</p>	<p>♀ ♂</p> <p>$\frac{CY^+}{CY^+}$</p>
CY	<p>♀ ♂</p> <p>$\frac{CY^+}{CY}$</p>	<p>♀ ♂</p> <p>$\frac{CY^+}{CY}$</p>



Gendrift in "curly"-Kultur: Kreuzung CY/CY⁺ ("curly") x CY/CY⁺ ("curly")

P



”

F1

Keimzellen	CY	CY ⁺
CY	<p>$\frac{CY}{CY}$</p>	<p>$\frac{CY^+}{CY}$</p>
CY ⁺	<p>$\frac{CY}{CY^+}$</p>	<p>$\frac{CY^+}{CY^+}$</p>

Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWG)

Werfen wir zwei gleiche Münzen auf den Boden. Die Chancen „Kopf / Kopf“ und „Zahl / Zahl“ stehen jeweils 25%, „Kopf / Zahl“ bzw. „Zahl / Kopf“ zusammen 50 %. Die Wurfsergebnisse spiegeln die Verteilung in der zweiten monohybriden Filialgeneration. Die beiden Seiten der Münzen stehen hier für zwei Allele.

Möglichkeiten	Kombinationswahrscheinlichkeit		
Kopf, p = 0,5 Zahl, q = 0,5	Kopf / Kopf	$p \cdot p = 0,5 \cdot 0,5 = 0,25$	Kopf / Kopf $p^2 = 0,25$
	Kopf / Zahl	$p \cdot q = 0,5 \cdot 0,5 = 0,25$	Kopf / Zahl, Zahl / Kopf $2pq = 0,50$
	Zahl / Kopf	$p \cdot q = 0,5 \cdot 0,5 = 0,25$	
	Zahl / Zahl	$q \cdot q = 0,5 \cdot 0,5 = 0,25$	Zahl / Zahl $q^2 = 0,25$

Die Wahrscheinlichkeit auf der einen oder anderen Seite liegen zu bleiben stets 50 : 50 und die Summe der Wahrscheinlichkeiten $0,5 + 0,5 = 1$.

Das ist – ganz kurz gesagt – der Inhalt des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts (HWG) das uns die Häufigkeit und Verteilung der Allele (Allelfrequenzen) in einem Genpool voraussagen kann. „p“ steht für „Kopf“, „q“ für „Zahl“

$$\text{Kopf / Kopf} + (\text{Kopf / Zahl} + \text{Zahl / Kopf}) + \text{Zahl / Zahl} = p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Mit dem HWG lässt sich die Entwicklung einer geschlossenen, sich selbst überlassenen Population voraussagen in der die Allele ungleich verteilt sind.

In einer künstlich herbestellten Fliegenkultur seien 80% vom Typ WILD und 20% vom Typ EBONY. Die P-Generation sei homozygot. Das Allel „e⁺“ (normale Farbe) ist dominant, „e“ (dunkle Farbe, ebony) ist rezessiv. Unter der Voraussetzung gleicher Überlebenschancen, gleichmäßiger Geschlechtsverteilung, „Jungfräulichkeit“ der Weibchen und gleicher Wahrscheinlichkeit, zur Fortpflanzung zu kommen (Panmixie) ergibt sich für die F1 folgendes Bild:

Allelfrequenz P1	Kombinationswahrscheinlichkeit Gameten	Ergebnisse in der F1	
e ⁺ , p = 0,8 e, q = 0,2	e ⁺ mit e ⁺ ,	$p \cdot p = 0,8 \cdot 0,8 = 0,64$	e ⁺ /e ⁺ , $p^2 = 0,64$
	e ⁺ mit e,	$p \cdot q = 0,8 \cdot 0,2 = 0,16$	e ⁺ /e, e/e ⁺ , $2pq = 0,32$
	e mit e ⁺ ,	$p \cdot q = 0,8 \cdot 0,2 = 0,16$	
	e mit e,	$q \cdot q = 0,2 \cdot 0,2 = 0,04$	e / e $q^2 = 0,04$

Die Allelfrequenzen stehen in einem stabilen Gleichgewicht:

$$(e^+/e^+ + (e^+/e + e/e^+) + e/e) = p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Das Allelverhältnis in der Gesamtpopulation bleibt erhalten (0,8 / 0,2)

Die Zahl der Phänotypen „ebony“ verringert sich von 20% auf 4 %

Die Zahl der Phänotypen „wild“ steigt von 80% auf 96

Die Zahl der homozygoten „wild“-Typen geht von 80% auf 64% zurück

Kreuzt diese F1-Genpool untereinander weiter verändert sich die Allelfrequenzen nicht (0,8 / 0,2) sofern die Selektion nicht oder bei beiden Allelen gleich stark wirkt.

Interessant ist hier der Exkurs auf den Industriemelanismus des Birkenspanners, dessen doppelt rezessive dunkle Mutanten auf Birken herausselektiert werden und auf verschmutzten Unterlage einen Selektionsvorteil haben.



Gendrift: Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht unter der Bedingung unterschiedlicher relativer Fitness

In einem Sack befinden sich 2 x 20 gleiche Münzen mit unterschiedlicher Vorder- und Rückseite. Werfen wir nacheinander jeweils zwei auf den Boden. Die Wahrscheinlichkeit so oder so zu fallen und zu kombinieren entspricht $p^2 + 2pq + q^2 = 1$ oder 25 : 50 : 25.

Die Spielregel heiße: Jedes Pärchen mit mindestens einem Kopf wandert zurück in den Sack. Tritt die Zahl doppelt auf werden beide Münzen aus dem Spiel herausgenommen.

Dieses Beispiel demonstriert in einfacher Form die Verhältnisse in einer geschlossenen CURLY-Kultur: Das Allel CY^+ das zu aufgebogenen Flügeln führt ist dominant.

„Curly“ ist grundsätzlich heterozygot CY/CY^+ da die Kombination CY/CY letal, also nicht lebensfähig ist. Paaren sich zwei „curly“-Individuen wird das übliche F_2 -Verhältnis 1 : 2 : 1 durch den Ausfall des CY/CY -Genotyps gestört. Unter je 3 berlebenden Nachkommen sind zwei wiederum heterozygote „curly“ und ein homozygoter „wild“-Typ.

Welche Folgen hat die Letalität des CY -Allels für die weitere Entwicklung der im Zuchtgefäß eingeschlossene Fliegenpopulation?

Der Genpool wird im hier betrachteten Fall von den beiden Allelen CY^+ und CY bestimmt. Jedes der beiden Allele tritt mit der gleichen Häufigkeit (Frequenz) von 50% auf.

Die Wahrscheinlichkeiten, dass sich die Allele vermischen beträgt:

Allelfrequenz P1	Kombinationswahrscheinlichkeit Gameten	
CY^+ , $p = 0,5$	CY^+ mit CY^+ , $p \cdot p = 0,5 \cdot 0,5 = 0,25$	CY^+/CY^+ , $p^2 = 0,25$
CY , $q = 0,5$	CY^+ mit CY , $p \cdot q = 0,5 \cdot 0,5 = 0,25$	$CY^+/CY, CY/CY^+$, $2pq = 0,50$
	CY mit CY^+ , $p \cdot q = 0,5 \cdot 0,5 = 0,25$	
	CY mit CY , $q \cdot q = 0,5 \cdot 0,5 = 0,25$	CY/CY , $q^2 = 0,25$

$$CY^+/CY^+ + CY^+/CY + \cancel{CY/CY} = p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Hier greift die Selektion in das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht: 25% der Nachkommen (CY/CY) kommen durch frühen Tod nicht zur Fortpflanzung. Damit fällt die Hälfte der CY -Allele aus dem Genpool heraus, die andere Hälfte wird durch die heterozygoten „curly“-Typen ($CY^+/CY, CY/CY^+$) weitervererbt. Die relative Fitness, d.h. die Überlebensfähigkeit der Allelkombinationen ist hier extrem ungleich verteilt.

Die relative Fitness wird ausgedrückt als Quotient aus

$$\frac{\text{Gesamtzahl aller Nachkommen}}{\text{Anzahl der Nachkommen mit dem besten Genotyp}}$$

Wenn nur 20 % einer Allelkombination zur Fortpflanzung kommt beträgt sie 0,2.

Gerechnet wird im Folgenden mit dem Selektionsnachteil s , in diesem Falle $(1 - 0,2) = 0,8$.



Für „curly“ gilt:

In der P-Generation ist die Fitness für die Kombinationen CY^+/CY^+ und CY^+/CY bzw. CY/CY^+ jeweils 100%: Sie kommen alle zur Fortpflanzung. Die relative Fitness der CY/CY -Typen ist 0.

Genotypen	CY^+/CY^+ ,	$CY^+/CY, CY/CY^+$	$CY / CY,$	Gesamt
Fitness	100%	100%	0%	
Häufigkeit	25	50	25	100
Selektion				
Häufigkeit	25	50	0	75
Häufigkeit CY (q)	$\frac{(CY^+/CY, CY/CY^+) : 2 + (CY / CY)}{\text{Gesamtzahl Überlebende}}$ $\frac{(50 : 2 + 0)}{75}$			

$$q_1 = 0,33333$$

In einer Generation hat sich die Frequenz des letalen Allels CY von von 50% auf 33% verringert.

Kreuzt die F1 weiter zur F2 verringert sich die Frequenz weiter:

Der Selektionsnachteil ist 100% oder $s = 1$.

$$q_2 = \frac{q_1 \cdot (1 - s \cdot q_1)}{1 - s \cdot q_1^2} = \frac{0,333 \cdot (1 - 1 \cdot 0,333)}{1 - 1 \cdot 0,333^2} = 0,249$$

Für die nächste Generationen verfährt man in dem man für q_1 den Wert für q_2 einsetzt:

$$q_3 = \frac{q_2 \cdot (1 - s \cdot q_2)}{1 - s \cdot q_2^2} = \frac{0,249 \cdot (1 - 1 \cdot 0,249)}{1 - 1 \cdot 0,249^2} = 0,199$$

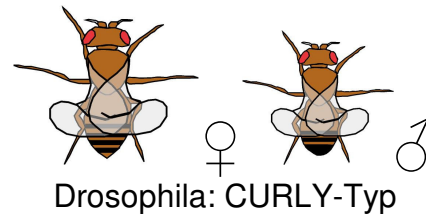
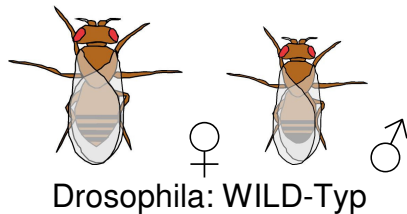
und so weiter...

Trägt man die errechneten Werte in einen Graphen ein wird deutlich, dass das letale Gen in der „geschlossenen Gesellschaft“ tendenziell herausmendet.

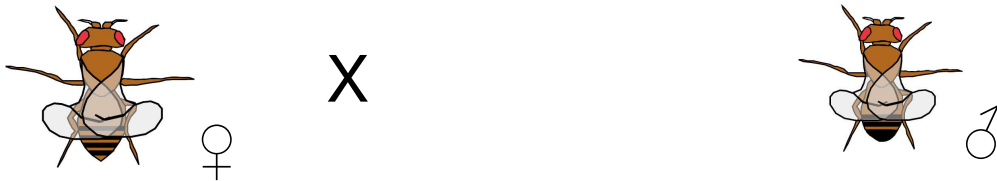


Arbeitsblatt: Drosophila: „Unreine“ CURLY-Kulturen

Im Schulbiologiezentrum Hannover werden 5 Stämme der Fruchtfliege (*Drosophila*) für Kreuzungsexperimente gehalten. Neben dem WILD-, WHITE-, EBONY- und VESTIGIAL-Typ gibt es den CURLY-Typ. Wir werden oft darauf angesprochen, dass die CURLY-Kulturen nicht „rein“ sind und gefragt, ob beim An- und Umsetzen der Fliegen sich nicht WILD-Typen in die Gläser hineinverirrt haben...

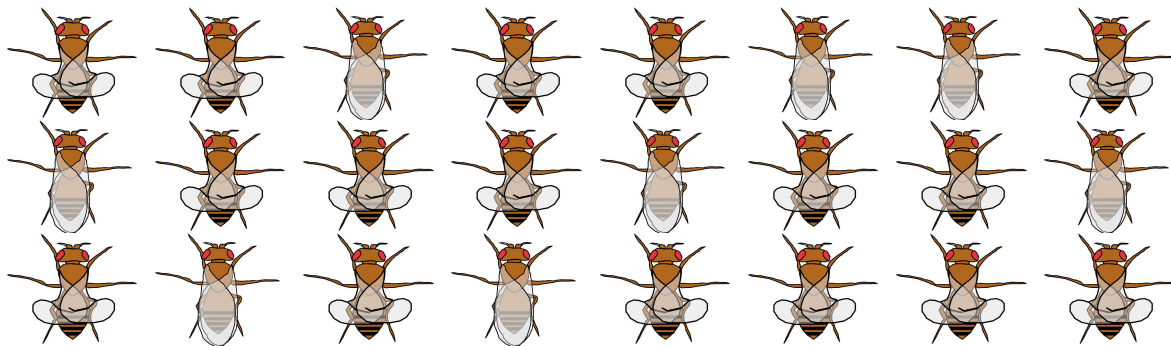


In ein leeres mit „Fliegenbrei“ gefülltes Zuchtglas wird ein Drosophila-Männchen und ein Drosophila-Weibchen gegeben. Beide sind vom CURLY-Typ. CURLY ist eine Mutation die sich vom normal geflügelten WILD-Typ durch aufgebogene Flügel unterscheidet. Ihre Flugfähigkeit ist dadurch eingeschränkt.



Nach etwa 3 Wochen schlüpfen aus 30 Eiern 24 junge Fliegen.

Unter den CURLY-Fliegen sind einige vom WILD-Typ. Das ist bei einer Kreuzung aus CURLY x CURLY die Regel. Es ist offenbar nicht möglich, CURLY „sortenrein“ zu züchten.



Zähle die Fliegen aus und bestimme das Verhältnis CURLY : WILD

- Mit welcher Mendelschen Regel lässt sich das Ergebnis erklären?
- Sind CURLY und WILD reinerbig (homozygot) oder mischerbig (heterozygot)?
- Diskutiert alle Möglichkeiten durch und überprüft eure Hypothesen durch entsprechende Kreuzungsschemata in Tabellenform.
- Überlegt gemeinsam, wie sich das Verhältnis CURLY : WILD im Laufe mehrerer Fliegengenerationen entwickelt.

Arbeitsblatt Gendrift im Genpool

Die Mendel'schen Gesetze gelten nur dann, wenn sich die Gene frei mischen können und alle Gene die gleichen Chancen haben.

Das heißt:

- Alle Träger dieser Gene (Pflanzen oder Tiere) sind gleich „fit“.
- Jeder Träger kann sich mit jedem paaren
- Alle Träger haben die gleiche Anzahl Nachkommen.

In einer Drosophila-Kultur vom Typ CURLY ist das nicht so.

Homozygote (reinerbige) Träger des Gens „CY“ sind nicht lebensfähig, sie sterben schon im Larvenstadium ab. Wir sagen: Das Gen ist homozygot letal. Heterozygote Tiere sind durch aufgebogene Flügel eingeschränkt aber sonst voll lebensfähig.

„Gendrift im Genpool“

Das Spiel zeigt euch, welche Konsequenzen das für eine CURLY-Kultur hat, in der es immer auch Tiere vom WILD-Typ entstehen.

In dem Gefäß liegen 40 weiße und 40 schwarze gleich große Kugeln.
Daneben steht ein leerer Teller.

Nehmt, ohne in den Behälter zu schauen, zwei Kugeln hinaus und entscheidet:

○○ (=+/+)	pflanzt sich fort, beide Kugeln bleiben im Spiel (zurücklegen)
●○ oder ○● (=CY/+)	pflanzt sich fort, beide Kugeln bleiben im Spiel (zurücklegen)
●● (=CY/CY)	pflanzt sich nicht fort, beide Kugeln aus dem Spiel nehmen

Protokolliert nach jedem Griff die Farbkombination durch Abstreichen in der Tabelle.
Berechnet nach jeweils 5 Griffen die Zahl der im Behälter verbliebenen weißen und schwarzen Kugeln.

Beispiel:

Griffe	lebensfähig:		letal:
1	○○	●○	●●
2	○○	●○	●●
3	○○	●○	●●

Und so weiter



Griffe		lebensfähig		letal
1		○○ ●○		●●
2		○○ ●○		●●
3		○○ ●○		●●
4		○○ ●○		●●
5		○○ ●○		●●
6		○○ ●○		●●
7		○○ ●○		●●
8		○○ ●○		●●
9		○○ ●○		●●
10		○○ ●○		●●
11		○○ ●○		●●
12		○○ ●○		●●
13		○○ ●○		●●
14		○○ ●○		●●
15		○○ ●○		●●
16		○○ ●○		●●
17		○○ ●○		●●
18		○○ ●○		●●
19		○○ ●○		●●
20		○○ ●○		●●
21		○○ ●○		●●
22		○○ ●○		●●
23		○○ ●○		●●
24		○○ ●○		●●
25		○○ ●○		●●
26		○○ ●○		●●
27		○○ ●○		●●
28		○○ ●○		●●
29		○○ ●○		●●
30		○○ ●○		●●
SUMME				

