

## Kit sélection naturelle

Réf. SELECT

### A RECEPTION DU COLIS :

Vérifier la composition du colis

Stockage et maturation des élevages :

**Ne pas placer les tubes au réfrigérateur (les larves pourraient être tuées), suivre les conseils de maturation ci-dessous :**

Les tubes sont expédiés avec des larves au stade du passage pupe-adulte. La vitesse à laquelle va s'effectuer ce phénomène dépend principalement de la température à laquelle vont être stockés les tubes.

**A titre d'exemple :**

RECEPTION						
Œuf	larve 1° stade	larve 2° stade	larve 3° stade	pupe	imago	mort
à 26° :	1 jour	2 jours	3 jours	5 j	9-10 j	30 j
à 23° :				6-7 j	14 jours	
à 20° :				8-9 j	18 jours	

Ces chiffres sont indicatifs car il existe une variabilité au sein de chaque souche ainsi qu'entre différentes souches et génotypes.

De plus, nous avons laissé les pontes s'effectuer durant plusieurs jours avant d'ôter les parents. Les larves n'ont donc pas toutes le même âge.

D'une manière approximative, les mouches vont éclore dans une période de :

- ♦ 8 à 20 jours à dater de la réception, si elles sont mises à 20°
- ♦ 4 à 8 jours, si elles sont mises à 26°.

Afin d'avoir le maximum de drosophiles, il est conseillé de les garder 15 jours à 20° (ou 7 jours à 26°) après la date de réception.

Les drosophiles vivent environ 3 semaines après l'éclosion.

### COMPOSITION DU COLIS :

- 5 Tubes de drosophiles sauvages
- 5 Tubes de drosophiles vestigiales Ebony
- 25 boîtes de pétri
- 40 tubes avec 20 collerettes
- 20 bouchons en mousse
- Milieu de culture déshydraté pour 40 tubes (avec bouchons)

## **MATERIEL NECESSAIRE :**

- Aquarium
- Papier absorbant
- Ethériseur
- Flynap pour endormir les drosophiles

**Note :** L'éther est fortement déconseillé.

## **OBJECTIFS COGNITIFS :**

Une crise biologique est souvent liée à une modification des conditions du milieu (favorable à la sélection naturelle) et à la baisse des effectifs des populations (favorable à la dérive génétique).

## **PRINCIPE DE LA MANIPULATION :**

Deux souches de drosophiles (ailes longues et ailes vestigiales corps ébène) sont mises en culture dans un petit aquarium.

Note : Le phénotype corps ébène a été sélectionné pour faciliter l'identification des drosophiles dans l'aquarium. Pour mettre en évidence le phénomène de sélection naturelle, nous avons volontairement créé des conditions défavorables à l'une des deux souches à travers un sujet d'étude passionnant. Les élèves vont placer les drosophiles dans des conditions de vie qui vont mener à la disparition progressive de l'une des deux espèces :

Un tube de milieu de culture est placé au centre d'une boite de pétri remplie d'eau. Les drosophiles vestigiales, ne pouvant pas voler sont obligées de traverser ce premier obstacle pour atteindre le tube de milieu, la plupart vont se noyer. Les élèves pourront observer l'ingéniosité des drosophiles qui se regroupent pour flotter. Pour augmenter la difficulté, ce tube possède une collierette rendant très difficile d'accès le milieu aux drosophiles les plus "téméraires" ayant réussi à traverser. Seuls quelques individus réussiront à atteindre la nourriture.

Les drosophiles possédant des ailes longues (phénotype sauvage) vont pouvoir voler, et facilement atteindre la nourriture et y pondre leurs oeufs. On va ainsi observer la disparition (ou au moins la raréfaction) du phénotype vestigial après deux générations.

Cette expérience permet de simuler la disparition d'une espèce du fait d'un désavantage phénotypique suite aux changements des conditions du milieu de vie.

Parallèlement, des drosophiles seront mises en culture dans un milieu sans "obstacles" afin de comparer les proportions de chaque phénotype dans les deux conditions après deux générations.

## **OBSERVATION DES DROSOPHILES :**

Une fois endormies ou mortes (en fonction du temps passé au contact du Flynap) les mouches peuvent être répandues sur une surface blanche (carreau de faïence ou, à défaut, papier).

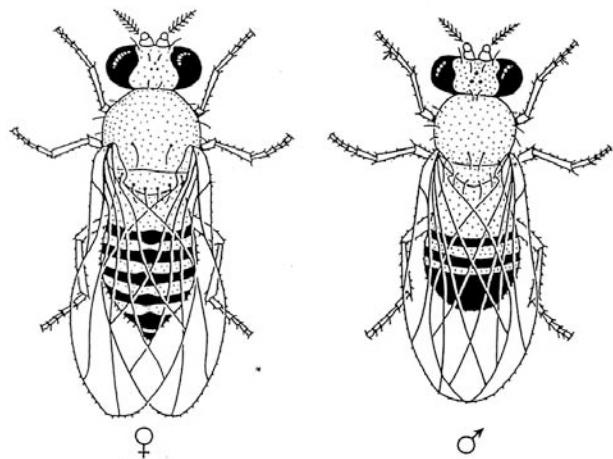
Manipuler les drosophiles délicatement avec un pinceau fin, plume ou pince pour les orienter afin de déterminer sexe et phénotype.

Les mouches endormies peuvent se réveiller. Il suffit de les replacer quelques dizaines de seconde dans l'étheriseur. Observez la totalité de la descendance et pas seulement les premières mouches écloses, car les femelles naissent les premières.

### **Les drosophiles sauvages :**

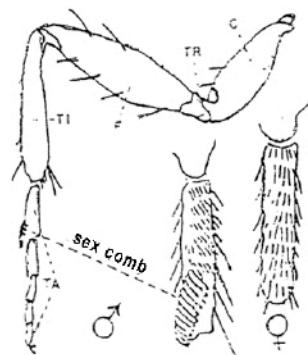
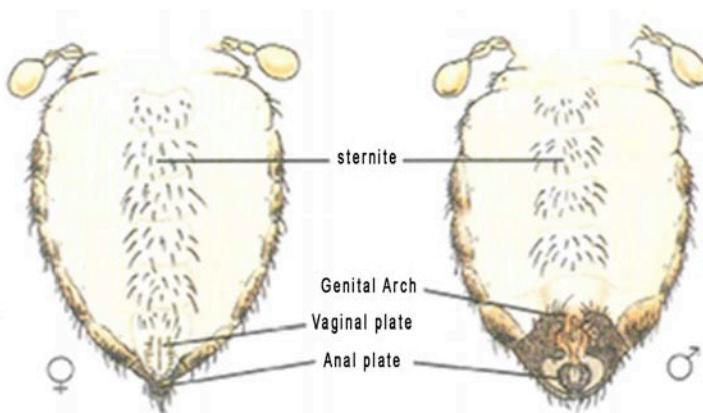
Apprendre à repérer les différents organes à l'aide du schéma ci-dessous que les élèves légendront (annexe 3), apprendre également à distinguer les mâles des femelles :

- organes sexuels : avec la forme de l'abdomen, c'est le détail qui permet de les distinguer le plus facilement. Placer la mouche sur le dos :
- La plaque génitale (à l'extrémité de l'abdomen) est très colorée (rouge brun à brun foncé) alors que la plaque vaginale ne l'est pas.
- différence de taille : les femelles sont légèrement plus grandes que les mâles.
- différence dans la forme et la couleur de l'abdomen. Vu dorsalement, l'abdomen de la femelle est de forme pointue, avec des segments terminaux gris assez clair. L'abdomen du mâle, plus arrondi, a des segments terminaux gris très foncé.
- présence de « peignes sexuels » chez le mâle seulement. Il s'agit d'une touffe de poils noirs, au niveau métatarsale - 1er article du tarse de la paire de pattes antérieures. Ce critère est particulièrement utile chaque fois que la différence de coloration ou de forme de l'abdomen entre mâles et femelles n'est pas clairement perceptible (individus à peine éclos, mutants de coloration du corps, mutants plus ou moins déformés.)



Mouches adultes  
(D'après T.H. Morgan)

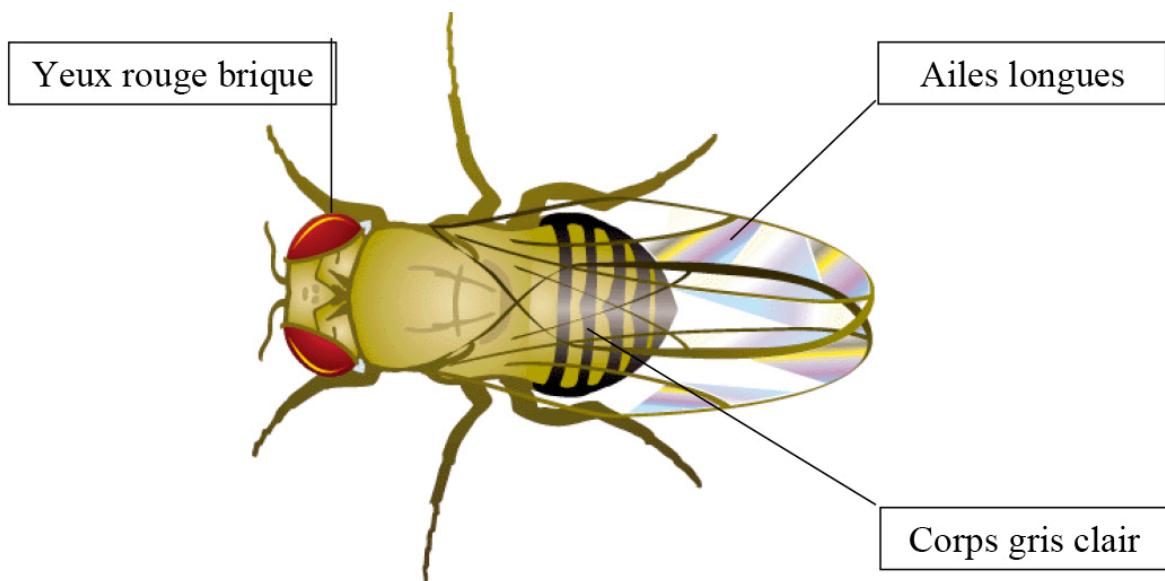
Abdomen (d'après Bridge)



sex comb = Peigne sexuel

## Drosophiles mutées :

Une mutation sera définie comme une modification par rapport au phénotype sauvage.

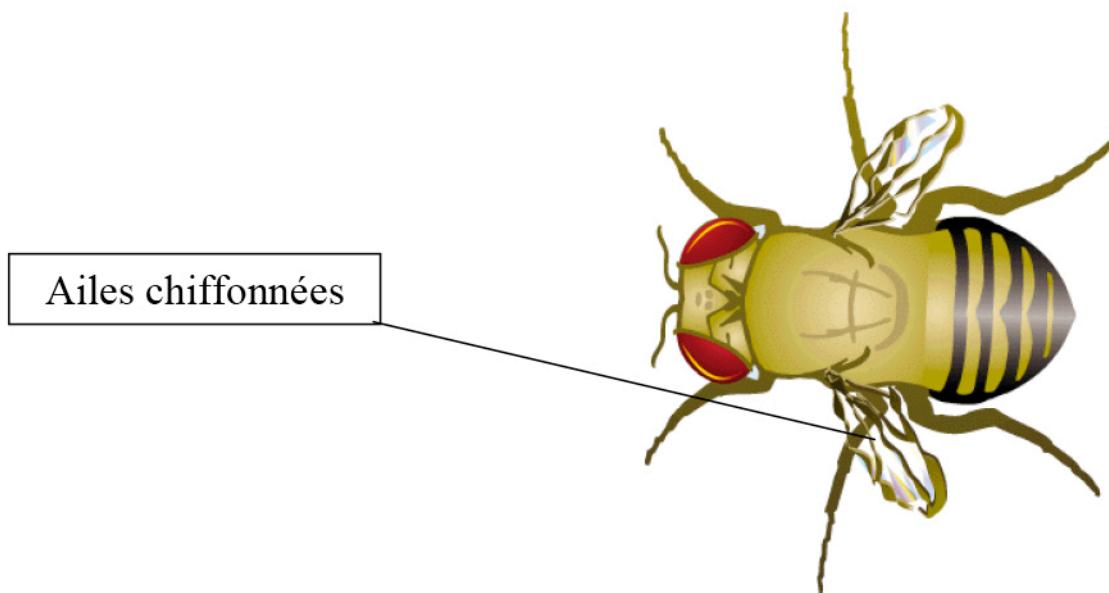


## La mutation Vestigiale :

La drosophile produit une substance qui rigidifie les nervures de ses ailes. Dans le cas de la mutation Vestigiale, les mouches présentent des ailes chiffonnées (dues à l'absence de production de cette substance rigidifiante) et sont incapables de voler.

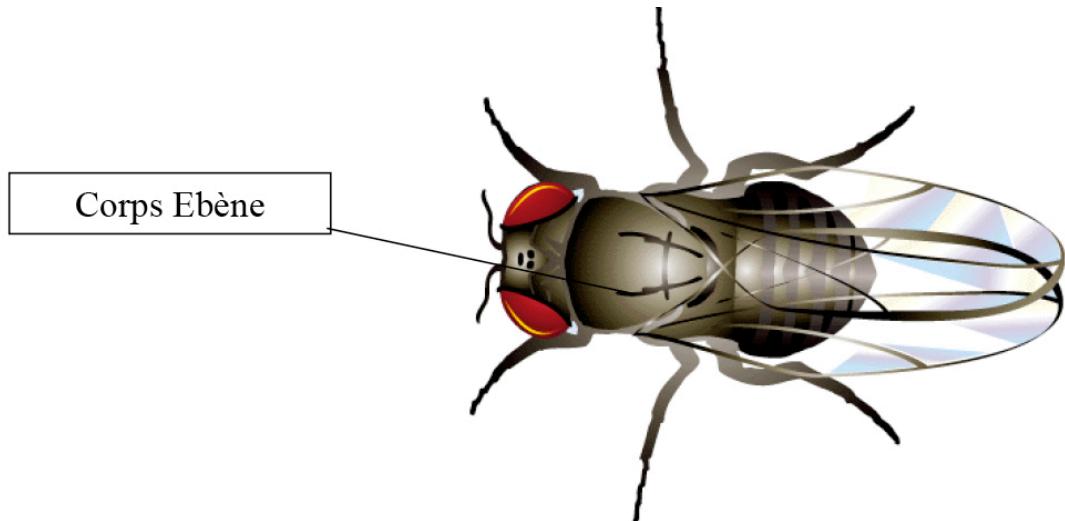
C'est une mutation ponctuelle également.

La mutation est localisée sur le chromosome II.



## La mutation Ebony :

La drosophile Ebony possède un corps de couleur presque noire due à l'accumulation d'un pigment normalement synthétisé par la drosophile sauvage.  
C'est une mutation ponctuelle également.  
La mutation est localisée sur le chromosome III.



## PRÉPARATION DU MILIEU DE CULTURE :

Pour la préparation du milieu, suivre les instructions fournies avec le milieu :  
Le milieu déshydraté est prêt en moins de deux minutes :  
1 dose de milieu + 1 dose d'eau + 1 pincée de levures.

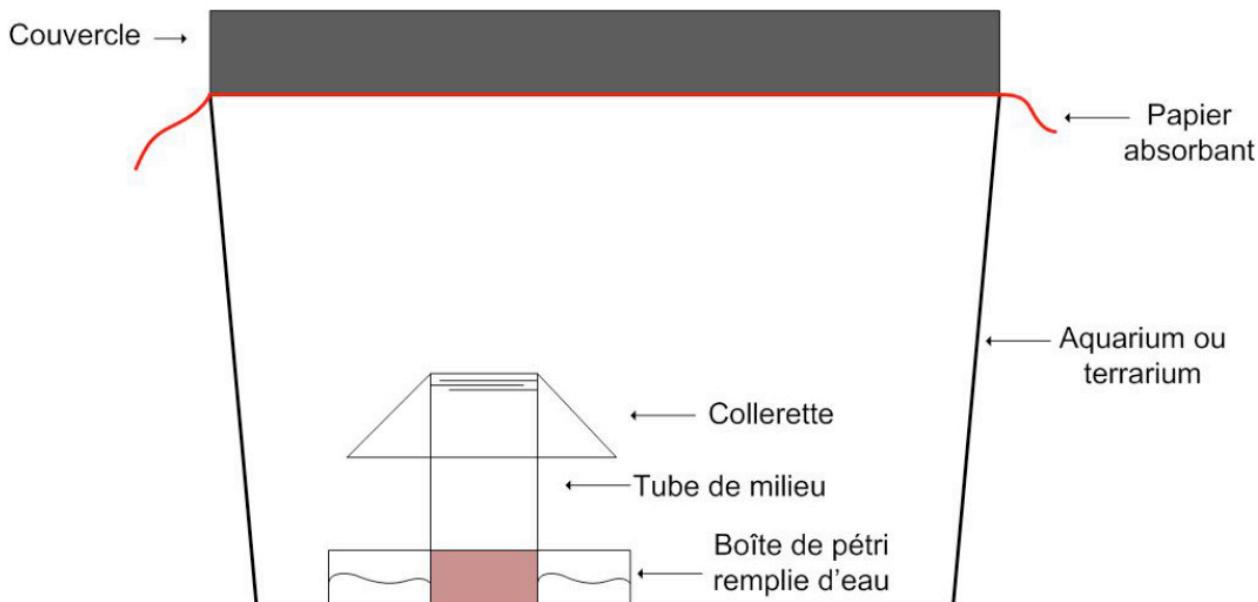
Préparer le milieu de culture la veille et conserver au réfrigérateur.  
Sortir les tubes du réfrigérateur 30 minutes à 1 heure avant la manipulation.

La manipulation se déroulant en deux séances, nous vous conseillons de préparer la quantité de milieu adapté pour chaque séance :  
1ère séance : 20 tubes de milieu  
2ème séance : 20 tubes de milieu

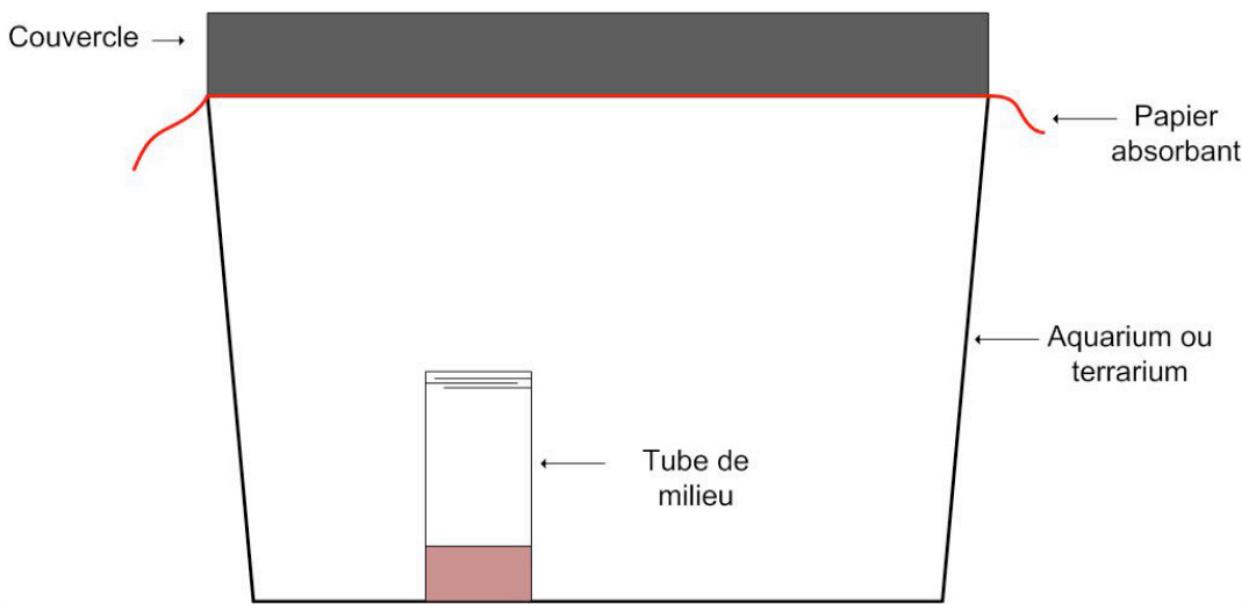
## MONTAGE :

Dans un aquarium de petit taille, disposer une boîte de pétri remplie d'eau.  
Installer une collerette sur un tube de milieu de culture. Déposer le tube de milieu de culture au milieu de la boîte de pétri.

Refermer l'aquarium en prenant soin de disposer une feuille de papier absorbant entre l'aquarium et le couvercle afin que l'air puisse passer mais pas les drosophiles.



Dans un autre aquarium, disposer un tube de milieu de culture sans collerette  
 Refermer l'aquarium en prenant soin de disposer une feuille de papier  
 absorbant entre l'aquarium et le couvercle afin que l'air puisse passer mais pas  
 les drosophiles.



Si vous souhaitez faire manipuler 20 groupes d'élèves, préparer 10 aquariums  
 selon le premier montage et 10 aquariums selon le second montage.

## MANIPULATION

**Attention :** Il est important de laisser les drosophiles dans leurs tubes pendant 10 à 15 jours entre la réception et la manipulation.

### **1) Première séance : Endormir les drosophiles et les mettre en culture**

Préparer deux étheriseurs (voir annexe 2).

Vider le contenu des cinq tubes de drosophiles Sauvages dans un étheriseur.

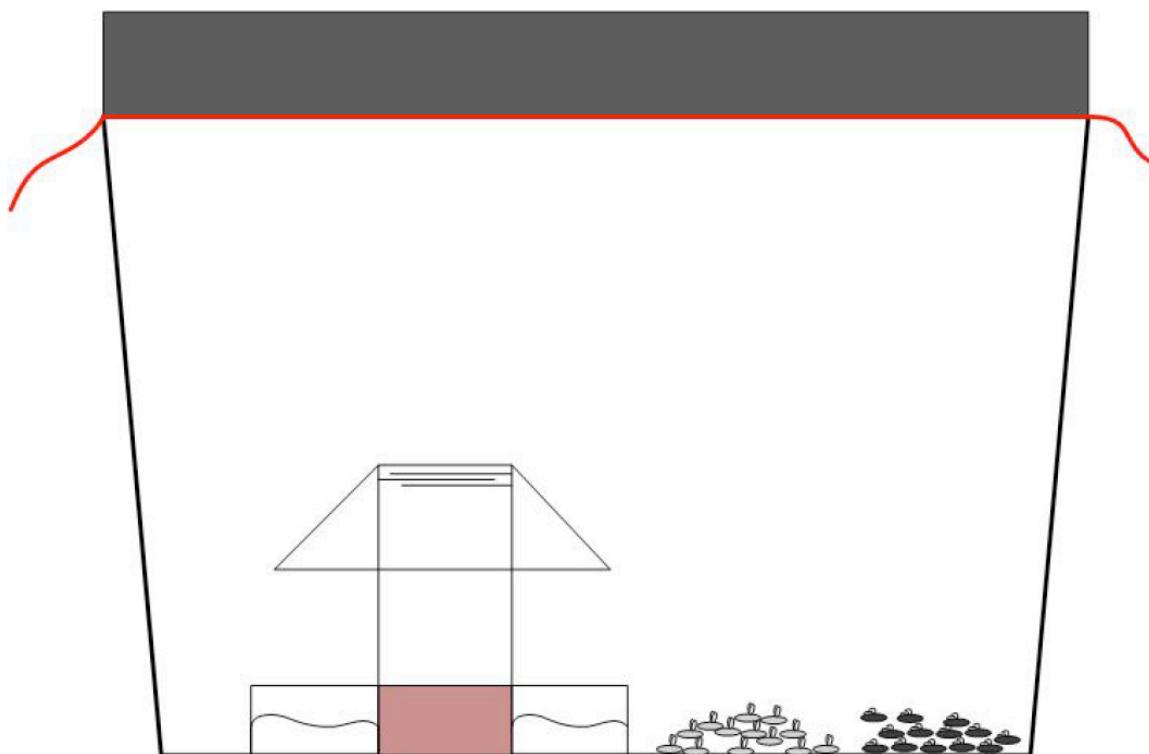
Pour éviter la fuite des drosophiles, tapoter le fond du tube sur la table pour faire tomber les mouches au fond du tube, enlever le bouchon et retourner rapidement le tube sur l'étheriseur.

Boucher ensuite l'étheriseur et laisser les drosophiles s'endormir.

Lorsque la totalité des drosophiles ont cessé de bouger, transvaser toutes les drosophiles dans une coupelle et diviser les drosophiles en 20 populations à peu près égales.

Faire de même avec les drosophiles vestigiales ebony.

Insérer dans les aquariums une population de drosophiles sauvages et une population de drosophiles vestigiales ebony.



### **2) Culture et observation**

Les drosophiles vont petit à petit se réveiller, placer les aquariums en culture à température ambiante (20°C minimum) ou à l'étuve entre 23 et 28°C.

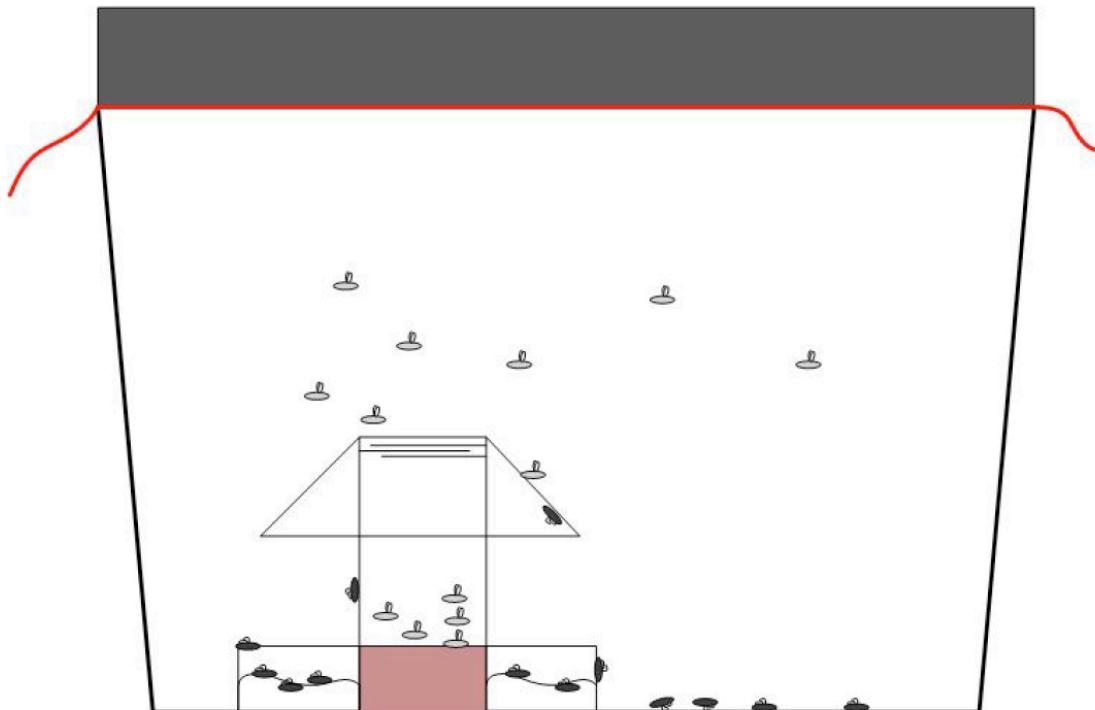
**Durée de culture :**

**8 jours à 23-28°C**

**10 à 15 jours à 20°C**

Une fois réveillées, les drosophiles sauvages vont s'envoler et aller se nourrir directement dans le tube. Elles y pondront leurs oeufs.

Les drosophiles vestigiales ebony ne pouvant pas voler vont tenter de traverser la boîte de pétri pour aller se nourrir et vont se noyer dans l'eau.



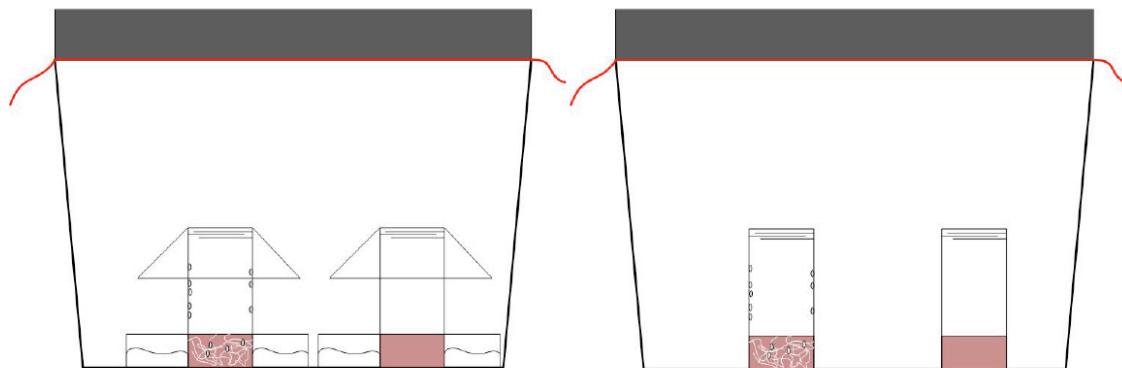
**3) Deuxième séance : Suppression des parents et apparition de la deuxième génération**

Lorsque le milieu de culture est bien grouillé dans les tubes et que des larves ont commencé à grimper le long des parois et à se transformer en pupe, supprimer les parents.

Pour ce faire, nous vous conseillons d'imbiber un coton de Flynap et de le déposer au fond de l'aquarium.

Une fois les drosophiles endormies, ouvrir l'aquarium et supprimer toutes les drosophiles.

Introduire un second tube de milieu de culture :



Et laisser les drosophiles naître

#### 4) Culture et observation

Les drosophiles qui vont naître vont aller se nourrir dans le second tube de milieu.

Placer les aquariums en culture à température ambiante (20°C minimum) ou à l'étuve entre 23 et 28°C.

#### Durée de culture :

**8 jours à 23-28°C**

**10 à 15 jours à 20°C**

Lorsque le second tube de milieu de culture est bien grouillé et que des larves ont commencé à grimper le long des parois et à se transformer en pupe, supprimer les parents.

Pour ce faire, nous vous conseillons d'imbiber un coton de Flynap et de le déposer au fond de l'aquarium.

Une fois les drosophiles endormies, ouvrir l'aquarium et supprimer toutes les drosophiles.

Prendre le tube de milieu grouillé et boucher avec un bouchon en mousse.

Mettre ce tube à l'étuve 23-28°C ou à température ambiante (Minimum 20°C) jusqu'à ce que la totalité des drosophiles naisse.

#### 5) Observation

Une fois les drosophiles nées, les élèves vont observer et compter les drosophiles de chaque phénotype.

Afin d'observer les mouches, il est nécessaire de les endormir (ou de les tuer) avec du FLYNAP dans un étheriseur.

L'étape difficile consiste à ouvrir le tube sans que les mouches s'envolent.

L'astuce utilisée pour tout transvasement est de taper le fond du tube sur un torchon plié afin de faire tomber les mouches sur la gélose.

Lorsque plus aucune mouche ne vole, ôter très vite le bouchon et le retourner sur un étheriseur.

Taper l'ensemble modérément (pour ne pas faire tomber la gélose) afin de faire passer les mouches au travers de l'entonnoir dans l'étheriseur.

Pour les endormir, verser du FLYNAP sur le coton de l'étheriseur et fermer l'ensemble avec le bouchon et le tourillon fourni.

Une fois que plus aucune mouche ne bouge, l'étheriseur peut être ouvert et l'observation peut commencer.

**⚠ ATTENTION ⚠**, les mouches non endormies sont très vives !

**Note :** Il est possible d'endormir les mouches directement dans le tube de culture, mais les mouches endormies risquent alors de se coller les ailes sur la gélose humide et ne pourront donc plus être prélevées. Il faut alors couper le tube durant l'action du FLYNAP.

Il est également possible d'utiliser un tube vide ou un erlen vide avec un entonnoir à la place de l'étheriseur.

L'utilisation d'éther est fortement déconseillée.

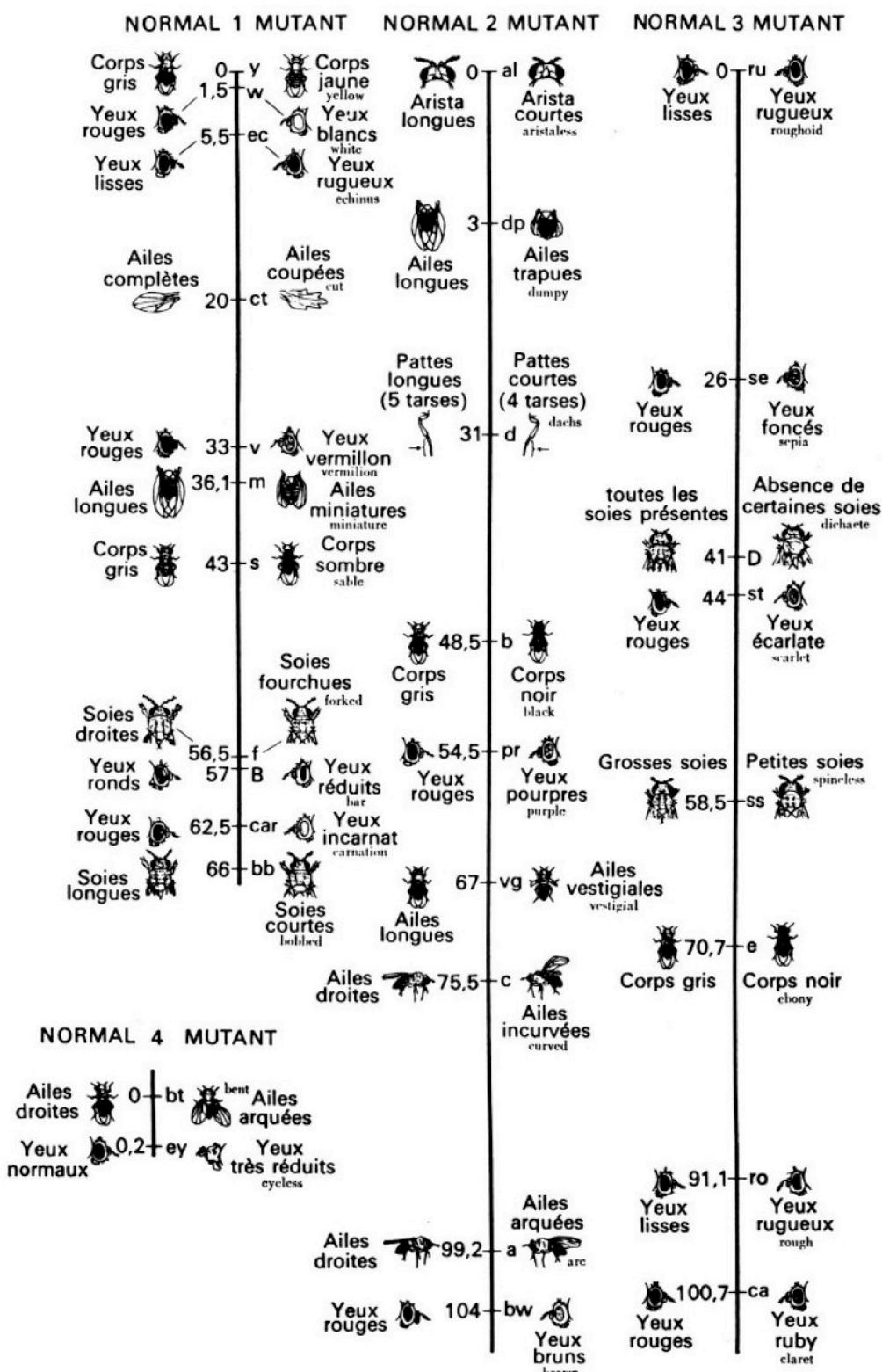
#### 6) Exemple de résultats

	Tubes avec collarette et boîte de pétri avec eau	Tubes sans collarette et sans boîte de pétri
Sauvage	100%	84%
Vestigiales	0%	16%

On constate que dans les tubes avec collarettes, à la deuxième génération, le phénotype vestigial Ebony a complètement disparu.

Les conditions de vie n'ont pas permis la survie de l' « espèce » vestigiale ebony et ont entraîné son extinction. L'« espèce » sauvage possède un avantage phénotypique qui lui a permis de survivre.

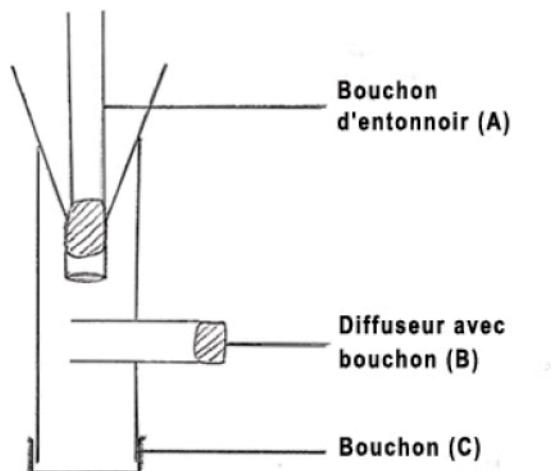
## ANNEXE 1 : CARTE GENETIQUE



*Une portion de la carte génétique de Drosophila melanogaster.*

## ANNEXE 2 : ETHERISEUR

### 1) Préparation de l'étheriseur :



Son étanchéité lui confère une utilisation possible pendant une dizaine d'heures.

Il est donc conseillé de préparer à l'avance les étheriseurs sous une hotte ou dans une pièce bien ventilée.

Poser le bouchon (A) (côté plastique) dans l'entonnoir, en tournant  $\frac{1}{2}$  tour dans le sens des aiguilles d'une montre. Un trait d'étanchéité continu est formé entre l'entonnoir et son bouchon.

Oter le bouchon du tube diffuseur (B).

Prélever entre 0,25 et 0,5ml de flynap à l'aide d'un compte-goutte (1 ou 2 graduations) et les mettre dans le tube diffuseur. Reboucher aussitôt.

L'étheriseur est prêt à être utilisé.

Le compte-goutte peut être remplacé par une seringue de 5 ou 10ml.

**Ne pas utiliser de pipette.**

### 3) Utilisation :

Oter le bouchon (A) de l'étheriseur au dernier moment puis aussitôt taper latéralement avec une main sur le tube de mouches à endormir pour les faire descendre au fond du tube.

Oter le bouchon des mouches et retourner le tube sur l'entonnoir de l'étheriseur.

Taper verticalement l'ensemble étheriseur-tube retourné sur un torchon ou un cahier pour assourdir les chocs.

Lorsque toutes les mouches sont tombées, reboucher l'étheriseur avec le bouchon (A) et continuer à taper doucement l'étheriseur, 2-3 fois afin de faire tomber les mouches.

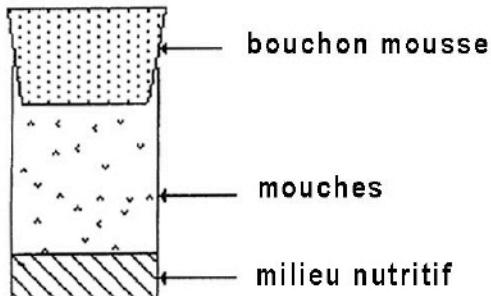
Observer le moment où plus aucune mouche ne se déplace. Attendre 30 à 50 secondes après ce moment puis en maintenant l'étheriseur vertical (entonnoir en haut) dévisser le bouchon (C) contenant toutes les mouches endormies.

Poser aussitôt l'étheriseur sur la paillasse afin que le flynap ne diffuse pas dans la pièce.

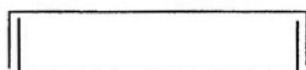
Transvaser les mouches endormies sur un carré de faïence ou une autre surface d'observation.

Reboucher aussitôt l'étheriseur.

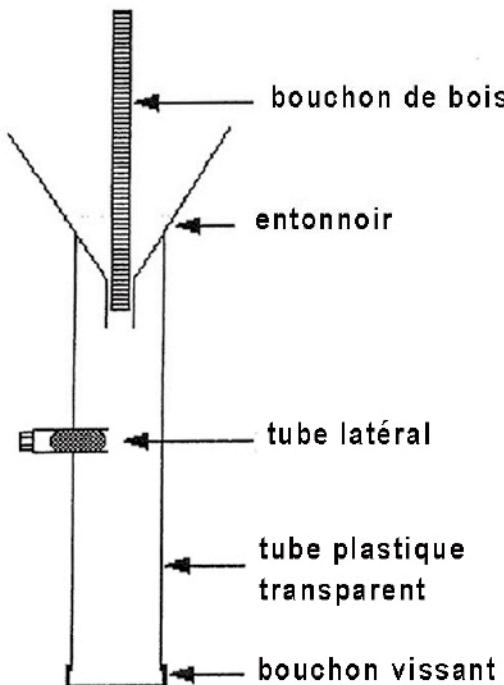
Réalisées vite et correctement, ces opérations permettent une utilisation de l'étheriseur pendant plusieurs heures avec une perte très limitée de flynap.



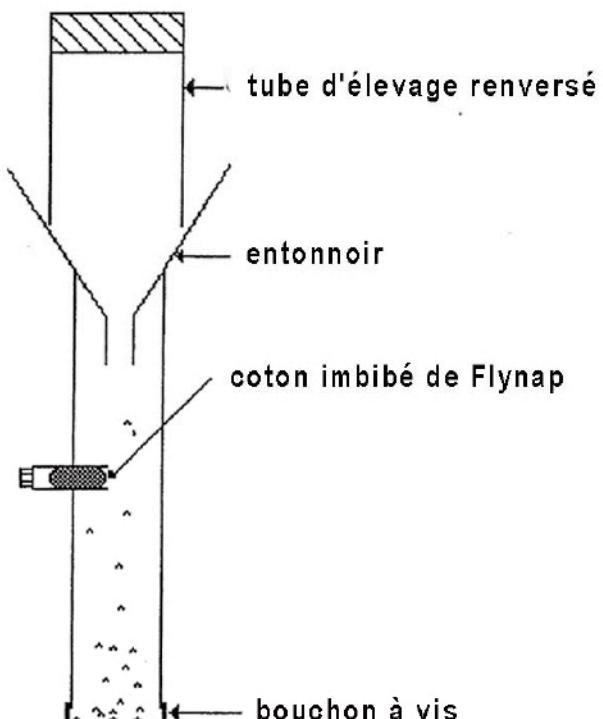
LE TUBE D'ÉLEVAGE



LA BOÎTE D'OBSERVATION



L'ÉTHÉRISEUR



L'ENDORMISSEMENT  
DES DROSOPHILES

**ANNEXE 3 : SCHEMA A LEGENDER**

