

Relatório I

Janeiro 2008

Observação de indivíduos de
Drosophila melanogaster

Escola Secundária Garcia de Orta – Área de Projecto 07/08

Por **Gisela Brandão Pereira** (10), **Mafalda Marques Cirne Machado Carvalho** (22), **Maria Beatriz Brito Oliveira** (25) e **Pedro Manuel Correia Rodrigues** (28), do 12º ano, turma B

Professora responsável: Dr.ª Rosa Soares



Relatório I, realizado no âmbito da disciplina de Área de Projecto de 12º ano, leccionada na Escola Secundária Garcia de Orta – Porto, com vista à documentação da actividade de Observação de indivíduos de *Drosophila melanogaster*, no projecto ***Drosophila melanogaster* no estudo da Genética**, integrado no Projecto MoKiDros – Ciência Viva, no ano lectivo 2007/2008.

O presente documento é da autoria do grupo de trabalho responsável, nomeadamente Gisela Brandão Pereira (10), Mafalda Marques Cirne Machado Carvalho (22), Maria Beatriz Brito Oliveira (25) e Pedro Manuel Correia Rodrigues (28) alunos da turma B do 12º ano da escola em cima considerada, inscritos na disciplina de Área de Projecto - a ser leccionada pela Professora Rosa Soares -, tendo sido formulado em Janeiro de 2008.

O grupo refere, desde já, que o presente relatório funcionará como um registo de resultados e primeira reflexão acerca dos mesmos, e não como um relatório complexo de índole científica.

Sumário

1. Objectivos.....	3
2. Introdução teórica	3
3. Protocolo experimental	6
3.1. Material	6
3.2. Procedimento	7
4. Registo dos resultados	8
5. Discussão dos resultados	12
6. Conclusão	14
7. Bibliografia e sitografia	15

1. Objectivos

- Observar exemplares de organismos de *Drosophila melanogaster*;
- Distinguir machos de fêmeas;
- Distinguir fêmeas virgens;
- Caracterizar alguns mutantes;
- Distinguir as fases do ciclo de vida de *Drosophila melanogaster*;
- Familiarização com os métodos de manipulação de *Drosophila melanogaster*.

2. Introdução teórica

“A *Drosophila melanogaster* – conhecida por mosca da fruta – constitui um organismo modelo em estudos de Genética, tendo permitido obter dados importantes sobre a estrutura e funcionamento dos genes, evolução e desenvolvimento embrionário.”

Universidade do Porto – Faculdade de Ciências

Foi **Thomas Morgan**, um importante embriologista da Universidade de Colúmbia (NY – EUA), quem realizou, a partir de 1910, aprofundados trabalhos e estudos genéticos com *Drosophila melanogaster*. Em 1933, acabou por receber o Prémio Nobel.

Na verdade, a mosca-da-fruta (ou, mais correctamente, mosca-do-vinagre) é um excelente material biológico para trabalhos experimentais de Genética devido às seguintes características:

- reduzidas dimensões (3 a 4 mm);
- fácil conservação, alimentação e manuseamento;
- ciclo de vida curto;

- descendência em número elevado;
- fácil distinção dos sexos;
- grande variedade de caracteres de fácil distinção;
- cariótipo com apenas 4 pares de cromossomas.



Imagem 1. Forma selvagem

Quanto à sua morfologia, *Drosophila* apresenta o corpo dividido em **cabeça, tórax e abdómen**. Na cabeça, distinguem-se as antenas, os olhos e as peças bucais; no tórax, que é constituído por 3 segmentos, apresenta 3 pares de patas; no abdómen, possui uma nítida segmentação e é este que constitui o centro de nutrição.

A classificação da espécie considerada actualmente mais correcta é a seguinte:

Tipo: ARTHROPODA
Classe: INSECTA
Ordem: DIPTERA
Família: DROSOPHILIDAE
Género: *Drosophila*
Espécie: *Drosophila melanogaster*

À semelhança do que se verifica na maioria dos seres vivos, o **ciclo de vida** da *Drosophila melanogaster* depende das condições ambientais. O tempo médio de vida das fêmeas é de 26 dias e de 33 para o macho, sendo que os mutantes podem apresentar um tempo de vida mais curto.

O seu ciclo de vida apresenta 4 fases: **ovo, larvas, pupas e a fase adulta**.

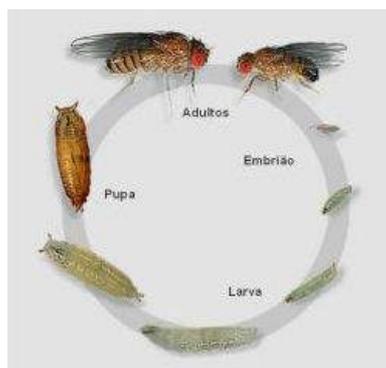


Imagem 2. Ciclo de vida de *Drosophila melanogaster*

São várias as diferenças morfológicas existentes entre o **macho** e a **fêmea** - **dimorfismo sexual**. Contudo, e tendo em conta o objectivo deste trabalho, essa abordagem será feita na Interpretação/Conclusão. Serão ainda tidos em conta os traços distintivos das **fêmeas virgens**.

A *Drosophila* apenas apresenta **quatro pares de cromossomas**, dos quais três são autossomas e um corresponde ao par de cromossomas sexuais. As fêmeas são homogaméticas e os machos heterogaméticos.



Imagem 3. Cariótipo feminino à esquerda e cariótipo masculino à direita

A forma de *Drosophila melanogaster* predominante denomina-se forma selvagem – **wild tipe (wt)** – e apresenta olhos vermelhos, corpo cinzento e asas longas.

Contudo, são vários os **mutantes** já descritos, apresentando características morfológicas distintas evidentes. As mutações podem ocorrer espontaneamente ou serem induzidas a nível laboratorial (raios X, raios gama e agentes químicos mutagénicos).

São várias as características que podem variar nos mutantes, desde as asas ao corpo, passando pelos olhos. A Tabela 1 faz referência a três exemplos de indivíduos mutantes que serão considerados na actividade experimental.

Mutante	Cromossoma mutado	Designação
Cinabar	2	<i>cn</i>
White	X	<i>w</i>
Vestigial	2	<i>vg</i>

Tabela 1. Mutantes utilizados na actividade decorrida

Em suma, toda a aparente simplicidade que revela a *Drosophila melanogaster* permite que esta constitua um importante modelo para o estudo da transmissão de características hereditárias. Para que esse estudo seja possível, é necessário proceder à observação e familiarização com o insecto. Assim, a actividade experimental considerada terá uma importância muito relevante em trabalhos futuros. **Mais informações teóricas podem ser obtidas mediante consulta dos vários documentos presentes no Dossier de Projecto.**

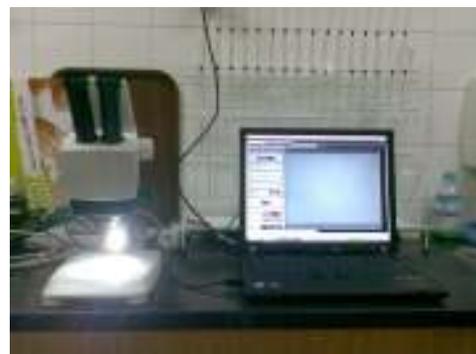
3. Protocolo experimental

3.1. Material

- População de *Drosophila melanogaster* (machos e fêmeas), do tipo Cinabar, Yellow e Vestigial (ver **Tabela 1**);
- Tubos de cultura
- Estufa
- Pincéis
- Pinças
- Frasco de vidro alto
- Falcon ou tubo plástico
- Funil
- Algodão
- Éter
- Papel branco
- Placa de Petri
- Lupa com ligação ao computador
- Máquina digital



Imagem 4. Alguns materiais referidos pelo protocolo e utilizados



Imagens 5 e 6. Tubos de cultura e lupa com ligação ao computador

3.2. Procedimento

→ Montagem da câmara de adormecimento



- Perfurar o tubo de plástico com uma agulha previamente aquecida;
- Colocar o algodão no interior do frasco de vidro;
- Embeber um pouco de éter no algodão;
- Colocar o tubo de plástico dentro do frasco de vidro, mas este não deve contactar directamente no algodão;
- Colocar um funil por cima do tubo de plástico.

Imagem 7.
Adormecimento

→ Observação de exemplares de *Drosophila melanogaster*

- Adormecer alguns exemplares, colocando-os no interior do tubo de plástico;
- Quando as moscas estiverem imóveis, observar à lupa sob um fundo branco (para tal, utilizar, por exemplo, um pouco de folha de papel branca);
- Distinguir o corpo dividido em cabeça, tórax e abdómen;
- Observar os segmentos do corpo, número de patas, parte genital, as asas, pêlos, olhos, pente sexual no caso dos machos;



Imagens 8, 9 e 10. Observação de *Drosophila melanogaster*

→ Seleção de fêmeas virgens

- Separam-se as fêmeas dos machos, adormecidos na placa de Petri, com a ajuda de um pincel ou uma pinça, observando este procedimento pela lupa electrónica.

- Das fêmeas, selecciona-se as que apresentam um corpo mais claro e uma mancha escura na parte posterior do abdómen (na maior parte dos casos), ou seja, as virgens. Deve-se realizar esta recolha 10 horas após a eclosão das moscas, período durante o qual não há acasalamentos.

- Colocam-se em cada tubo cerca de quatro fêmeas virgens e dois machos (os machos não precisam de ser virgens).

É por vezes necessário repetir o procedimento de adormecimento das moscas, visto que elas devem estar adormecidas durante todo o procedimento.

- Identificam-se os tubos com o número de moscas de cada sexo, o tipo de mutante e a data.

- Guardaram-se os tubos na estufa entre 21°C e 25°C.

4. Registo dos Resultados

Foram observadas 3 populações de mutantes de *Drosophila melanogaster* distintas, já referidas inicialmente. Recolheram-se os seguintes **dados** relativos aos 3 ensaios:

Número do ensaio	Mutante	Presença de larvas	Presença de pupas	Fêmeas - ♀		Machos - ♂
				Virgens	Total	
1	Cinabar	Não	Não	1	5	10
2	White	Não	Não	2	4	16
3	Vestigial	Não	Não	0	4	9

Tabela 2. Registo da contagem de fêmeas e machos nos 3 ensaios realizados, bem como da presença de larvas e pupas nos mutantes considerados



Imagem 11. Larva 2ª estágio (fotografia anterior à actividade)



Imagem 12. Pupa (fotografia anterior à actividade)



Imagem 13. Cinnabar



Imagem 14. White



Imagem 15. Wild type

Características morfológicas gerais (Ver Tabela 5 para esquema/observação)

Corpo dividido em cabeça, tórax e abdômen;
 Tórax dividido em três segmentos;
 Três pares de patas, um em cada segmento do tórax;
 Par de asas (total de 2) no 2º segmento do tórax;
 Asas finas e membranosas;
 Halteres no 3º segmento;
 Pêlos espalhados pelo corpo;
 Olhos compostos multifacetados.

Tabela 3. Registo das principais características morfológicas observadas

Na **distinção dos sexos** (entre os machos e as fêmeas), salientaram-se as seguintes características:

Principais características distintivas (Ver Tabela 5 para esquema/observação)

Machos - ♂	Fêmeas - ♀
Tamanho relativo do corpo menor;	Tamanho relativo do corpo maior;
Extremidade do abdômen negra;	Extremidade do abdômen típica de listas claras e escuras;
Extremidade do abdômen mais arredondada;	Parte ventral com placa vaginal.
Parte ventral com pênis e arco genital;	Extremidade do abdômen menos arredondada;
Presença de um pente sexual na base do metatarso do par de patas anterior. *	Inexistência de pente sexual.
Fêmeas virgens	
Corpo mais claro;	
Presença de uma mancha escura na parte posterior do abdômen, numa posição lateral;	
Asas pouco distendidas.	

Tabela 4. Principais características distintivas observadas (* - primeiro par de patas junto à cabeça)



Imagem 15. Fêmea virgem (MoKiDros 06/07)

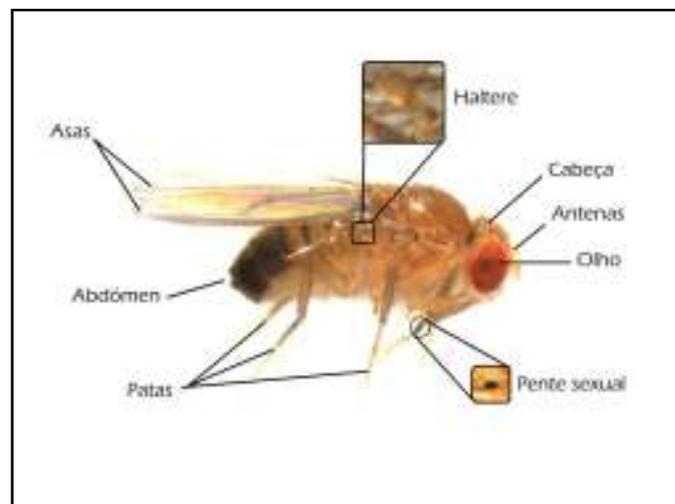


Imagem 16. Morfologia (MoKiDros 06/07)

No que diz respeito às suas **características morfológicas mutagênicas**, verificou-se o seguinte:

Número do ensaio	Mutante	Característica mutante	Aspectos morfológicos		
			Olhos	Corpo	Asas
1	Cinabar	Olhos	<u>Vermelho vivo</u>	Cinzento	Longas
2	White	Corpo	<u>Branco</u>	Cinzento	Longas
3	Vestigial	Asas	Vermelho	Cinzento	<u>Vestigiais</u>

Tabela 5. Registo da característica mutante e dos aspectos morfológicos das três populações estudadas

NOTA: A referência à característica **olhos** remete para a sua cor, assim como quando se fala no **corpo**. No que diz respeito às **asas**, considera-se o seu desenvolvimento (tamanho).

Surtem ainda outros registos relevantes:

Tempo médio de adormecimento dos exemplares: 2 minutos.

Dois exemplares acordaram e foram novamente anestesiados; um dos exemplares morreu.

Em nenhum dos três tubos observados pelo grupo de trabalho se verificaram quaisquer tipos de mutantes diferentes dos indicados na sua referência.

Tabela 6. Registo da característica mutante e dos aspectos morfológicos das três populações estudadas

5. Interpretação dos resultados

Analisando de uma forma global os dados obtidos, é possível concluir que os resultados vão de encontro aos objectivos inicialmente definidos.

Na verdade, foi possível observar três populações distintas de *Drosophila melanogaster*, bem como um stock da forma selvagem, que serviu de base para o estudo do dimorfismo sexual que se verifica na espécie.

Não foram observadas, em nenhum dos tubos utilizados, pupas ou larvas. De certa forma, este facto é um pouco contraditório, uma vez que o número de fêmeas virgens registado é baixo. Contudo, a situação pode ser justificada pelo longo tempo que terá passado desde a instalação das populações nos tubos, o que já pode ter permitido a eclosão de possíveis descendentes.

Ao mesmo tempo, não se verificaram também mutantes distintos dos que, à partida, estariam no interior do tubo. Isto pode ser justificado, por exemplo, pela não ocorrência de cruzamentos ou apenas pela transmissão da informação para a característica identificada no tubo e não para outra contrastante (segregação factorial).

Um outro facto interessante que é a existência de mais do que um macho para cada fêmea. Na verdade, é esta situação que permite a cópula, uma vez que permite fenómenos de interacção e luta entre os exemplares. Ainda neste contexto, verifica-se que o tubo com maior número de fêmeas virgens é também aquele que tem maior número de machos, o que é, eventualmente, contraditório. De qualquer das formas, tendo em conta a complexidade dos mecanismos de acasalamento associados à *Drosophila melanogaster*, o valor é aceitável.

As características morfológicas gerais da espécie são bem visíveis à lupa. Na realidade, os registos efectuados vão de encontro às indicações bibliográficas consultadas. Por trás de toda a arquitectura anatómica da mosca-da-fruta encontram-se uma série de mecanismos génicos que controlam o seu desenvolvimento embrionário, que culminam nas características observadas.

A segmentação do seu corpo permite uma maior organização morfológica. É de citar o pormenor de existirem três segmentos torácicos e de todos eles possuírem um par de patas. As asas precedem os halteres, que permitem o seu equilíbrio, sendo estas finas e membranosas, com vista a facilitar o seu rápido voo.

O dimorfismo sexual verificado é curioso. Os traços distintivos entre o macho e a fêmea são muito claros, de onde se salientam o abdómen e o pente sexual. Os machos, de dimensões inferiores às fêmeas (estas necessitam de ter um abdómen por razões óbvias: transportarão a descendência no seu interior), apresentam uma coloração homogénea do abdómen, contrariamente às segundas. Ao mesmo tempo, manifestam ainda a existência de um pente sexual característico, essencial no momento da cópula. Todas estas características, associadas a fenómenos de quimiotaxia, permitem que o acasalamento seja eficaz e que ocorra a transmissão das características hereditárias aos descendentes da espécie. É de referir ainda o contraste verificado entre o pénis (♂) e a placa vaginal (♀).

Tendo em conta registos bibliográficos, rapidamente se compreende a existência de uma mancha negra no abdómen (parte posterior, numa posição lateral) das fêmeas virgens – mancha de mecónio. Na verdade, esta resulta de restos de alimento fornecidos pelo embrião. Algumas apresentaram as asas pouco distendidas, o que pode estar relacionado com o facto de ainda não terem interagido, na actividade da cópula, com o macho.

Apesar de não se ter observado todo o stock disponível, é evidente a diversidade de mutantes possíveis para a espécie em causa. É interessante verificar que, normalmente, apenas uma característica muito particular varia (apesar de poderem ser mais), o que remete para a complexa organização do material genético da *Drosophila*.

Este aspecto é importante. Na realidade, a observação da variação de três tipos de características (olhos, corpo e asas) permitiu fazer um contraste com a forma selvagem e concluir que as mutações actuam, a nível fenotípico, sobre aspectos distintos. Por exemplo, no tipo Cinabar, apenas a cor dos olhos varia relativamente ao Wild type, contrariamente a que se verifica, por exemplo, no mutante Vestigial, onde apenas as asas sofrem alterações.

Tendo agora em conta outros procedimentos registados, salienta-se, em primeiro lugar, a necessidade de bater com os tubos na banca de trabalho, com vista a proceder de fora mais eficaz à sua transferência. Esta atitude permite obter um maior número de moscas para observação à lupa.

Um outro aspecto importante é a forma de arquitectar a estratégia de adormecimento/anestesia. Quantidades excessivas de éter no algodão poderiam levar à morte imediata dos exemplares, pelo que as gotas aí colocadas foram cuidadosamente quantificadas. Nos três ensaios realizados, o tempo médio de adormecimento foi de 2 minutos. A duração escolhida foi determinada pelo primeiro adormecimento, que se mostrou eficaz no tempo dispendido. O facto de dois exemplares terem acordado levou à necessidade de os colocar de novo no tubo de adormecimento. Contudo, devido ao tempo excessivo que uma das moscas ficou em contacto com o éter, esta acabou por morrer. De citar que não surgiram quaisquer

problemas com o adormecimento dos mutantes *vestigial*, uma vez que praticamente não voam, apesar de se movimentarem na placa.

O facto de não se ter observado pupas ou larvas nos três tubos considerados e observados pelo grupo pode ser justificado pela temperatura na qual os exemplares se encontravam. Na verdade, uma temperatura de 25° C seria muito mais adequada ao desenvolvimento e copulação. Contudo, uma vez que se encontravam a 18°C, tais acontecimentos poderão não se ter verificado. O facto de não se verificarem invólucros (pertencentes às supostas pupas) vazios nos tubos pode erradicar a hipótese de que a descendência já terá nascido e terminado o seu desenvolvimento até à forma adulta.

Em suma, foram bastantes os registos adquiridos na actividade realizada, não se tendo verificado qualquer tipo de situação anómala grave. De referir que podem ter sido cometidos erros de contagem. Os objectivos foram cumpridos e o trabalho experimental realizado na normalidade, sem qualquer tipo de obstáculos ou acidentes, à excepção da morte de um dos exemplares, que não pode ser considerada significativa.

6. Conclusão

Tal como referido no ponto 5, o trabalho decorreu sem quaisquer tipo de problemas e os objectivos iniciais foram cumpridos. As características morfológicas de *Drosophila melanogaster* são bastante evidentes à lupa, o que permitiu obter os resultados pretendidos.

Na verdade, toda a actividade permitiu conhecer melhor a *Drosophila melanogaster*, que tem grande relevância nos estudos da Genética, assim como as suas técnicas de manipulação laboratorial, que não apresentaram quaisquer dificuldades. Além disso, tendo em conta a sua importância actual e futura, pensamos que esta abordagem laboratorial ao modelo animal é um grande contributo para a fomentação do conhecimento científico adquirido, normalmente, pelos manuais.

É magnífico verificar laboratorialmente dados que, à partida, não seriam mais do que fundamentos teóricos. A morfologia da mosca estudada está direccionada para a sua sobrevivência – associada ao voo – e para a cópula, elementos essenciais à permanência de qualquer espécie. Mais interessante ainda é compreender que todos estes mecanismos estão associados à informação genética que esta possui, que é posta em evidência com a observação de mutantes.

Após esta actividade de familiarização com a espécie, pensamos que será possível compreender melhor os conhecimentos teóricos relacionados com a transmissão das suas características hereditárias à descendência. A observação de indivíduos de *Drosophila* é, sem dúvida, o ponto de partida para algo maior. Sem dúvida que nos permitirá ter um melhor desempenho em actividades futuras, como os cruzamentos.

Em conclusão, a *Drosophila melanogaster* é um óptimo modelo animal para estudo genético laboratorial, tal como foi referido bibliograficamente no início do relatório.

7. Bibliografia e sitiografia

Livros

SILVA, Amparo Dias *et al.* – Terra, Universo de Vida – Biologia 12º ano – Porto Editora, Porto, 1ª edição, 2006

RIBEIRO, Elsa *et al.* – Biodesafios – Biologia 12º ano – Edições ASA, Porto, 1ª edição, 2005

Artigos e outros documentos

Actividade Experimental Zero: Observação (...) *melanogaster* (Protocolo), ESGO/Projecto MoKiDros, 2006

Como elaborar (...) científico, ESGO, 2007

Protocolo: utilização de (...) Genética: 1ª Parte, Ordem dos Biólogos, 2001

Sitiografia

<http://www.ordembilogos.pt/Publicacoes/Biologias/Droshort%20--%2001Jan01.pdf>

<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/D/Drosophila.htm>

<http://www.ceolas.org/fly/>

http://biblioteca.universia.net/html_bura/ficha/params/id/3894745.html

<http://sdb.bio.purdue.edu/flyaimain/11aahome.htm>

<http://bioweb.wku.edu/couses/Biol114/Vfly1.asp>

<http://br.geocities.com/supersabbath/insetos-drososofila.html>

http://pt.wikipedia.org/wiki/Drosophila_melanogaster

http://www.scb.org.br/fc/FC61_03.HTM

<http://www.cientic.com/>

<http://www.yale.edu/ynhti/curriculum/1996/5/96.05.01.x.html>

<http://drosophila.herpeloloy.com/>

CD-Rom/DVD-Rom

Diciopédia 2008, Porto Editora Multimédia, 2007