

# 冰盐浴低温处理对果蝇麻醉效应探索\*

张雪兰 王亚文 侯杰 周杰\*\*

(吉林大学生命科学学院 吉林长春 130023)

**摘要** 为提高生物学实验室的安全性和环境友好性,对0℃以下低温对果蝇麻醉效果及低温麻醉对果蝇繁殖能力的影响规律进行探索。利用冰盐混合物创造不同温度环境,观测果蝇的麻醉时间、麻醉率、苏醒时间、苏醒率、24 h生存率、繁殖能力、寿命及攀爬指数,探索低温麻醉对果蝇的影响。冰盐浴所提供的低温环境,可以在3 min内使果蝇麻醉,与乙醚麻醉相比,低温麻醉方法对果蝇的寿命、运动能力及繁殖能力未见明显影响。低温麻醉为以果蝇为研究对象的科研和教学提供了安全、可靠、成功率高的实验新技术和新方法。

**关键词** 果蝇 麻醉 低温

中国图书分类号:Q-33 文献标识码:B

在以果蝇为研究对象的科研和教学工作中,果蝇麻醉是一项非常重要的基本操作。目前大部分生物学实验室,用乙醚麻醉果蝇<sup>[1-3]</sup>。但是乙醚一方面对操作者有毒害作用;另一方面在果蝇体内有残留, Van Dijken 指出,乙醚在很长一段时间(450 h)都会显著抑制果蝇的活动<sup>[4]</sup>,因此研究人员不断探索新的果蝇麻醉方法<sup>[5]</sup>。

果蝇作为来源于温带的物种,具有极强的温度灵敏性,在较低温度下会出现寒意昏迷(chill coma)现象<sup>[6]</sup>,本研究拟针对果蝇低温条件下这一生理反应,进行果蝇麻醉技术的研究与探索。利用冰盐混合物制备零度及低于零度的环境温度,从麻醉对果蝇的运动、生存及繁殖能力的影响进行综合评估,探索低温环境对果蝇的麻醉效应。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料及麻醉试剂

**1.1.1 果蝇原种** 黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*) 在25℃下的生化培养箱中培养,使用玉米-琼脂培养基培养。在分组操作之前,未接受任何麻醉剂或麻醉方法刺激。

### 1.1.2 麻醉试剂

冰盐浴:按照文献所述比例配制不同温度冰盐<sup>[7]</sup>。

## 1.2 方法

**1.2.1 果蝇准备** 用乙醚麻醉果蝇<sup>[6]</sup>,分辨雌雄后,每组随机选取5只雄蝇和5只雌蝇放入同一

125 mL广口培养瓶中培养,25℃培养24 h后进行后续实验,以避免乙醚麻醉对果蝇行为产生的影响。

**1.2.2 低温麻醉** 使用125 mL广口瓶作为麻醉瓶。麻醉前,将麻醉瓶洗净灭菌,实验前将培养瓶中的果蝇转移到麻醉瓶中。轻敲瓶壁使全部果蝇落在麻醉瓶底部,迅速将麻醉瓶置于不同温度的冰盐浴中,并开始计时,冰盐混合物以低于瓶口3~4 cm为宜,记录果蝇低温麻醉相关时间参数。待果蝇全部麻醉后,将麻醉瓶移至25℃环境中,记录果蝇苏醒相关时间参数。果蝇全部苏醒后,将果蝇转移入含新鲜培养基的培养瓶中25℃培养。果蝇麻醉和苏醒标准,参照许乐乐等的方法<sup>[5]</sup>,所有实验数据均取3组以上实验结果的平均值,每个温度每组实验果蝇数为35只以上。

**1.2.3 果蝇攀爬指数** 果蝇经各种低温条件麻醉后,置于25℃培养24 h后进行运动能力研究<sup>[8]</sup>。果蝇管从下至上均分为5个评分区域,各区域相应评分指数为1、2、3、4、5。从全部果蝇个体震落至试管底部后第3 s时,计算各区域内果蝇个体数,重复20次震落并计数各区域果蝇个体数。每组果蝇随机取样35只,按如下公式计算果蝇攀爬指数,以评定运动能力。

$$M = \frac{\sum_{i=1}^5 xi \times yi}{N}$$

\* 基金项目:吉林大学大学生创新创业训练计划(2014B34084)

\*\* 通信作者

公式中:M是果蝇攀爬指数,N是参与实验果蝇数,i是评分区域,xi是各个评分区域内的果蝇数,yi是各个评分区域的评分指数,攀爬指数分布范围为1~5。

2 结果与讨论

2.1 不同温度处理对果蝇的影响 观察不同温度对果蝇麻醉时间、苏醒时间的影响,结果见表1。

表1 低温及乙醚对果蝇麻醉时间及苏醒时间的影响					
	乙醚	0℃	-4℃	-9℃	-21.5℃
麻醉时间(s)	94±2	600±0	47±36	92±61	84±54
麻醉率	100%	100%	100%	100%	100%
苏醒时间(s)	344±68	72±13	240±35	223±47	107±13
苏醒率	100%	100%	100%	100%	100%

表1显示,0℃与其他各个麻醉条件相比,需要更长的时间(10 min)才能实现果蝇的全部麻醉。果蝇在低温下麻醉呈现较大的个体差异,麻醉操作涉及的环境温差越大,果蝇呈现的个体差异越大。

与表1中各个麻醉条件相比,果蝇麻醉瓶在-30℃环境中麻醉1 min后,再移至25℃,部分果蝇无法苏醒(死亡率大于30%),所以后续研究中不再讨论-30℃的实验条件。

麻醉后的果蝇,脱离低温回到25℃后,在3~4 min,-4℃和-9℃麻醉的果蝇开始苏醒,而-21.5℃麻醉的果蝇在1 min左右苏醒,果蝇全部苏醒时间同样呈现较大的个体差异。

2.2 低温处理对果蝇寿命的影响 将不同条件麻醉并苏醒后的果蝇置于25℃恒温培养,观察果蝇24 h存活率、攀爬指数及寿命,结果见表2。

表2 不同麻醉条件处理对果蝇24 h存活率、运动能力及寿命的影响					
	乙醚	0℃	-4℃	-9℃	-21.5℃
24 h存活率	100%	100%	100%	100%	100%
攀爬指数	1.54	2.06	2.59	3.06	2.05
平均寿命(d)	48±6	54±2	58±1	40±15	45±2

表2显示,与乙醚麻醉相比,低温麻醉对果蝇24 h存活率、攀爬指数均未见明显不良影响。低温麻醉后果蝇的寿命为39~58 d,其中-9℃麻醉的果蝇寿命表现出明显个体差异。

2.3 不同温度处理对果蝇后代的影响 将不同低温条件处理后的果蝇,置25℃恒温培养,记录麻醉日为第1天,分别观察其幼虫、蛹、成虫的产生时间。

表3 不同麻醉条件处理对果蝇后代的影响					
	乙醚	0℃	-4℃	-9℃	-21.5℃
幼虫出现时间(d)	4±1	5±1	3±0	2±0	3±1
成蛹出现时间(d)	7±1	8±0	6±0	7±2	6±1
成虫出现时间(d)	12±1	13±1	11±1	13±1	11±0

从表3可以看出,与乙醚麻醉相比,低温麻醉对果蝇的繁殖能力和果蝇子代的发育能力没有显著影响。

综上,本文探讨了低温环境对果蝇的麻醉效应,结果表明,果蝇从25℃转移到各个低于0℃低温环境后3 min以内全部麻醉,除-30℃实验组外,麻醉后的果蝇回到25℃后8 min内全部苏醒,各个麻醉温度下24 h内的存活率为100%。

对麻醉后果蝇的运动能力进行观测,发现经过低温麻醉果蝇附壁爬行能力强于乙醚麻醉果蝇,这与乙醚在果蝇体内残留有关<sup>[4]</sup>。

3 结束语

本文所涉及的低温麻醉技术,具有生物安全和环境友好的特性,不需要做更多的技术培训和设备更新,多数生物学实验室可以直接进行利用,该技术的探索和研发为建立安全、绿色的生物学实验室提供了新的思路。

冰盐浴的温度传导不均匀性和缓慢性导致了本方法呈现出较大的数据离散性,下一步以温度传导均匀的液体作为冷媒,探索低温环境下的果蝇麻醉规律,深入研究不同低温环境对果蝇麻醉的分子层面的差异及变化。

主要参考文献

1 刘祖洞.遗传学实验.北京:高等教育出版社,1979.

2 滕利荣.生物学基础实验教程.第3版.北京:科学出版社,2008.

3 杨大翔.遗传学实验.北京:科学出版社,2004.

4 Van Dijken, Van Sambeek, W. Scharloo.. Infulence of anest-hesia by Carbon dioxide and ether on locomotor activity in Drosophila melanogaster.Life Science,1977,33(10):1360—1361.

5 王璐. 5种麻醉方法对果蝇麻醉效应的探究. 生物学通报, 2012,47(5):51—55.

6 Tucic N., Brunik M.. Genotype dependent ability of Drosophila melanogaster to cold hardiness at different developmental stages. Genetika, 1975,7:123—132.

7 尤启冬.药物化学实验与指导.北京:中国医药科技出版社,2000.

8 Gargano J. W., Martin I., Bhandari P., et al. Rapid iterative negative geotaxis(RING): a new method for assessing age-related locomotor decline in Drosophila.Experimental Gerontology.2005, 40(5):386—395.

(E-mail: jzhou@jlu.edu.cn)