

## WPLYW SKŁADU POŻYWKI NA WYBRANE CECHY MUSZKI OWOCOWEJ *Drosophila melanogaster*

Maria Bogdzińska

Akademia Techniczno-Rolnicza  
Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt  
ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz

Badania przeprowadzono na muszkach owocowych *Drosophila melanogaster*, należących do szczepu Normal i Ebony, utrzymywanych na pożywkach z dodatkiem konserwantów stosowanych w przemyśle spożywczym. Analizowano wpływ benzoenu sodu (E211), EDTA (E385) oraz kwasu cytrynowego (E330) na masę ciała i liczebność kolejnych pięciu pokoleń. Dodatek do pożywki benzoenu sodu wpłynął na obniżenie liczebności i masy muszek w pokoleniach od drugiego do piątego, hodowle były mniej liczne o najmniejszej masie. W warunkach tych otrzymano tylko dwa pokolenia muszek ze szczepu ebony. Dodatek do pożywki EDTA lub kwasu cytrynowego powoduje nieznaczne różnice w liczebności hodowli i ich masie w porównaniu hodowlami utrzymywanymi na pożywce standardowej.

Słowa kluczowe: *Drosophila melanogaster*, konserwanty, masa i liczebność kolejnych pokoleń

### 1. WSTĘP

Ogromna różnorodność i powszechna obecność w artykułach spożywczych substancji chemicznych stosowanych do konserwacji budzi zainteresowanie ze względu na możliwości ich niekorzystnego wpływu na zdrowie człowieka [2, 3]. Poza tym istotne wydaje się poznanie wpływu różnych konserwantów na zdrowie osobników w kolejnych pokoleniach.

Substancje dodawane do produktów spożywczych podlegają ocenie toksyczności w oparciu o badania wykonywane na mikroorganizmach oraz w hodowlach komórkowych ssaków. Jednakże bardzo często są one niewystarczające i powinny być uzupełnione badaniami na organizmach eukariotycznych. Ze względu na ograniczone możliwości doświadczeń prowadzonych na zwierzętach kręgowych – muszka owocowa jest szczególnie przydatnym organizmem do tego typu badań [1].

Celem pracy jest ocena wpływu dodatków w postaci konserwantów do pożywki na liczebność i masę ciała kolejnych pięciu pokoleń muszki owocowej *Drosophila melanogaster* należących do różnych szczepów (Normal, Ebony).

## 2. MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Badania prowadzono na muszkach owocowych *Drosophila melanogaster*, należących do dwóch szczepów – Normal i Ebony.

Muszki utrzymywano na czterech rodzajach pożywek:

- standard (12 g agaru, 40 g cukru, 60 g mąki kukurydzianej oraz 750 ml wody),
- standard z dodatkiem benzoesu sodu (E211) w ilości 0,1 g na 100 g pożywki,
- standard z dodatkiem kwasu cytrynowego (E330) w ilości 0,3 g na 100 g pożywki,
- standard z dodatkiem wersenianu wapniowo-sodowego, czyli EDTA (E385) w ilości 0,01 g na 100 g pożywki.

Ilości dodawanych konserwantów określono w oparciu o zalecane dawki dla produktów spożywczych. Stosowano 50 ml pożywki na każdą hodowlę, niezależnie od składu i zaszczepiano ją roztworem drożdży piekarniczych.

Do założenia początkowych hodowli użyto 3 samców i 5 niezapłodnionych samic uzyskanych z wyizolowanych poczwerek. Po upływie 7 dni od założenia hodowli wypuszczono rodziców. Po kolejnych 7 dniach z wyklutych owadów  $F_1$ , losowo z każdej hodowli wybrano rodziców pokolenia  $F_2$ , po 5 samic i 3 samce. Pozostałe owady uśpiono, policzono i zważono, natomiast pożywkę z nie wyklutymi poczwarkami i larwami pozostawiono na kolejne 7 dni. Po upływie kolejnego tygodnia uśpiono, liczono i ważono owady z hodowli pozostawionej. Tak postępowano w kolejnych tygodniach prowadzenia hodowli aż do uzyskania 5. pokolenia muszki owocowej. Dla każdego szczepu i rodzaju pożywki prowadzono jednocześnie dwie hodowle, które analizowano łącznie, określając liczebność i masę ciała uzyskanych muszek, a więc potomstwo 6 samców i 10 samic.

Wyniki opracowano statystycznie z wykorzystaniem analizy wariancji w układzie grupowym, uwzględniając pokolenie, rodzaj pożywki i szczep. Różnice między średnimi zweryfikowano nowym wielokrotnym testem rozstępu Duncana [4].

## 3. WYNIKI BADAŃ

W tabeli 1 przedstawiono wyniki hodowli (dane dotyczące masy ciała i liczebności) otrzymanych w kolejnych pokoleniach muszek owocowych.

Należy podkreślić stosunkowo duże wahania masy ciała muszek w kolejnych pokoleniach w obrębie szczepu, które wynikały ze stosowania do hodowli różnych rodzajów pożywek. Masa ciała muszek szczepu Ebony, utrzymywanych na pożywce z dodatkiem kwasu cytrynowego, systematycznie obniżała się do piątego pokolenia. Taką samą tendencję zaobserwowano w hodowli muszek szczepu Normal, na pożywce standard (tab. 1).

Analizując liczebność muszek Normal w kolejnych pokoleniach należy stwierdzić, że stosunkowo najmniej liczne pokolenie uzyskano wśród hodowli utrzymywanych na pożywce z dodatkiem benzoesu sodu (tab. 1). Obserwowano także tendencję zmniejszenia liczebności populacji muszek ze szczepu Normal w poszczególnych pokoleniach, co najwyraźniej widać w grupie utrzymywanej na pożywce standard (tab. 1).

Takich wyraźnych tendencji nie stwierdzono wśród kolejnych pokoleń muszek należących do szczepu Ebony. Na pożywce z dodatkiem benzoesu sodu otrzymano tylko dwa pokolenia muszek tego szczepu, w związku z tym ta pożywka okazała się najmniej korzystna w hodowli (tab. 1).

Tabela 1. Wyniki hodowli *Drosophila melanogaster*  
 Table 1. *Drosophila melanogaster* culture results

Rodzaj pożywki Medium type	Szczep Strain	Pokolenie – Generation									
		F1		F2		F3		F4		F5	
		Masa ciała Body weight (mg)	Ilość Number (szt.– no)	Masa ciała Body weight (mg)	Ilość Number (szt.– no)	Masa ciała Body weight (mg)	Ilość Number (szt.– no)	Masa ciała Body weight (mg)	Ilość Number (szt.– no)	Masa ciała Body weight (mg)	Ilość Number (szt.– no)
Standardowa Conventional	Normal	119,6	277	114,9	218	95,0	158	89,0	136	51,0	85
	Ebony	51,7	88	158,0	212	127,0	158	95,1	111	76,0	170
Z dodatkiem benzo- esanu sodu (E211) With sodium benzoate added (E211)	Normal	92,2	251	149,8	170	63,8	108	18,0	30	75,0	126
	Ebony	61,7	140	69,5	146	-	-	-	-	-	-
Z dodatkiem EDTA (E385) With EDTA added (E385)	Normal	171,2	366	90,5	195	58,0	112	129,3	230	57,0	95
	Ebony	102,2	217	79,0	169	23,8	53	88,8	145	69,0	116
Z dodatkiem kwasu cytrynowego (E330) With citric acid added (E330)	Normal	108,0	255	68,6	163	60,0	122	152,0	232	35,0	72
	Ebony	106,8	214	85,9	165	63,3	96	59,3	166	43,0	74

Z kolei dodatek EDTA do pożywki lub kwasu cytrynowego nie wpłynął na znaczne obniżenie liczebności muszek w kolejnych pokoleniach w porównaniu z liczebnością muszek utrzymywanych na pożywce standard. We wszystkich badanych grupach, z wyjątkiem muszek szczepu Normal utrzymanych na pożywce standard (tab. 1) stwierdzono najczęściej zmniejszenie liczebności do 3.-4. pokolenia, a w następnych pokoleniach wzrost.

Wyniki dotyczące średniej masy ciała muszek otrzymanych w hodowli przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Średnie masy ciała *Drosophila melanogaster* (mg)

Table 2. Average live weight of *Drosophila melanogaster* (mg)

Rodzaj pożywki Medium type	Szczep Strain	Pokolenie – Generation				
		F1	F2	F3	F4	F5
Standardowa Conventional	Normal	0,432	0,527	0,601	0,654	0,600
	Ebony	0,588	0,745	0,803	0,857	0,447
Z dodatkiem benzoianu sodu (E211) With sodium benzoate added (E211)	Normal	0,367	0,881	0,591	0,600	0,595
	Ebony	0,441	0,476	-	-	-
Z dodatkiem EDTA (E385) With EDTA added (E385)	Normal	0,468	0,464	0,518	0,562	0,600
	Ebony	0,471	0,468	0,449	0,612	0,595
Z dodatkiem kwasu cytrynowego (E330) With citric acid added (E330)	Normal	0,424	0,421	0,492	0,665	0,486
	Ebony	0,499	0,521	0,659	0,357	0,581

Średnia masa ciała muszek obu szczepów utrzymywanych na pożywce standard wzrastała stopniowo od pierwszego do czwartego pokolenia. W piątym pokoleniu zaobserwowano znaczne obniżenie średniej masy ciała u muszek ze szczepu Ebony (tab. 2). Dodatek benzoianu sodu do pożywki wpłynął na znaczne zróżnicowanie średniej masy ciała muszek szczepu Normal w kolejnych pokoleniach, natomiast dodanie do pożywki EDTA spowodowało znaczne obniżenie średniej masy ciała muszek szczepu Ebony w trzecim pokoleniu. Z kolei dodatek kwasu cytrynowego spowodował obniżenie średniej masy ciała muszek Ebony w czwartym pokoleniu. Była to jednocześnie najniższa średnia masa ciała muszek odnotowana w całym doświadczeniu (tab. 2).

Wyniki dotyczące wpływu składu pożywki na masę i liczebność muszki owocowej w kolejnych pokoleniach bez uwzględnienia szczepu przedstawiono w tabeli 3.

W pierwszym pokoleniu najliczniejsze i o największej masie potomstwo otrzymano w hodowli na pożywce z dodatkiem EDTA. Również w tej hodowli stwierdzono największą średnią masę jednej muszki – 0,469 mg (tab. 3). Natomiast najmniejszą średnią masę muszki w pierwszym pokoleniu odnotowano w hodowli utrzymywanej na pożywce z dodatkiem benzoianu sodu.

Tabela 3. Masa i liczebność *Drosophila melanogaster* w zależności od pokolenia i rodzaju pożywkiTable 3. Weight and number of *Drosophila melanogaster* depending on the generation and medium type

Pokolenie Generation	Rodzaj pożywki Medium type	Liczebność Number (no – szt.)	Średnia masa ciała muszki Average live weight (mg)
F <sub>1</sub>	standardowa conventional	365	0,469
	z dodatkiem benzoianu sodu (E211) with sodium benzoate added (E211)	391	0,394
	z dodatkiem EDTA (E385) with EDTA added (E385)	583	0,469
	z dodatkiem kwasu cytrynowego (E330) with citric acid added (E330)	469	0,458
F <sub>2</sub>	standardowa conventional	430	0,635
	z dodatkiem benzoianu sodu (E211) with sodium benzoate added (E211)	316	0,694
	z dodatkiem EDTA (E385) with EDTA added (E385)	364	0,466
	z dodatkiem kwasu cytrynowego (E330) with citric acid added (E330)	328	0,471
F <sub>3</sub>	standardowa conventional	316	0,703
	z dodatkiem benzoianu sodu (E211) with sodium benzoate added (E211)	108	0,591
	z dodatkiem EDTA (E385) with EDTA added (E385)	165	0,496
	z dodatkiem kwasu cytrynowego (E330) with citric acid added (E330)	218	0,566
F <sub>4</sub>	standardowa conventional	247	0,745
	z dodatkiem benzoianu sodu (E211) with sodium benzoate added (E211)	30	0,600
	z dodatkiem EDTA (E385) with EDTA added (E385)	375	0,582
	z dodatkiem kwasu cytrynowego (E330) with citric acid added (E330)	398	0,531
F <sub>5</sub>	standardowa conventional	255	0,498
	z dodatkiem benzoianu sodu (E211) with sodium benzoate added (E211)	126	0,595
	z dodatkiem EDTA (E385) with EDTA added (E385)	211	0,597
	z dodatkiem kwasu cytrynowego (E330) with citric acid added (E330)	146	0,534

W kolejnych pokoleniach, z wyjątkiem czwartego, najmniejsze potomstwo otrzymano na pożywce standardowej. W trzecim i czwartym pokoleniu muszki utrzymy-

wane na pożywce standardowej uzyskały najwyższe masy ciała, odpowiednio 0,703 i 0,745 mg (tab. 3). Z kolei dodatek do pożywki benzoesu sodu wpłynął na obniżenie liczebności muszek w pokoleniach od drugiego do piątego. W tym przypadku najmniej liczne potomstwo wystąpiło w czwartym pokoleniu. Najmniejszą średnią masę ciała w pierwszym pokoleniu uzyskały muszki utrzymywane na pożywce z dodatkiem benzoesu sodu (tab. 3). Należy podkreślić, że obserwacje te dotyczą w głównej mierze muszek należących do szczepu Normal.

W tabeli 4 zamieszczono wyniki wskazujące na wpływ rodzaju pożywki i szczepu na badane cechy muszki *Drosophila melanogaster*.

Analizując wyniki hodowli prowadzonych na pożywce standard stwierdzono, że muszki ze szczepu Ebony osiągnęły wyższą średnią masę ciała (0,716 mg) w porównaniu z muszkami szczepu Normal, natomiast muszki tego szczepu miały liczniejsze potomstwo – 874 szt. (tab. 4). Populacja muszek szczepu Ebony hodowana na pożywce z dodatkiem benzoesu sodu okazała się mniej liczna i o mniejszej średniej masie ciała w porównaniu z muszkami hodowanymi na pożywce standard (tab. 4).

Tabela 4. Masa i liczebność muszek *Drosophila melanogaster* z uwzględnieniem szczepu i rodzaju pożywki

Table 4. Weight and number of *Drosophila melanogaster* vinegar flies depending on the strain and type of medium

Rodzaj pożywki Medium type	Szczep Strain	Liczebność Number (szt. – no)	Średnia masa muszki Average live weight (mg)
Standardowa Conventional	Normal	874	0,554
	Ebony	709	0,716
Z dodatkiem benzoesu sodu (E211) With sodium benzoate added (E211)	Normal	685	0,582
	Ebony	286	0,459
Z dodatkiem EDTA (E385) With EDTA added (E385)	Normal	998	0,507
	Ebony	700	0,518
Z dodatkiem kwasu cytrynowego (E330) With citric acid added (E330)	Normal	844	0,502
	Ebony	715	0,501

Analiza statystyczna nie potwierdziła istotności obserwowanych różnic między średnią masą ciała a liczebnością muszek w zależności od dodanych konserwantów. Również obserwowane różnice między badanymi szczepami pod względem analizowanych cech okazały się nieistotne statystycznie. Różnice między liczebnością muszek w kolejnych pięciu pokoleniach okazały się istotne statystycznie (tab. 5).

Stwierdzono istotne statystycznie różnice ( $p \leq 0,01$ ) liczebności między pokoleniem pierwszym a trzecim i pierwszym a piątym. Natomiast różnice istotne ( $p \leq 0,05$ ) zaobserwowano między pierwszym a czwartym, drugim a trzecim oraz drugim a piątym pokoleniem muszek. Pozostałe obserwowane różnice liczebności okazały się nieistotne statystycznie (tab. 5).

Tabela 5. Różnice między średnią liczebnością badanych pokoleń *Drosophila melanogaster*  
 Table 5. Differences between mean numbers in *Drosophila melanogaster* generations researched

Pokolenie Generation	Średnia liczebność pokoleń Average number in a given generation (szt. – no)	226,00	179,75	150,00	115,29	105,43
F <sub>1</sub>	226,00	-				
F <sub>2</sub>	179,75	46,25	-			
F <sub>4</sub>	150,00	76,00 <sup>x</sup>	29,75	-		
F <sub>3</sub>	115,29	110,71 <sup>xx</sup>	64,46 <sup>x</sup>	34,71	-	
F <sub>5</sub>	105,43	120,57 <sup>xx</sup>	74,32 <sup>x</sup>	44,57	9,86	-

<sup>x</sup>p – 0,05 – 0,05, <sup>xx</sup>p – 0,01 – 0,01

#### 4. DYSKUSJA WYNIKÓW

Zjawiskiem o podstawowym znaczeniu dla utrzymania gatunku jest uzyskanie kolejnych pokoleń, a więc prawidłowy rozród zwierząt, na który mają wpływ czynniki genetyczne i środowiskowe, czyli warunki utrzymania i odżywiania. Optymalne warunki środowiskowe zapewniają osobnikom możliwości prawidłowego rozrodu oraz wzrostu. Wprowadzenie do środowiska obcych substancji, do których należą konserwanty, może ujemnie odbić się na płodności zwierząt i ich wzroście.

Z przeprowadzonych badań wynika, że dodatek benzoesu sodu do pożywki powoduje obniżenie liczebności kolejnych pokoleń. Stwierdzono zmniejszenie masy ciała muszek w pokoleniach od drugiego do piątego; hodowle były mniej liczne i o najmniejszej masie. W tych warunkach otrzymano tylko dwa pokolenia muszek szczepu Ebony.

W literaturze można znaleźć tylko nieliczne publikacje dotyczące badań nad wpływem dodatków do żywności na rozwój i liczebność muszki owocowej *Drosophila melanogaster*. W pracy Stankiewicza i wsp. [5] badano wpływ azotanu sodu (E251) i benzoesu sodu (E211) na plenność, masę ciała, proporcję płci i liczebność populacji 10 pokoleń muszek szczepu dzikiego [5].

Powyżsi autorzy [5], obserwując kolejnych 10 pokoleń muszki owocowej *Drosophila melanogaster*, stwierdzili toksyczne oddziaływanie benzoesu sodu na jej biologię. Związek ten powodował prawdopodobnie zaburzenia procesu gametogenezy oraz dalszych faz rozwojowych owadów, co objawiało się obniżeniem plenności samic. W związku z tym stwierdzono obniżenie liczebności i masy muszek w kolejnych pokoleniach [5].

#### 5. WNIOSKI

1. Najliczniejsze i o największej masie ciała muszki uzyskano w hodowlach utrzymywanych na pożywce standardowej, z wyjątkiem pokolenia pierwszego, gdzie najliczniejszą hodowlę otrzymano na pożywce z dodatkiem kwasu cytrynowego.

2. Dodatek do pożywki benzoesu sodu wpłynął na obniżenie liczebności i masy ciała muszek w pokoleniach od drugiego do piątego. W warunkach tych otrzymano tylko dwa pokolenia muszek ze szczepu Ebony.
3. Dodatek do pożywki EDTA lub kwasu cytrynowego powoduje nieznaczne różnice w liczebności hodowli i masie ciała muszek w porównaniu z hodowlami utrzymanymi na pożywce standardowej.

## LITERATURA

- [1] Botting J., Morrison A.R., 1997. Badania na zwierzętach niezbędnych medycynie. Świat Nauki 4, 65-67.
- [2] Czapski J., Wieland A., 1992. Dodatki do żywności. PWRiL Warszawa.
- [3] Praca zbiorowa pod red. Z. Sikorskiego, 2002. Chemia żywności. WNT Warszawa.
- [4] Ruszczyc Z., 1981. Metodyka doświadczeń zootechnicznych. PWRiL Warszawa.
- [5] Stankiewicz Cz., Steć E., Mikrus J., Kamecki M., Walo P., 2002. Oddziaływanie azotanu sodu (E251) i benzoesu sodu (E211) na plenność, masę ciała, proporcje płci i liczebność populacji *Drosophila melanogaster* (Meigen). Zesz. Nauk. Akademii Podlaskiej w Siedlcach, Rolnictwo 61, 73-86.

## EFFECT OF THE MEDIUM COMPOSITION ON THE BIOLOGY OF *Drosophila melanogaster* VINEGAR FLY

### Summary

The research involved vinegar flies *Drosophila melanogaster* representing Normal and ebony strains, cultured on media with food preservatives added. The analysis included the effect of sodium benzoate (E211), EDTA (E385) and citric acid (E330) on the body weight and the number in successive five generations. Adding sodium benzoate decreased the number and weight of flies from the second to the fifth generation, the cultures were less numerous and the weight was lowest. Under these conditions only two ebony strain fly generations were obtained.

Adding EDTA or citric acid to the medium resulted in slight differences in the culture number and fly weight, as compared with the culture on the standard medium.

Key words: *Drosophila melanogaster*, preservatives, weight and number in successive generations