500

م5

علم الوراثة العملي

كلية التربية للعلوم الصرفة – ابن الهيثم

قسم علوم الحياة

المرحلة الثالثة

عداد

أ.د.احسان عرفان حسين

((المختبر الرابع))

الأسس المندلية Mendelism

قانون مندل الأول (قانون الأنعزال Low of segregation):

ينص قانون مندل الأول على ان اذا اختلف فردان في زوج من الصفات فانهما ينتجان جيلاً فيه صفة احد الفردين فقط وهي الصفة السائدة وتنعزل الصفات لتعاود الظهور في الجيل الثاني بنسبة عددية ثابتة. لقد تركزت تجارب مندل على نبات البزاليا بسبب وضوح صفاته المظهرية، سهولة تنميتها وتلقيحها، ازهارها ثنائية الجنس اي ان التلقيح ذاتي ويمكن الحصول منها على نباتات نقية الصفة. ان صفات نبات البزاليا المتضادة والمهمة والتي درسها مندل كان عددها سبعة مما جعله يستفاد منها اثناء تجاربه في قانونه الثاني:

ت	الصفة	السائد	المتنحي
1	ارتفاع الساق	طويل	قصير
2	لون القرنة (غير الناضجة)	خضراء	صفراء
3	شكل القرنة (غير الناضجة)	منفوخة	مضغوطة
4	موقع الزهرة	ابطية	قمية
5	لون البذرة	صفراء	خضراء
6	شكل سطح البذرة	املس	مجعد
7	لون الأزهار	احمر	ابيض

ونظرا لأهمية التجارب الوراثية، فأنه من المفروض من هذا الجزء والذي يليه تكوين فكرة عن كيفية اجراء التجارب الوراثية وتجميع البيانات المشاهدة وتحليلها تحليلاً احصائياً ومن ثم تفسيرها وراثياً، وعموما تجري التجارب كالآتي:

1. دراسة السلوك الوراثي للأنعزال المندلي Mendelian segregation

اولاً: تجارب على البازلاء

سيجري الطالب تجاربه على بذور البازلاء *Pisum sativum* فعلى كل طالب فحص العينات التي امامه جيداً وملاحظة الأختلاف بين اشكال والوان البذور.

تجارب البازلاء

المطلوب:

1. تمييز وفصل واحصاء عدد البذور في كل فئة مظهرية.
2. اقتراح النسبة المندلية المحتملة اي النظرية الفرضية Null Hypothesis لمجاميع الشكل المظهري المتحصل عليه.
3. تحديد موافقة القيم المشاهدة للقيم المتوقعة تبعاً للنظرية الفرضية بأستخدام طريقة مربع كاي Chi-square الأحصائية.
4. تفسير هذه النتائج مع تحديد الجيل الذي قد تمثله كل عينة.
5. تحليل النتائج تحليلاً وراثياً كاملاً.

ملاحظات عامة:

1. لون البذور اما اصفر او اخضر.
2. شكل البذور اما مستدير او مجعد.
3. نتوقع في هذه الحالة ان تكون النسبة المطلوبة مطابقة للنسب المندلية 1:3 او 1:1 وهي النظرية الفرضية.
4. بأستخدام الطريقة الأحصائية (مربع كاي) للتأكد من صحة النظرية الفرضية.

ثانياً: تجارب على حشرة الدروسوفيلا

1. تجارب تشمل زوجاً واحداً من الصفات المتضادة Contrasting characters، اي تشمل السلوك الوراثي لصفات الجناح (بري - مختزل - مقضوم) وكذلك صفات لون الجسم (بري - ابنوسي).

أ. تجري التجارب بوضع ذكرين بريين Wild type مع ثلاث اناث غير ملقحة Virgins بها صفات متنحية (واحدة من الصفات السابق ذكرها والمحمولة بالكروموسوم الثاني او الثالث) او التلقيح العكسي لهذه الأفراد في انابيب تربية ويدون عليها التركيب الوراثي للأفراد المتزاوجة وتأريخ التلقيح ويسمى هذا الجيل بالجيل الأبوي Parental generation (P1) .

ب. تنقل انابيب التربية بالحشرات الموجودة بها الى الحاضنة على درجة حرارة 25م° وتترك لمدة 4-5 ايام لكي يتم تغذية وتزاوج الحشرات وتضع الأناث عدداً كافياً من البيض ويجب عندئذ التخلص من حشرات الجيل الأبوي بتخديرها ثم القائها في كحول مستعمل.

ت. بعد التخلص من حشرات جيل الآباء تعاد الأنابيب الى الحاضنة وتترك هناك الى ان تظهر الحشرات الكاملة الممثلة للجيل الأول First filial generation (F1) وذلك بعد حوالي 5-7 ايام أخرى.

ث. تخدير افراد الجيل الأول لفحصها من ناحية الشكل المظهري لكل من الجنسين.

ج. ينتقل عدد محدود (حوالي 5-10 أزواج) من ذكور واناث الجيل الأول الى زجاجة تربية جديدة تحتوي على غذاء طازج وتحضن حتى تظهر اليرقات ويتخلص من افراد الجيل الأول كما سبق ذكره او توضع (2-3 ازواج) في انبوبة تربية.

ح. بعد ظهور الحشرات الكاملة (افراد الجيل الثاني F2) تخدر وتفحص وتعزل الى فئاتها المظهرية المختلفة وبدون عدد الأفراد في كل فئة مظهرية ثم تحلل البيانات المتحصل عليها تحليلا احصائيا ثم تفسر وراثياً.

التحليلات الأحصائية Statistical analysis

1. الأحتمال التجريبي Experimental probability

هو الأحتمال الذي نحصل عليه من البيانات المتجمعة من عينات مأخوذة من تجارب معينة، وغالبا ما تكون هذه العينات عرضة للأخطاء التجريبية التي ترجع إلى عامل الصدفة، وتكون القيم المتحصل عليها من هذه العينات منحرفة عن القيم المتوقعة على اساس نظريات فرضية معينة.

لقد اصبحت المقارنة بين القيم المشاهدة Observed والمتوقعة Expected عاملاً مهماً في تقدم العلوم وخاصة علم الوراثة، ففيه تحسب مجاميع الشكل المظهري المحتمل الحصول عليها بواسطة القوانين الوراثية ثم تقارن هذه القيم المتوقعة بالقيم المشاهدة ثم تقدر درجة احتمال حدوثها ويعرف هذا الأختبار بأسم اختبار مربع كاي Chi-square test.

2. اختبار مربع كاي (X^2) لتقدير درجة التطابق

Chi-square test for determination goodness of fit

القانون العام لمربع كاي:

$$\text{قيمة مربع كاي} = \text{مجموع} \frac{(\text{المشاهد} - \text{المتوقع})^2}{\text{المتوقع}}$$

$$X^2 = \sum \frac{(o - e)^2}{e}$$

ويمكن وضع معادلة مربع كاي في صورة مبسطة كالآتي:

قيمة مربع كاي= مجموع $\frac{\text{مربع الأنحرافات}}{\text{المتوقع}}$

$$X^2 = \sum \frac{(d)^2}{e}$$

حيث ان d هو الأنحراف Deviation او الفرق بين القيمة المشاهدة والقيمة المتوقعة لكل فئة من الفئات على حدة. وعلى هذا فأنه يمكن حساب قيمة مربع كاي في اي تجربة من التجارب التي يجريها الطالب وذلك بتربيع الأنحراف لكل فئة ثم تقسيم مربع الأنحراف على القيمة المتوقعة لهذه الفئة والتي يمكن حسابها من النظرية الفرضية Null hypothesis ثم يجمع الناتج لجميع الفئات.

فعلى سبيل المثال إذا كان عدد البذور البنية والبيضاء في عينة من الفاصوليا هو 156 وكان عدد البذور البنية 87 وفي الفئة البيضاء 69 بذرة وعلى اساس النظرية الفرضية (النسبة 1:1) فأننا نتوقع ان تكون عدد البذور في كل فئة هو 78 بذرة، وبأحلال هذه القيم في معادلة مربع كاي نحصل على الآتي:

$$\text{قيمة مربع كاي} = \frac{^2(78-87)}{78} + \frac{^2(78-69)}{78} = \frac{^2 9+}{78} + \frac{^2 9-}{78}$$

$$\text{قيمة مربع كاي} = \frac{81}{78} + \frac{81}{78} = \frac{162}{78} = 2.08$$

ولأتمام اجراء اختبار مربع كاي يجدر بنا حساب عدد درجات الحرية Degree of freedom وهي تساوي عدد الفئات المظهرية مطروحا منها واحداً اي انها في المثال السابق تساوي 2-1=1 درجة حرية واحدة. وبالرجوع الى جدول الأحتمالية Probability table لمربع كاي وامام درجات الحرية المناسبة ومن قيمة مربع كاي المحسوبة وهي 2.08 يمكن تحديد درجة الأحتمالية للأنحراف الموجود في هذه التجربة وهذه القيمة 2.08 عند درجة حرية (تقع بين درجتي احتمال 0.02 و 0.05 ويمكن تفسير ذلك على ان انحرافها مثل الموجود في المثال السابق وهو ± 9. يمكن حدوث بعض الصدفة من 5-20% من عينات مماثلة لو ان عدداً كبيراً من هذه العينات آخذ من نفس العشيرة او بمعنى آخر فأنه إذا كررت نفس التجربة مرات عديدة تحت نفس الظروف فأنه من المحتمل وبمحض الصدفة ان نحصل على قيمة مماثلة لقيمة الأنحراف الموجود في 5-20% من المرات.

ومن المتفق عليه:

1. لو كانت درجة الأحتمال اكبر من 0.05 تعتبر النتائج المشاهدة متفقة مع النتائج المتوقعة على اساس النظرية الفرضية وأن الأنحرافات غير معنوية Insignificance وتعزى للصدفة.
2. لو كانت درجة الأحتمال اقل من 0.05 واكبر من 0.01 يقال ان الأنحرافات معنوية Significance او لا ترجع الى الصدفة بل الى عوامل اخرى سببت هذا الأنحراف.

لو كانت درجة الأحتمال اقل من 0.01 يقال ان الأنحرافات ذات معنوية عالية Highly significance، وبذلك يكون من غير المحتمل ان ترجع الأختلافات بين المشاهد والمتوقع الى الصدفة وحدها. ويتضح من ذلك أنه كلما كبرت قيمة الأحتمالية كلما دل ذلك على وجود توافق جيد Good agreement بين النتائج المشاهدة والمتوقعة على اساس النظرية الفرضية.

الدكتور العملي/ أ.د. احسان عرفان حسين