500

م3

علم الوراثة العملي

كلية التربية للعلوم الصرفة – ابن الهيثم

قسم علوم الحياة

المرحلة الثالثة

عداد

أ.د.احسان عرفان حسين

((المختبر الثاني))

تربية حشرة الدروسوفيلا في المختبر Breeding of *Drosophila* flies

الأدوات المستخدمة في التربية هي:

1. **زجاجات التربية Breeding bottles:** تعتبر زجاجات الحليب سعة 4/1 لتر من افضل زجاجات التربية الخاصة غير انه قد يستخدم زجاجات اكبر من ذلك ولذا يتوقف حجم الزجاجات المستعملة على عدد الحشرات المراد تربيتها وعادة يوضع في الزجاجة الواحدة سعة 4/1 لتر من 5-50 زوج من الذبات كما يمكن زرع حوالي 300 بيضة في كل زجاجة، ويجب تعقيم الزجاجات قبل الأستعمال.
2. **انابيب التربية Breeding vials:** وهي انابيب مستوية القاعدة مصنوعة من الزجاج الذي يتحمل الحرارة بأرتفاع 8 سم وقطر 2.5 سم تقريباً وهي تستعمل عند اجراء التلقيحات بين ازواج قليلة من الحشرات (حوالي 2-3 ازواج) او عند زرع عدد قليل من البيض لا يزيد عن 70 بيضة.
3. **الحاضنات Incubators:** الحاضنة هي دولاب كبير او صغير ذو رفوف توضع عليها زجاجات او انابيب التربية، وفي هذه الحاضنات لابد من ايجاد وسيلة لضبط درجة الحرارة، وتوجد في معظم المختبرات التي تشتغل بهذه الحشرة حجرات كاملة مضبوطة الحرارة تستعمل للتربية والعناية بهذه الحشرة.

التغذية Feeding

تستدعي طبيعة التجارب الوراثية تعدد عمليات نقل الحشرات من زجاجة الى اخرى، ولذا فأنه من الضروري لأن تكون البيئة الغذائية المستعملة ذات صلابة مناسبة ويتم ذلك بأضافة مادة الأكار Agar وتشمل البيئة الغذائية المستعملة في تربية الحشرات بالمختبر عادة مواد مختلفة كالموز والعنب او المشمش واضافة مادة سكرية كالعسل الأسود Molasses او الدبس او السكر وهي ضرورية لنمو وتكاثر الخميرة التي تعتبر من اهم المواد الأساسية في تغذية الحشرات، وهناك مخاليط مختلفة ونسب متغايرة تستعمل في المختبرات الوراثية المختلفة إلا ان البيئة الغذائية المستعملة حالياً في مختبرنا هذا مكونة من خليط المواد التالية:

المادة	الوزن (غم) اوالحجم (مل)
خميرة جافة	10
طحين ذرة	10
دبس او سكر	10
آكار	2
ماء اعتيادي	100

زجاجات التربية لحشرة ذبابة الفاكهة *Drosophila melanogaster*

ان طريقة تجهيز البيئة الغذائية هو ان يوضع الآكار في الماء البارد ويقلب ثم يوضع على النار وعند ارتفاع درجة حرارة المخلوط يضاف الدبس او السكر ويقلب جيداً وبأستمرار ثم تضاف الخميرة وبعدها الطحين وتستمر في التقليب الى ان يتم الغليان الذي يجب ان يستمر لمدة 5-10 دقائق لضمان تعقيم البيئة الغذائية وبعدها ترفع من على النار وتعبأ لأرتفاع 2-3 سم تقريباً وهي ساخنة في زجاجات التربية او الأنابيب السابق تعقيمها في الفرن Oven وتترك حتى تبرد وهي مغطاة بقطعة من القماش النظيف وبعدها يضاف الى كل منها نقطة او نقطتين من معلق الخميرة الحية في الماء بقطارة نظيفة، ثم يوضع بداخل كل منها ورقة ترشيح معقمة تغمس قليلاً لتبيتها في البيئة الغذائية لتجد الحشرات الكاملة مكانا للوقوف وتجد اليرقات مكاناً جافاً تتحول فيه الى عذارى. بعدها تغطى

الزجاجات بسدادة من القطن المعقم وبذا تكون الزجاجات والأنابيب بعدها معدة للأستعمال لكن يستحسن ترك الزجاجات بضع ساعات او الى اليوم التالي قبل استعمالها لتتمكن خلايا الخميرة من النمو والتكاثر.

طريقة نقل الحشرات البالغة Adult transfer

عند نقل الحشرات من زجاجات التربية القديمة الى زجاجات جديدة يجب ان تستبعد الزجاجات القديمة الملوثة بالفطر او البكتيريا لضمان عدم تلوث البيئة الجديدة، ثم تنزع السدادة القطنية لكل من الزجاجتين وتنكس الزجاجة المراد نقل الحشرات منها فوق الزجاجة الجديدة وتمسك الزجاجتان عند موضع اتصالها بأحدى اليدين وتطرق طرقات خفيفة على راحة اليد او فوق قطعة من الفلين الى ان يتم انتقال جميع الحشرات الى الزجاجة الجديدة ثم تحفظ الزجاجات في حاضنات خاصة على درجة حرارة ثابتة حوالي 25م° وهي انسب درجة حرارة لتربية هذه الحشرة، كما تستخدم نفس هذه الطريقة عند نقل الحشرات من انبوبة الى أخرى.

عملية تخدير والفحص

حتى يمكن فحص الحشرات، يجب اولاً شل حركتها ويتم ذلك عن طريق التخدير Etherization ويستعمل لذلك الأيثر Ether. تتكون ادوات التخدير من طرز مختلفة ابسطها يتكون من زجاجة تربية عادية يوضع في قاعها قطعة من القطن الطبي المشبعة بالأيثر وتغطى فوهة هذه الزجاجة بقمع من البلاستك فوهته العليا بأتساع فوهة زجاجة التربية ومركب بالنهاية السفلى للقمع قطعة من قماش الشاش. ولأجراء عملية التخدير يطرق قاع زجاجة او انبوبة التربية وهي رأسية طرقا خفيفا على راحة اليد لتنزيل الحشرات التي هي بالعنق الى القاع، ثم تنزع السدادة من فوق زجاجة التربية وتنكس فوق قمع التخدير وتمسك بأحدى اليدين وتطرق طرقاً خفيفاً فوق قطعة من الفلين حيث تسقط جميع الحشرات إلى قاع القمع الممتلئ ببخار الأيثر خلال ثقوب القماش. وتترك الحشرات بضع ثوان حتى يتم تخديرها ثم تنقل بعدها الحشرات الى لوحة الفحص (ورق سميك ابيض). يجب عدم ترك الحشرات في المخدر فترة اطول من اللازم حتى لا تموت من تأثير الأيثر الزائد، ويلاحظ ان اجنحة الحشرات المخدرة تكون في وضعها الطبيعي اي في اتجاه الجسم، اما اذا كانت الأجنحة عمودية على الجسم فهذ يدل على موت الحشرات نتيجة التخدير الزائد.

تفحص الحشرات المخدرة بواسطة العين المجردة او بعدسة يدوية، ويجب استعمال فرشاة ناعمة صغيرة الحجم لتحريك الحشرات دون تشويه، وبعد انتهاء الفحص تعاد الحشرات إلى زجاجات او انابيب التربية الجديدة اذا اريد الأحتفاظ بها او تعدم برميها الى اناء يحتوي على كحول مستعمل في حالة الأستغناء عنها. وعند اعادة الحشرات الى زجاجات التربية يراعى ان توضع في وضع افقي او رأسي مقلوب الى ان يزول اثر التخدير وتنبيه الحشرات خوفاً من التصاق الحشرات المخدرة بسطح البيئة الغذائية اللزجة.

طريقة الحصول على اناث غير ملقحة Virgin females

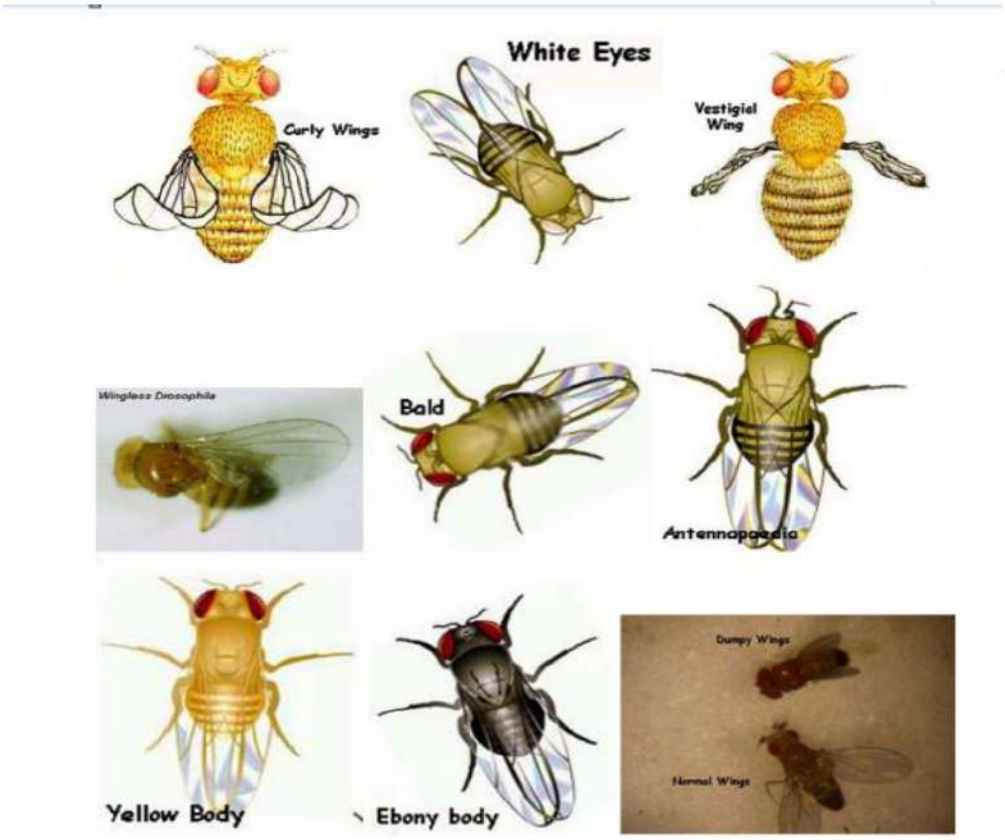
تتطلب طبيعة التجارب الوراثية التحكم في عملية التلقيح، لذلك فأنه من الضروري الحصول على اناث عذارى Virgins ويتم ذلك بعدة طرق:

1. تفرغ زجاجات التربية المراد الحصول على اناث عذارى منها من جميع الحشرات التي بها. وبعد حوالي 5-8 ساعات تعزل الأناث الحديثة الفقس في انابيب او الزجاجات تربية وهذه تكون عذارى وهذه الطريقة هي الأكثر شيوعاً لكثرة عدد العذارى المتحصل عليها.
2. تنقل الحشرات من زجاجات التربية الى زجاجة اخرى نظيفة ثم يؤخذ مجموعة من اليرقات والعذارى داخل الشرنقة لمعرفة جنسها كما سبق شرحه. وتنقل كل يرقة او عذراء انثى تم فحصها بواسطة مبتلة الى انبوبة تربية جديدة، إذ توضع على سطح المادة الغذائية، إلا ان هذه الطريقة غير عملية لقلة عدد الأناث المتحصل عليها.
3. يمكن الحصول على أناث عذارى من اي زجاجة تربية وذلك بفحص الحشرات حديثة الفقس حيث يمكن تميزها بجسمها المستطيل.

الطفرات في الدروسوفيلا Mutations in *Drosophila*

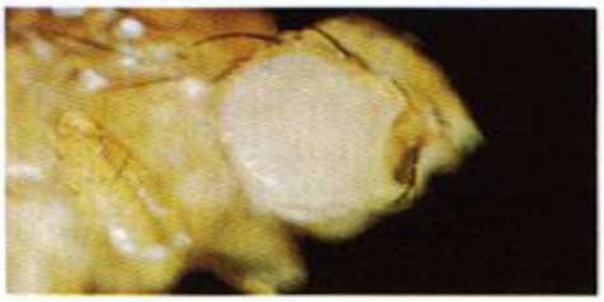
تظهر احياناً بين الأفراد البرية لهذه الحشرة افراداً ذات صفة جديدة تورث من جيل لآخر تعرف بأسم الطفرات الذاتية Spontaneous mutations، فلون العين الأبيض White وشكل العين العصوية Bar والجناح المقضوم Dumby او المختزل Vestigial ولون الجسم الأصفر Yellow او الأسود Black او الأبنوسي Ebony وغيرها من الطفرات المعروفة والتي لها سلوك وراثي ثابت، وتختلف هذه الحشرات الطافرة في درجة الحيوية والخصوبة، ولذا فأنها احياناً تربى

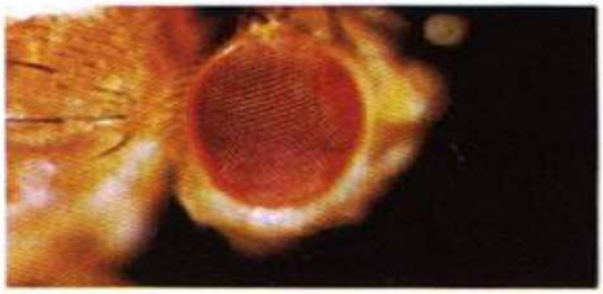
تحت ظروف خاصة في المختبر. الجدول التالي يبين بعض الطفرات المعروفة في حشرة الدروسوفيلا والرموز الدالة عليها ودرجة سيادتها والكروموسوم الذي يحملها.



انواع مختلفة من الطفرات في ذبابة الفاكهة

الصفة (الطفرة)	الرمز	السيادة	الكروموسوم الحامل للطفرة
طافرات المفردة (Single mutants)			
لون الجسم الأصفر	y	متنحي	الأول (الجنسي X)
لون الجسم الأسود	b	متنحي	الثاني (الجسمي)
لون الجسم الأبنوسي	e	متنحي	الثالث (الجسمي)
شكل العين العصوية	B	سائد	الأول
لون العين البيضاء	w	متنحي	الأول
لون العين القرمزية	st	متنحي	الثالث
لون العين البني	bw	متنحي	الثاني
الجناح المختزل	vg	متنحي	الثاني
الجناح المقضوم	dp	متنحي	الثاني
طافرات متعددة (Multiple mutants)			
مختزل أبنوسي	v ge	متنحي	الثاني والثالث
مقضوم أبنوسي	dp e	متنحي	الثاني والثالث
مشمشي عصوي العين	wa B	متنحي سائد	الأول
أصفر بني	y bw	متنحي	الأول والثاني
أصفر قرمزي	y st	متنحي	الأول والثالث
أصفر بني قرمزي	y bw st	متنحي	الأول والثاني والثالث
عصوي مقوس الجناح	B Cy	سائد	الأول والثاني





لون العين الأبيض في حشرة ذبابة الفاكهة

شكل الجناح المقضوم في حشرة ذبابة الفاكهة

شكل الجناح المختزل في حشرة ذبابة الفاكهة

لون الجسم الأسمر Epony في حشرة ذبابة الفاكهة