

PHẦN THỨ HAI

CÁC QUY LUẬT DI TRUYỀN VÀ BIẾN DỊ

CHƯƠNG III

CÁC QUY LUẬT DI TRUYỀN

I – CÁC PHƯƠNG PHÁP VÀ NGUYÊN TẮC TIẾN HÀNH PHÂN TÍCH DI TRUYỀN

Những đặc điểm của phương pháp phân tích di truyền: ta đã biết, phân tích lai là phương pháp cơ bản và đặc thù của di truyền học. Nó bao gồm việc tiến hành lai và nghiên cứu sự di truyền các tính trạng và tính chất riêng rẽ ở cơ thể lai trong nhiều thế hệ. Con cái thu được từ phép lai các dạng cha mẹ khác nhau về các tính trạng và tính chất di truyền được gọi là con lai, còn quá trình thu nhận các con lai được gọi là sự lai.

G. Mendel là người đầu tiên đã theo dõi một cách tỉ mỉ sự biểu hiện các tính trạng của các dạng cha mẹ, đem lai ở các thế hệ lai kế tiếp nhau trong công trình với đậu hòa lan. Trong các thí nghiệm của mình ông đã theo đúng các yêu cầu nhất định mà những yêu cầu này sau đó đã trở thành cơ sở của phương pháp phân tích di truyền.

1. Đề lai, cần chọn các cây khác nhau về một, hai, ba hay nhiều cặp tính trạng tương phản. Thí dụ: cây cao và cây thấp, hoa đỏ và hoa trắng.... Các tính trạng như vậy được gọi là những tính trạng tương phản.

2. Trong mỗi thế hệ lai, cần nghiên cứu mỗi cặp tính trạng tương phản một cách riêng rẽ, không tính đến những sai khác khác giữa các cây lai.

3. Áp dụng việc tính toán toán học một cách chặt chẽ các cây lai khác nhau về các tính trạng nghiên cứu.

4. Tiến hành phân tích cá thể các con lai từ mỗi cây lai một cách riêng rẽ.

Phương pháp lai do Mendel đề xuất gắn liền với việc nghiên cứu đặc trưng di truyền của các tính trạng và tính chất riêng rẽ đóng vai trò rất to lớn trong việc nghiên cứu hiện tượng di truyền và biến dị. Toàn bộ các phương pháp khác nhau nhằm nghiên cứu tính di truyền được gọi là phân tích di truyền

II— CÁC ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Những cơ thể phân biệt nhau rõ ràng về các tính trạng di truyền, sinh sản nhanh, cho đời sau đông đúc để có điều kiện xử lý thống kê là thích hợp dùng làm đối tượng cho các thực nghiệm di truyền học. Sau đây, chúng tôi giới thiệu một vài đối tượng có thể sử dụng trong các phòng thí nghiệm của ta:

I. Ruồi dấm (*Drosophila Melanogaster*).

Hiện nay, người ta đã biết khoảng 200 loài ruồi dấm khác nhau, nhưng loài *Drosophila Melanogaster* là loài được nghiên cứu nhiều hơn cả. Về phương diện phân loại, loài *D. Melanogaster* thuộc nhóm Acalypterata, họ Drosophilidae, bộ Diptera. Tổ quốc của *D. melanogaster* có lẽ là vùng An Độ và Mã lai. Đến nay nó được phân bố ở nhiều nơi trên trái đất: bắc và nam Mỹ, châu Phi, châu Úc, Nhật Bản và miền Nam châu Âu.

Ở Việt Nam, qua điều tra sơ bộ của bộ môn di truyền học, trường đại học Sư phạm Hà Nội 1 thì có thể cũng có loài này, song cần nghiên cứu kỹ lưỡng hơn để định tên một cách cụ thể.

Sở dĩ ruồi dấm được sử dụng rộng rãi trong các thực nghiệm di truyền học vì chúng có các đặc điểm sau: chu kỳ phát triển rất ngắn, độ hữu thụ cao, có nhiều dòng đột biến, số lượng nhiễm sắc thể ít, ít tốn thức ăn, môi trường nuôi đơn giản. Ruồi hoang dại, thường gặp ở nơi đống rau, quả. Có thể nuôi dưỡng chúng một cách dễ dàng. Ruồi dấm thuộc loài sâu bọ có biến thái hoàn toàn. Ruồi đực lưỡng bội trưởng thành có 1 đôi tinh hoàn, trong đó nhờ sự phân chia gián phân mà tạo nên những tế bào đặc biệt — các tinh nguyên bào. Khi bước vào giảm phân, các tinh nguyên bào được gọi là tinh bào cấp 1. Lần phân chia giảm phân thứ nhất tạo nên 2 tinh bào cấp 2, còn lần phân chia giảm phân thứ 2 tạo nên 4 tinh tử đơn bội. Mỗi tinh tử không qua phân chia tiếp mà phát triển ngay thành tinh trùng. Như vậy, từ mỗi tinh bào cấp 1 lưỡng bội khi kết thúc quá trình sinh tinh tạo nên 4 tinh trùng đơn bội có hoạt tính về phương diện chức năng, tinh trùng được giữ ở ruồi đực cho đến lúc phóng vào âm đạo của ruồi cái, từ đó tinh trùng di chuyển vào các cơ quan nhận tinh của con cái.

Ở ruồi cái trưởng thành có 1 đôi buồng trứng. Mỗi buồng trứng có hàng chục ống trứng. Các noãn nguyên bào nằm ở 1 đầu của ống trứng. Do 4 lần phân chia gián phân liên tiếp, mỗi noãn nguyên bào tạo thành một chùm gồm 16 tế bào, một trong những tế bào này bước vào giảm phân dưới dạng 1 noãn bào cấp 1, trong khi đó những tế bào còn lại trở thành những tế bào dinh dưỡng cho tế bào trứng chín. Càng ngày tế bào trứng càng phát triển, nó chuyển theo vòi trứng vào ống dẫn trứng và sau đó vào tử cung. Khi trứng tới tử cung, thường nó vẫn chưa qua kì giữa của lần phân chia giảm phân một. Tinh trùng đang nằm trong cơ quan nhận tinh tiến vào tử cung và thụ tinh với trứng, sau đó sự phân chia giảm phân 1 vẫn tiếp tục.

Hai nhân của noãn bào cấp 2 tạo nên 4 nhân đơn bội, ba trong số đó thường gọi là những nhân cực bị thoái hóa đi, nhân còn lại trở thành nhân đơn bội của tế bào trứng.

Ở đây ta thấy rằng, 1 noãn bào cấp 1 khi kết thúc quá trình sinh trứng chỉ tạo nên 1 tế bào trứng chín đơn bội. Trong cơ thể ruồi cái có giữ hàng trăm tinh trùng và chúng được sử dụng rất tiết kiệm (thông thường chỉ có 1 tinh trùng xâm nhập vào tế bào trứng) bởi vậy 1 lần giao phối có thể sinh hàng trăm con.

Thời gian phát triển từ trứng đến ruồi trưởng thành ở 21°C — 22°C là 12—14 ngày. Tại các phòng thí nghiệm, ở nhiệt độ cực thuận (24 — 25°C) chu kỳ phát triển của nó còn ngắn hơn (chỉ khoảng 10 ngày). Khi nhiệt độ giảm, sự phát triển của ruồi bị chậm lại một cách rõ rệt, việc nâng cao nhiệt độ làm rút ngắn chu kỳ phát triển, nhưng khi nhiệt độ cao hơn 31°C , ruồi không sinh sản được.

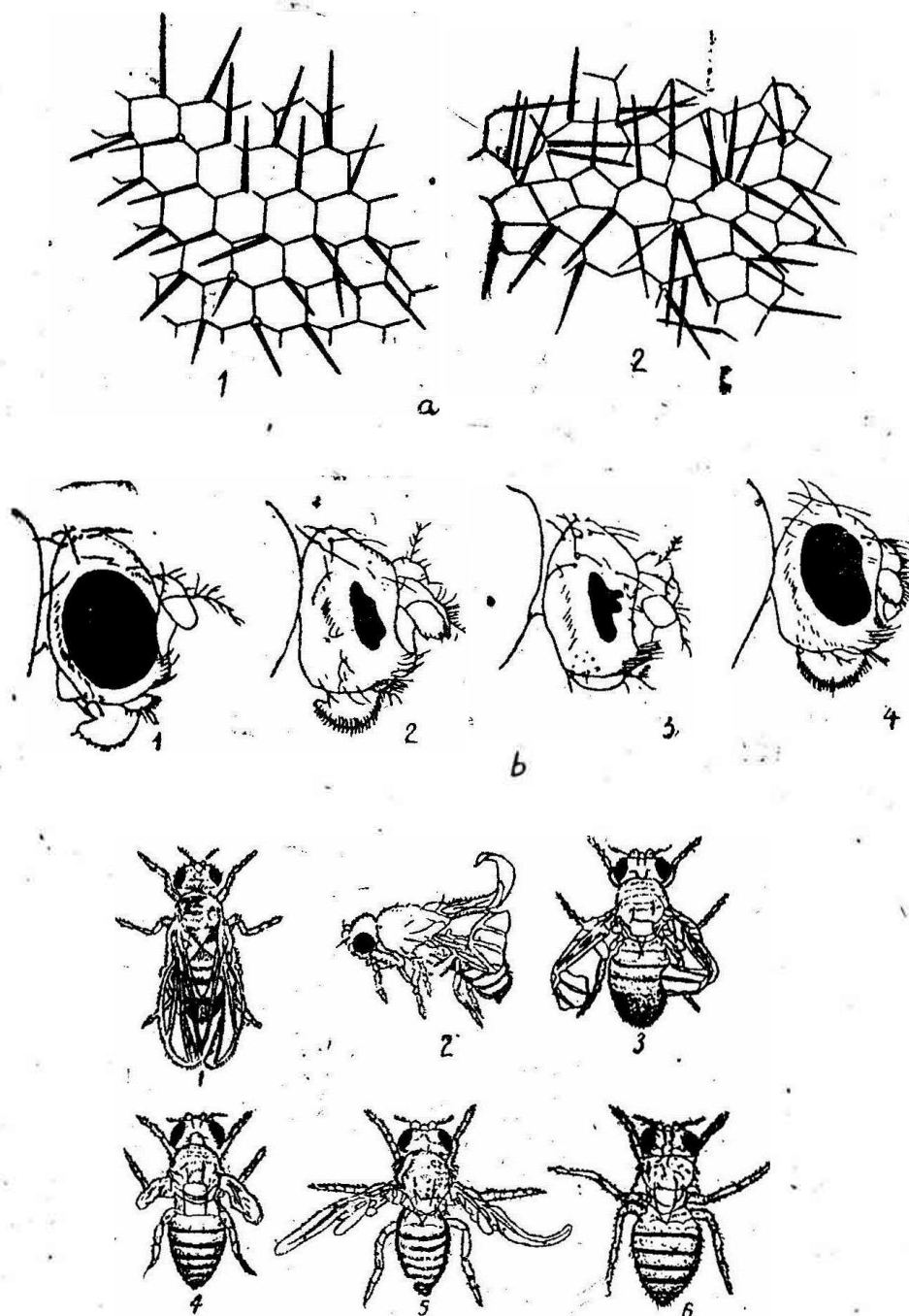
Ruồi dấm tương đối mắn đẻ. Trong điều kiện nuôi dưỡng bình thường, một cặp ruồi có thể cho đời con đông đúc (100—200 con và có thể đến 500—700 con). Tuổi thọ của ruồi trưởng thành trong các điều kiện thí nghiệm là 3—4 tuần lễ và phụ thuộc nhiều vào điều kiện nuôi dưỡng: nhiệt độ, ẩm độ, môi trường nuôi dưỡng, số cá thể trong ống nghiệm, độ sạch của môi trường dinh dưỡng.

Dạng bình thường Normal (N) được đặc trưng bởi mắt màu đỏ (nâu đỏ) có dạng bán cầu, cánh lớn có cấu trúc cân đối và màu thân xám. Năm 1902 Carpeuter là người đầu tiên sử dụng ruồi kiểu dại trong các thí nghiệm trong phòng; còn sau đó nó được sử dụng rộng rãi làm đối tượng nghiên cứu di truyền học. Năm 1910 Morgan đã phát hiện thể đột biến mắt trắng đầu tiên (White) trong những công trình tiếp theo, đã thu được nhiều thể đột biến khác, tức là những cá thể mà ở chúng đột biến làm biến đổi những tính trạng và tính chất nào đó. Sự sinh sản của chúng đã cho nhiều dòng và chủng ruồi dấm khác nhau. Khả năng sống của đa số các dạng đột biến bị giảm sút so với ruồi bình thường. Các đột biến ở ruồi dấm thường đung chạm tới màu sắc và hình dạng của mắt, cấu trúc của cánh và các lông cứng (hình 19).

Sự hình thành sắc tố của mắt ở các thể đột biến khác nhau biến đổi từ màu nâu đến trắng với tất cả các màu trung gian có cá thể (màu mơ, màu san hô, màu đỏ son và những màu khác). Hình dạng mắt của ruồi dấm được xác định bởi mức độ phát triển của mắt kép. Sự tiêu giảm 1 số mắt đơn dẫn đến tạo thành mắt thỏi (Bar), mắt hình xẻng (Lobe) và ngay cả hoàn toàn không có mắt (eyeless). Khi tiêu giảm mắt, kích thước đầu của ruồi cũng bị giảm. Các đột biến của cánh được biểu hiện ở sự biến đổi hình dạng, kích thước, hệ gân của nó: ở ruồi bình thường thì cánh thẳng, còn ở các thể đột biến nó có thể bị uốn cong dưới dạng hình cung (are) hình bàn chân trượt tuyết (ski), bị bẻ gấp cong lên (Curled).

Kích thước của cánh dao động từ tia bớt (cụt) đến tiêu giảm nhiều (Vestigial) và hoàn toàn biến mất (apterous). Sự biến đổi bộ gân được biểu hiện ở việc xuất hiện những gân bổ sung và việc mất đi 1 hay 1 số gân. Lông cứng ở *Drosophila* cũng như ở tất cả các *Diptera* có ý nghĩa là 1 tính trạng phân loại. Khi đột biến, chúng có thể mất đi hay tăng gấp bội lông ở đầu, ngực và tám chân. Ngoài lông cứng, các lông tơ bao phủ thân ruồi cũng bị đột biến.

Bảng 5 mô tả chi tiết các thể đột biến đã biết có thể sử dụng trong các thí nghiệm di truyền.



Hình 19 – Ruồi bình thường và các dạng đột biến khác nhau

a) Hình dạng và sự sắp xếp các thùy và lông mắt.

1. Ruồi bình thường; 2. thể đột biến Star (mắt hình sao)

b) Hình dạng và kích thước của mắt

1. con ♀ bình thường; 2. con ♀ đồng hợp Bar (mắt thỏi); 3. con ♂ Bar; 4. con ♀ dị hợp Bar.

c) cánh bình thường và các đột biến khác nhau về cấu trúc cánh ở ruồi dấm.

1. bình thường; 2. cánh uốn cong (Curved) 3. cánh có nhánh (antlered); 4. cánh cụt (vestigial); 5. cánh bản lề (strap), 6. không cánh (apterous).

Các thẻ đột biến có thể sử dụng trong các bài thí nghiệm.

Thẻ đột biến	Kí hiệu gen	Trội hay lặn	Định khu trên nhiễm sắc thể	Sai khác đặc trưng so với ruồi kiểu đại	Sử dụng trong thí nghiệm
Vestigial	Vg	lặn	II	Cánh không phát triển đầy đủ	Lai đơn và lai kép
Brown	bu	»	II	Mắt màu nâu da lợn	»
Ebony	e	»	III	Thân màu đen	nt, hỗ trợ
curved	c	»	III	Cánh xò ra, uốn cong lên	Lai đơn
Lobe	L	trội	II	Mắt hình thùy, nhỏ bớt	»
Cinnabar	Cn	lặn	II	Mắt màu đỏ son	Lai đơn và lai kép
Black	b	»	II	Thân đen	», hỗ trợ
Searlet	st	»	III	Mắt đỏ tươi	» »
Bar	B	trội	I	Mắt hình thoi	Di truyền các tính trạng liên kết với giới tính
White	w	lặn	I	Mắt trắng	nt
Yellow	y	»	I	Thân màu vàng	Di truyền các tính trạng liên kết với giới tính, trao đổi chéo
Black-vestigial	bvg	»	II	Thân đen, cánh phát triển không đầy đủ	trao đổi chéo
Black-Cinnabar-Vestigial	bcnvg	»	II	Thân đen, mắt đỏ son, cánh phát triển không đầy đủ	»
Yellowcut	yctv	»	I	Thân vàng, bờ cánh răng cưa, mắt đỏ tươi	Trao đổi chéo trên nhiễm sắc thể giới tính
Vernillion					

2. Cá cảnh.

Hiện tại, ở các thành phố của ta có nuôi một số loài cá cảnh có thể sử dụng trong các thí nghiệm để phân tích di truyền, như bộ môn giáo học pháp sinh học, trường Đại học sư phạm Hà Nội 1 đã tiến hành. Trong số các loài cá cảnh của ta, có thể sử dụng các loài: Khổng tước (*Lebistes reticulatus* Peters), kiếm (*Xiphophorus helleri* Hakel), Mún (*Platyopocilus maculatus* giinther), Hạcmoni (*Mollienisia Velifera* Regan) thuộc họ Poeciliidae, bộ Cyprinodontiformes. Các loài trên là nhóm cá xương để con điền hình. Chúng có chân sinh dục nên thụ tinh trong. Đến mùa sinh sản, thường từ tháng 8 đến tháng 10 hàng năm, cá có hiện tượng ghép đôi. Cá đực đuổi theo cá cái. Lúc con cái dừng lại thì con đực quay chân sinh dục về phía trước và đưa vào huyệt con cái. Động tác này chỉ xảy ra trong vài giây đồng hồ.

Con cái có thể thụ tinh trong huyệt, do đó có thể liên tiếp đẻ 5 – 6 lứa chỉ sau 1 lần thụ tinh. Cần đặc biệt chú ý đặc điểm này khi bố trí các thí nghiệm lai. Phôi phát triển trong huyệt cá cái trong vòng một tháng. Gần ngày đẻ, dưới bụng cá mẹ, trước lỗ huyệt xuất hiện một vệt đen gọi là vệt có chứa, ngày càng to, thẫm. Cá thường đẻ vào buổi sáng từ 8 đến 11 giờ. Cá con mới đẻ đã có khả năng sống độc lập, bơi và tự kiếm ăn, có đủ các bộ phận của cá

trưởng thành. Lúc cá sắp đẻ, nên cách li cá đực và cho cá cái vào 1 lồng con, để phòng cá bố và cá mẹ có thể ăn con vừa mới đẻ.

Cá con được 2 – 3 tuần đã phân hóa rõ đực, cái. Được 3 – 5 tháng tuổi (tùy loài) cá bắt đầu đẻ. Cứ 30 – 40 ngày đẻ 1 lứa tùy thời tiết và chế độ dinh dưỡng. Mỗi cá đẻ từ 30 – 250 con/1 lứa (tùy tuổi cá mẹ và tùy loài).

Có thể nuôi cá trong bể thủy tinh, cứ 1 cặp cá cỡ 5cm cần 3 – 5 lít nước. Nhiệt độ thích hợp là 20 – 25°C. Cá có thể chịu được nhiệt độ nước là 12°C. Thức ăn của cá là giun đỏ, rận nước, bọ gậy,... Số lượng và chất lượng thức ăn ảnh hưởng tới sinh trưởng và phát triển của cá. Cần định kì thay nước: dùng ống cao su $\phi = 0,8 - 1,0$ cm hút thức ăn thừa và cặn bẩn ở đáy bể. Lúc cá chữa, cần làm nhẹ nhàng khi thay nước và tránh làm nước thay đổi nhiệt độ quá đột ngột.

Trong bể nuôi cá, cần thả rong đuôi chó hay rong mái chèo để điều hòa lượng O_2 và CO_2 trong nước; giữ ổn định thành phần hóa học và pH của nước, làm nơi ẩn nấp và môi trường cho cá đẻ...

Mỗi loài cá cảnh ở trên đều có các loại với những tính trạng tương phản khác nhau được di truyền ổn định, nên có thể lợi dụng chúng để làm thí nghiệm chứng minh cho các quy luật di truyền. Thí dụ như, cá kiếm mắt đen và cá kiếm mắt đỏ. Cá Mún xanh và cá mún đỏ, còn không tước có loại có vệt đỏ ở trước gốc đôi và chấm màu xanh sau nắp mang, có loại không có các tính trạng trên...

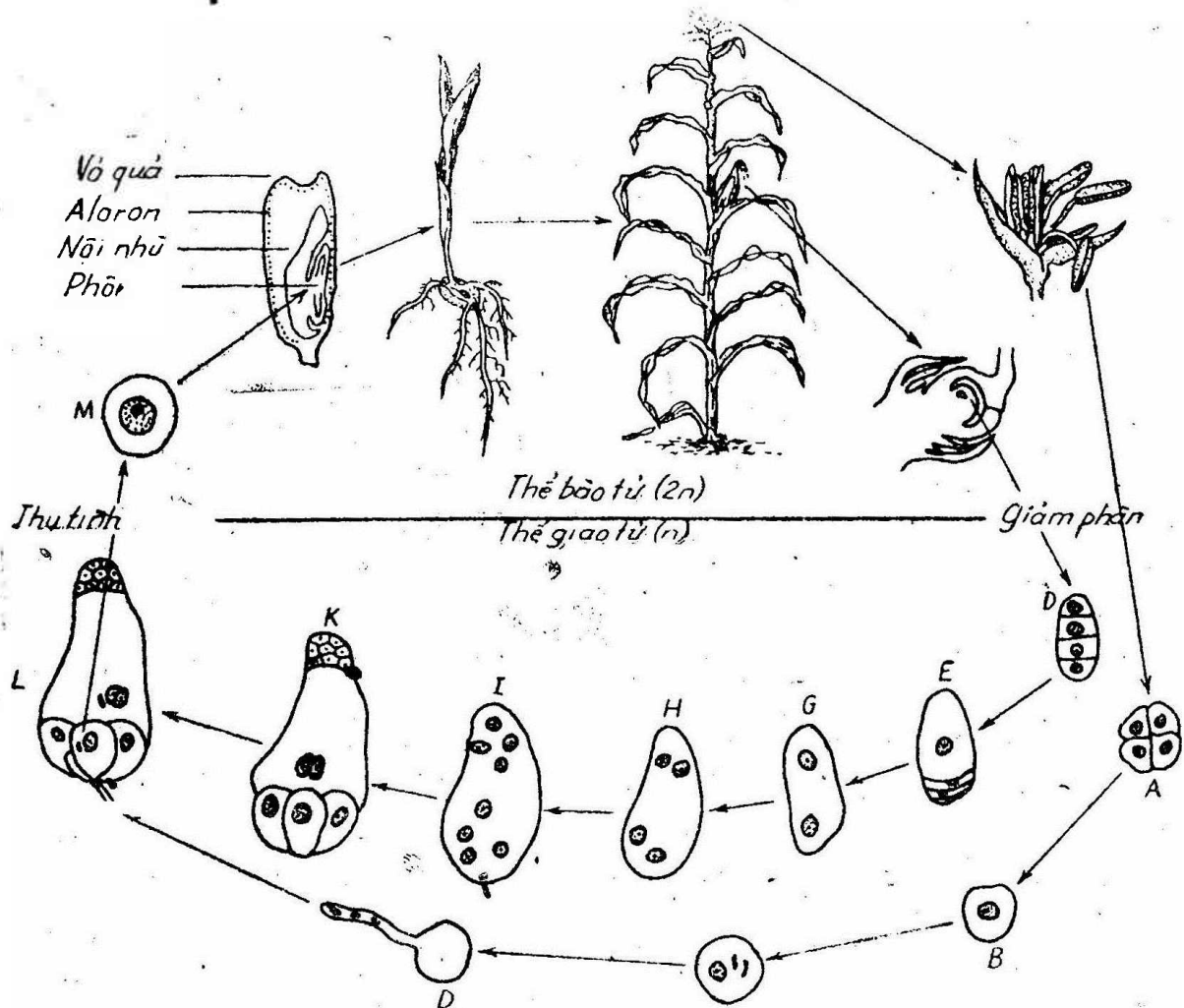
3. Ngô (*Zea mays*).

Ngô có cơ quan sinh sản đực và cái trên cùng 1 cây và bởi vậy nó là cây đơn tính cùng gốc. Vì ngô tạo nên những tế bào đực và cái (gọi là tiểu bào tử và đại bào tử một cách tương ứng) cho nên nó là giai đoạn bào tử thể của chu kì sống (hình 20).

Các tiểu bào tử được hình thành trên cụm hoa ở ngọn cây (hoa cờ). Trong chúng, các tế bào mẹ lưỡng bội của tiểu bào tử hay những tế bào mẹ hạt phấn tiến hành giảm phân và mỗi tế bào như vậy tạo nên 4 tiểu bào tử đơn bội (A), mỗi tiểu bào tử đơn bội này phát triển thành hạt phấn (B). Vì những tiểu bào tử đơn bội tạo nên các giao tử đơn bội nên lúc giai đoạn này trong chu kì sống tạo nên sự bắt đầu và kết thúc của giai đoạn giao tử thể đực, nhân đơn bội của tiểu bào tử phân chia 1 lần nữa theo kiểu gián phân tạo nên hai nhân đơn bội. Một trong các nhân này không phân chia thêm và trở thành nhân sinh dưỡng hay nhân của ống phấn. Nhân còn lại phân chia gián phân 1 lần nữa, do vậy giao tử chứa 3 nhân đơn bội (c), hai nhân sau này hoạt động như nhân sinh sản (tinh tử) (Đ, L).

Về đặc điểm phơi màu của ngô thì từ lúc nhú cờ đến lúc phơi màu khoảng 2 – 4 ngày. Mỗi cờ phơi màu trong 3 – 10 ngày. Mỗi bông cờ có từ 5000 – 7000 hoa. Trình tự phơi màu của các hoa trên bông cờ thì hoa ở trục chính và phía trên bao giờ cũng phơi màu trước, sau đó mới đến các hoa phía dưới. Trong một nhánh, các hoa ở giữa phơi màu trước, sau đó mới đến hai đầu.

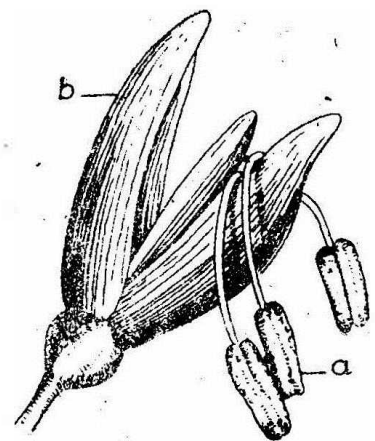
Vào những ngày ẩm áp, ngô phơi màu lúc 7—8 giờ, còn vào những hôm trời lạnh, lúc 9—10 giờ. Thời gian phơi màu dài hay ngắn phụ thuộc vào



Hình 20—Chu kì sống của ngô, *Zea mays* (giải thích trong bài).

nhệt độ trong ngày: trời ẩm áp kéo dài 3—10 ngày, trời lạnh 12—15 ngày. Thường thì 5—6 ngày sau khi phơi màu đã hết phần. Cấu tạo hoa đực như ở hình 21.

Ở ngô, những chùm hoa cái hay những bắp phát triển ở những nách lá phía trên mỗi cây có từ 2—4 bắp. Trong nhụy của mỗi hoa cái chứa 1 tế bào mẹ lưỡng bội của đại bào tử hay tế bào mẹ đại bào tử (sau này các bầu nhụy biến thành các sợi). Tế bào mẹ đại bào tử trải qua giảm phân do vậy tạo nên 4 nhân đơn bội (D), ba trong số đó thoái hóa đi (E). Nhân còn lại của đại bào tử (G) cũng như các nhân con và cháu của nó phân chia theo kiểu gián phân (H). Kết quả là thu được 8 nhân đơn bội (I). Ba trong số 8 nhân này đi về đỉnh của túi phôi và trở thành nhân của 3 tế bào đối cực; hai về tâm (những nhân



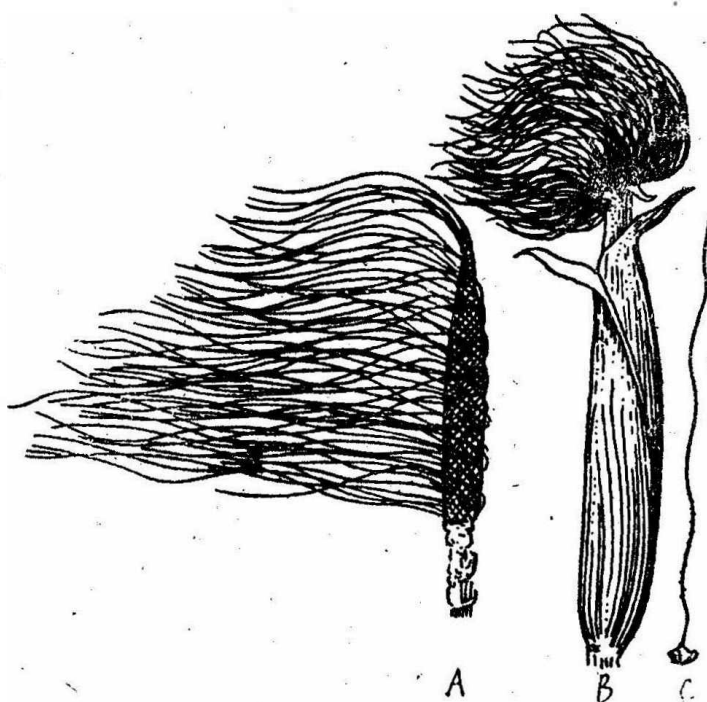
Hình 21—Cấu tạo hoa đực của ngô.
a) bao phấn; b) mào.

phân cực), còn ba (hai nhân của các trợ bào và 1 nhân của tế bào trứng) đi đến đáy của túi phôi (K). Ống phần nảy mầm xuống phía dưới theo bầu nhụy đến túi phôi ở đó 1 nhân sinh sản kết hợp với nhân của tế bào trứng (L, M), như vậy nhân lưỡng bội ($2n$) đã được tạo thành, còn nhân sinh sản khác kết hợp với 2 nhân phân cực và tạo thành nhân tam bội ($3n$). Sau sự thụ tinh kép như vậy bắt đầu thời kì bào tử thể. Việc phân chia các nhân lưỡng bội theo kiểu gián phân (M) đã tạo nên phôi còn các nhân tam bội phát triển thành nội nhũ. Các tế bào nằm trên bề mặt nội nhũ tạo nên 1 lớp aloron và chứa các hạt aloron và dầu. Các tế bào còn lại của nội nhũ chứa tinh bột. Nội nhũ được tiêu hóa dần dần làm chất dinh dưỡng cho phôi và mầm. Mặt ngoài của hạt—vỏ quả là 1 mô đặc biệt tạo thành từ bào tử thể mẹ và gồm những tế bào lưỡng bội. Nói cách khác, vỏ quả do 1 bào tử thể tạo nên, còn những mô còn lại của hạt ngô do bào tử thể của thế hệ tiếp sau tạo nên. Để phát triển túi phôi thành hạt chín đòi hỏi khoảng 8 tuần lễ (trong thời gian này, nhân đối cực và các trợ bào và đời sau của chúng thoái hóa đi). Sự phát triển từ

hạt thành bào tử thể trưởng thành kéo dài khoảng 4 tháng (trong thời gian đó, lá mầm đầu tiên hoàn toàn sử dụng nội nhũ). Về sự phun râu thì thông thường bắt trên phun râu trước, bắt dưới phun râu sau. Bắt phun râu sau khi phơi màu được 3—4 ngày. Râu mới phun có màu trắng, rồi tím hồng, sau đổi thành màu nâu thẫm và quăn lại.

Mùa hè từ khi bắt đầu phun cho đến khi phun hết là 5—8 ngày, còn mùa đông 12—15 ngày. Trình tự phun râu trong bắp thì hoa ở cuống bắt phun trước, tiếp đến hoa ở giữa và cuối cùng là hoa ở cuối bắp.

Cấu tạo bắp và hoa cái được chỉ ra ở hình 22.



Hình 22 — Cấu tạo bắp ngô và hoa cái của nó.
A — Vòi nhụy (râu). B — Bẹ của bắp. C — Hoa cái gồm bầu và vòi nhụy.

III — CÁC CÔNG VIỆC CHUẨN BỊ CHO LAI

I — Chuẩn bị cho lai ruồi dấm.

1.1. Chuẩn bị môi trường nuôi ruồi.

Ở nhiều nước trên thế giới người ta sử dụng đường, men bia và agar là những thành phần chủ yếu của môi trường nuôi ruồi dấm. Trong các thành

phần trên, đường có thể thay thế hoàn toàn hay một phần bằng nho khô chứa các vitamin và axit hữu cơ. Môi trường được chuẩn bị từ lúa mạch xay, nho khô, men bia khô và agar là phổ biến hơn cả. Ở các phòng thí nghiệm khác nhau, các thành phần chủ yếu của môi trường dinh dưỡng được lấy theo những tỉ lệ rất khác nhau. Ở Việt Nam lúa mạch xay và nho khô là những vật liệu khó kiếm, do vậy có thể thay bằng bột gạo và chuối. Sau đây chúng tôi giới thiệu công thức pha chế môi trường nuôi các dòng ruồi dấm (*Drosophila Melanogaster*) của bộ môn di truyền học, trường đại học tổng hợp và đại học Sư phạm Hà Nội 1.

Nước : 1000 ml

Bột gạo : 120g

Men bia khô : 60g

hoặc men bia dạng bột nhão 180g

Chuối chín : 1 quả

agar : 12g

Có thể chuẩn bị môi trường dinh dưỡng theo công thức trên như sau :

Đong một lít nước vào một bình tam giác

Bổ sung vào 60g men bia dạng khô (hay 180g men bia dạng bột nhão) lắc đều.

Cho vào 120g bột gạo (chú ý khuấy đều) và đun sôi 5 phút.

Cho vào hỗn hợp 1 quả chuối chín đã được nghiền nhỏ, lắc đều.

Bổ sung vào 12g agar, lắc đều. Hỗn hợp được đun sôi đến khi tan agar.

Cần rót môi trường dinh dưỡng vào các ống nghiệm lúc còn nóng già và nhờ phễu đổ môi trường không rơi lên thành ống nghiệm. Nếu trên thành ống nghiệm có dính môi trường thì các trứng đẻ vào đó sẽ chết, vì lớp mỏng môi trường khô rất nhanh. Các ống nghiệm chỉ được đóng môi trường chiếm 1/3—1/4 thể tích của nó. Sau khi môi trường đông lại (sau khoảng 30—40 phút) quét lên mặt nó 1 lớp men bia mỏng (2-3g men bia hòa tan trong 50ml nước). Các ống nghiệm môi trường đã được chuẩn bị như vậy nếu chưa dùng hết ngay thì có thể nút lại để trong tủ lạnh và dùng dần trong khoảng 1 tuần lễ.

1.2. Thu nhận ruồi ♀ còn trinh.

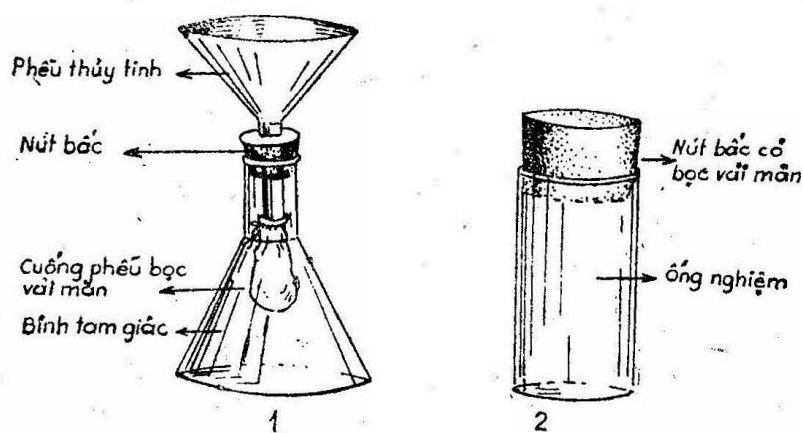
Để thí nghiệm cần chọn những ruồi còn trinh. Nhằm mục đích đó, một vài giờ trước khi ruồi nở hàng loạt (khi có những nhộng xẫm màu ở thành ống nghiệm) tách tất cả các cá thể trưởng thành ra khỏi ống nghiệm sau đó 5—8 giờ khi ruồi xuất hiện thì tách các con cái ra khỏi những con đực.

Trong thời gian này các con ♀ là còn trinh.

1.3. Gây mê ruồi.

Mọi công việc với ruồi dấm chỉ được thực hiện sau khi đã gây mê. Người ta thường sử dụng ete etylic làm chất gây mê. Có thể dùng Clorofoc nhưng không tốt lắm vì ruồi dấm sẽ bị mê nặng và có thể chết. Người ta gây mê ruồi trong những dụng cụ đặc biệt. Bộ môn di truyền học trường Đại học sư phạm I chuẩn bị dụng cụ này như sau : Lấy một bình tam giác cỡ 50ml, chọn một

nút bấc vừa miệng bình làm nút dùng khoan khoan một lỗ nhỏ cho cuống phễu thủy tinh bé lọt qua, đáy cuống phễu được bịt một lớp vải màn.



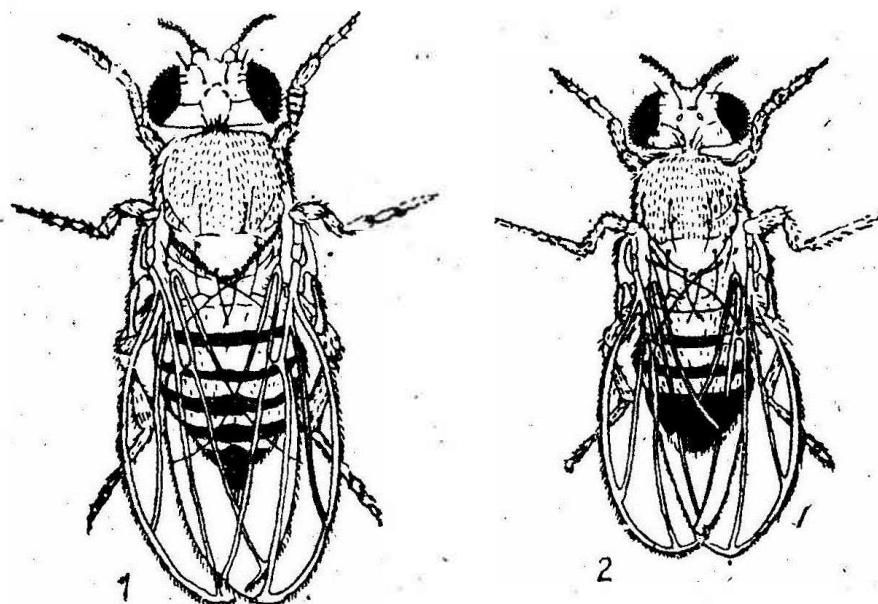
Hình 23—Dụng cụ gây mê ruồi và ống nghiệm nuôi ruồi.

1. Dụng cụ gây mê ruồi; 2. Ống nghiệm nuôi ruồi.

Khi cần gây mê ruồi lấy một miếng bông có tẩm *ete etilic* (khoảng 0,25ml *ete etilic*) cho vào trong bình tam giác. Dùng nút có phễu thủy tinh như trên nút lại. Đưa ống nghiệm nuôi ruồi về phía miệng phễu, nhanh chóng mở nút ống nghiệm và dốc ngược vào phễu (chú ý cho miệng ống nghiệm và miệng phễu khít nhau kéo ruồi bay mất). Dùng bút chì gõ nhẹ vào thành ống nghiệm cho ruồi rơi xuống phễu. Chú ý quan sát ở đáy cuống phễu (nơi có lớp vải màn chắn), nếu thấy ruồi bất động thì đổ ngay ra một mảnh giấy lọc để quan sát. (Nếu để lại, ruồi bị mê nặng và có thể chết).

1.4. Xác định con ♂ và con ♀.

Giới tính của ruồi có thể dễ dàng xác định bằng mắt thường hay tốt hơn thì dùng kính lúp (hình 24).



Hình 24—*Drosophila Melanogaster*.

1. Con ♀; 2. con ♂.

Con ♂ nhỏ hơn con ♀, chỏm bụng của nó là 1 dải rộng màu thẫm. Con ♀ lớn hơn, bụng rộng, trên đó có 5 vạch ngang thẫm màu. Phần chỏm bụng nhọn hơn con ♂.

2. Công việc chuẩn bị cho lai cá cảnh :

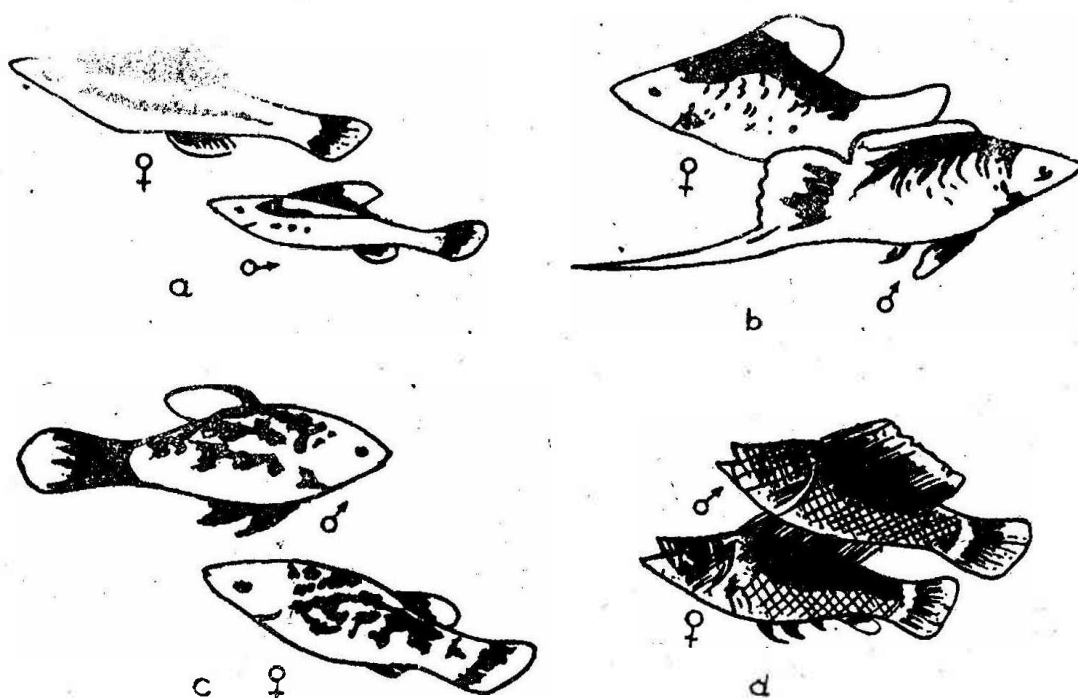
2.1. Kiểm tra độ thuần của giống :

Mọi đối tượng dùng trong phân tích di truyền phải thuần chủng. Đối với cá cảnh—một đối tượng không do các cơ quan nhân giống chuyên nghiệp đảm nhận như ruồi dấm mà phải mua của các gia đình, bởi vậy trước khi tiến hành thí nghiệm phải kiểm tra độ thuần của giống bằng cách: chọn mua những cá bố mẹ còn trinh (21 ngày tuổi: lúc bắt đầu phân biệt được con ♂ và con ♀). Tách cá ♂ và cá ♀ để nuôi riêng.

Lúc 4–5 tháng tuổi thì xếp từng cặp có cùng tính trạng muốn nghiên cứu với nhau nuôi trong bể riêng và theo dõi sự di truyền tính trạng trong 5 thế hệ.

2.2. Xác định con ♂ và con ♀ :

+ Không tước: cá ♂ trưởng thành dài 3cm, mình thon dài có màu sắc đa dạng lù lù dờng với những chấm màu xanh, đen, đỏ, số lượng thay đổi năm sau nấp mang hoặc trên đường bên. Cá ♀ trưởng thành dài 5cm, mình to hơn, màu xám ôliu (hình 25a).



Hình 25 — Phân biệt ♂, ♀ ở cá cảnh.

a) Không tước; b) cá kiếm; c) cá mún; d) Hắc mô ni.

Cá kiếm có những giống đỏ, xanh, đen, hoa. Con ♂ dài 4cm, vây đuôi có kiếm.

Con cái dài 5cm, đuôi không có kiếm (hình 25b)

+ Cá mún: Có nhiều giống khác nhau về màu sắc thân, cá ♂ dài khoảng 3cm, cá ♀ dài khoảng 4cm và cũng có các màu như ở cá ♂.

Về hình dạng vây: Con ♀ và ♂ đều có vây đuôi hình rẽ quạt nhưng vây hậu môn thì ở con ♂ hẹp, kéo dài con cái hình rẽ quạt (Hình 25c).

+ Hắc mô ni: việc phân biệt con ♂ và con ♀ thông qua vây hậu môn: ở con ♀ hình rẽ quạt, còn ở con đực hẹp hơn và kéo dài thành cơ quan giao cấu (Hình 25d).

2.3. Thu nhận cá ♀ còn trinh.

Cá đẻ ra được khoảng 21 ngày (khi có thể phân biệt rõ ♂, ♀) thì tách nuôi riêng cá ♂ và ♀ để chuẩn bị cho lai.

2.4. Nuôi dưỡng và chăm sóc cá.

Các loài cá trên đều có chung đặc điểm sinh học, do vậy cách nuôi dưỡng chúng và chăm sóc như nhau.

+ Cho ăn: số lượng và chất lượng thức ăn có một ý nghĩa rất lớn đối với sự sinh trưởng và phát triển của cá. Thức ăn chủ yếu của chúng là động vật và một phần thực vật. Đối với các thức ăn dễ thối rữa cần cho ăn thành bữa. Cá con cho ăn 2 lần trong 1 ngày. Cá trưởng thành 3 lần/1 ngày. Loại thức ăn này không nên để thừa trong bể. Thí dụ như lòng đỏ trứng gà, nếu để thừa trong bể sẽ thối rữa tạo thành H_2S là một chất gây độc cho cá.

Các loại thức ăn là sinh vật sống có thể dự trữ trong bể nuôi như giun đỏ, thảo trùng, giáp xác và các loại rong tảo.

Theo kinh nghiệm của bộ môn giáo học pháp sinh học, Trường đại học sư phạm Hà Nội 1 thì đối với cá dưới 2 tuần tuổi có thể cho ăn lòng đỏ trứng gà, còn đối với cá trưởng thành thì cho ăn giun đỏ. Số lượng và chất lượng thức ăn thay đổi tùy theo từng giai đoạn phát triển của cá.

Cá con 1 tuần đầu dinh dưỡng chủ yếu phải nhờ vào chất dự trữ nhưng cũng cần bổ sung những loại thức ăn như bột trứng gà.

Tiếp theo có thể cho ăn thảo trùng, thủy tức, luân cầu, giáp xác và giun đỏ. Đối với cá trưởng thành thức ăn chủ yếu là giun đỏ, rong. Thời gian cá gần đẻ cần đảm bảo đủ các loại thức ăn để tránh hiện tượng cá mẹ ăn cá con.

+ Thay nước: nước trong bể nuôi do quá trình hô hấp và bài tiết của cá, sự thối rữa của thức ăn thừa nên rất chóng bẩn. Các chất bẩn là độc tố đối với cá, do vậy cần thay nước làm sạch môi trường cho cá.

Thời gian giữa các lần thay nước tùy thuộc vào nhiệt độ của nước, tính chất của các loại thức ăn, số lượng và kích thước của cá, thường thì về mùa hè 2 ngày thay nước 1 lần, còn về mùa đông thì có thể để 3 — 4 ngày/1 lần.

Khi thay nước cần chú ý không đụng chạm mạnh đến cá, mỗi lần thay nước chỉ nên thay 2/3 lượng nước trong bể. Sau 1 tuần dùng vợt bắt cá ra bể khác để cọ sạch bể và thay hết nước. Khi cho nước sạch vào bể cần khuấy mạnh để tăng thêm lượng oxy hòa tan trong nước.

+ Điều hòa nhiệt độ cho cá: công việc này cần đặc biệt chú ý vào mùa đông, đặc biệt là những ngày nhiệt độ xuống quá giới hạn nhiệt chịu đựng được

của cá, (đối với không tước là 15°C, cá mún và cá kiểem là 12°C). Trong những trường hợp như vậy cần dùng đèn điện hay đèn dầu để sưởi cho cá.

+ Phòng các bệnh của cá:

Cá thường bị nhiều loại bệnh khác nhau, phổ biến nhất là bệnh nấm kí sinh do ăn uống, chăm sóc không cẩn thận phải cho cá ăn đầy đủ để đảm bảo sinh trưởng và phát triển bình thường, làm tăng sức đề kháng của cá. Khi mua, cần chọn kĩ bằng cách nhìn ở mang cá, nếu thấy trong đàn có những con trong mang có các vệt đỏ lẫn các đốm xẫm màu hoặc vây có mốc trắng tức là cá bị nấm, không nên mua.

Cá mới mua về phải nhốt riêng để theo dõi khoảng 1 tuần, nếu không có biểu hiện bệnh mới nhốt chung.

+ Chăm sóc cá đẻ và cá con:

Khi thấy chấm đen dưới bụng cá, cần tạo mọi điều kiện thuận lợi chuẩn bị cho cá đẻ: cho ăn nhiều lần trong một ngày, tốt nhất là luôn luôn có giun dụn trũ trong bể, nước luôn luôn phải sạch, thả thêm trong bể những cây xanh làm nơi ẩn nấp cho cá con.

Trước khi cá đẻ vài ngày, tránh đụng chạm nhiều đến cá mẹ, nhốt riêng cá ♂. Bể nuôi cá đẻ phải lớn hơn bể nuôi cá con và cá ♂, bể càng lớn cá càng dễ hoạt động vì khi đẻ cá thường hay quẫy mạnh. Mặt khác, lượng nước càng nhiều thì càng lâu mới phải thay nước, tránh được sự va chạm mạnh đối với cá.

Cá con mới đẻ ra phải nhốt tách riêng khỏi cá mẹ. Do vậy, tốt nhất là phải theo dõi thường xuyên để tách cá mẹ kịp thời.

Khi mới đẻ, một số ít cá con bị 1 màng mỏng trong suốt bao bọc, bình thường thì tự nó có thể phá vỡ bọc mà chui ra, nhưng cũng có trường hợp chúng không đủ sức làm công việc đó, do vậy phải có người « đỡ đẻ »: dùng một que nhỏ quẩn 1 ít bông ở đầu gạt màng bọc cho cá chui ra. Một tuần đầu sau khi đẻ, cá con dinh dưỡng chủ yếu bằng chất dự trữ nên vẫn phát triển bình thường, ít bị chết. Tuần thứ hai, khi hết chất dự trữ, chúng phải sống nhờ thức ăn bên ngoài, do vậy nếu cho ăn không thích hợp, cá sẽ chết nhiều. Tốt nhất trong giai đoạn này cần cho ăn bột trứng hay động vật nguyên sinh.

3. Kĩ thuật lai nhân tạo thực vật.

Đối với thực vật, nếu mua hạt ở chợ, trước khi lai cũng cần kiểm tra độ thuần của giống từ 3—5 thế hệ. Lai nhân tạo thực vật được thực hiện bằng việc đưa phấn của cây cha lên nhụy hoa cây mẹ do con người tiến hành. Quá trình này bao gồm các bước: chuẩn bị hoa cho lai, khử nhị và thụ phấn. Kĩ thuật chi tiết của việc lai nhân tạo thường là khác nhau phụ thuộc vào đối tượng và đặc trưng của công việc.

Chuẩn bị hoa cho lai: để lai, người ta chọn các cây phát triển khỏe nhất, còn trong cây này thì chọn những chùm hoa, những hoa ra sớm nhất. Việc chuẩn bị các chùm hoa cho lai là loại bỏ tất cả các hoa phát triển không đầy đủ, và những hoa đã tàn, chỉ để những hoa còn lại dùng cho lai. Ngoài ra người ta còn bỏ tất cả các phần của cụm hoa và của hoa làm cản trở đến việc khử nhị và thụ phấn.

Khử nhị: Là việc tách tất cả các bao phấn ra khỏi hao cây mẹ để phần của nó khỏi rơi vào đầu nhụy. Việc khử nhị được tiến hành cả ở cây tự thụ phấn và cây giao phấn. Tất nhiên không cần khử nhị các cây có hoa đơn tính mà ở chúng hoa ♂ hoàn toàn riêng rẽ (thí dụ ở ngô và ở các cây khác). Đối với các loại cây này, công việc chỉ đơn giản là cắt bỏ hoa đực vào những lúc thích hợp. Cần tiến hành khử nhị khi các bao phấn còn chưa chín nhưng đã phát triển đầy đủ. Nếu việc tách các bao phấn được tiến hành muộn thì sự tự thụ phấn có thể đã hoàn thành.

Nhìn chung, khi khử nhị người ta để lại bao hoa (vì nó đóng vai trò quan trọng trong việc nảy mầm của hạt phấn và sự lớn lên của ống phấn). Tuy nhiên, trong một số trường hợp cần thiết khi khó tách các bao phấn ở những cây có hoa rất bé và với mục đích nâng cao hiệu suất lao động thì người ta mới tiến hành khử nhị đồng thời với việc tách cả bao hoa.

Cần nhanh chóng cách li các chùm hoa hay các hoa sau khi đã được khử nhị để ngăn ngừa sự thụ phấn bằng thứ phấn không mong muốn. Để làm công việc này, người ta sử dụng các bao cách li làm bằng polietilen hay giấy dầu. Kích thước của các bao cách li là khác nhau tùy thuộc vào đối tượng nghiên cứu ở chỗ buộc bao, dưới lớp polietilen hay giấy dầu cần lót 1 lớp bông mỏng để ngăn cản sự xâm nhập của sâu bọ.

Thụ phấn: Là việc đưa vào nhụy hoa cây mẹ phấn của hoa cây cha. Việc này được tiến hành sau khi khử nhị 1 vài ngày tùy thuộc vào đối tượng và điều kiện thời tiết. Thời tiết lạnh, trời u ám và mưa nhiều làm chậm trễ sự chín của nhụy và các bao phấn, còn thời tiết khô và nóng thúc đẩy quá trình này nhanh hơn. Việc thụ phấn phải tiến hành vào lúc nhụy hoa hoàn toàn chín và sẵn sàng tiếp nhận hạt phấn. Tuổi của hạt phấn thích hợp nhất cho việc thụ phấn và thời gian sống của nó được xác định theo khả năng tạo hạt của nhụy, tức là được xác định bằng thực nghiệm đối với mỗi loài và mỗi thứ cây. Ở những trường hợp đặc biệt người ta tiến hành thụ phấn lặp lại: đưa hạt phấn lên nhụy liên tục 1 số ngày. Thời gian thuận lợi nhất cho việc thụ phấn là từ 7 – 10 giờ. Không thụ phấn cho hoa vào lúc mưa hay những lúc quá nóng trong ngày.

Hạt phấn được đưa lên nhụy bằng bút lông mềm hay bằng 1 dụng cụ khác nào đó.

3.1. Công việc chuẩn bị cho lai.

— Chuẩn bị túi cách li. Từ những tờ giấy dầu hay những mảnh polietilen cắt một hình chữ nhật có kích thước cần thiết. Gấp đôi, gấp các mép và dán hay khâu lại đối với giấy dầu còn nếu dùng polietilen, thì có thể sử dụng 1 mỏ hàn nóng để dán lại.

— Chuẩn bị nhãn: từ những tờ giấy dầu cắt các dải rộng từ 4–5cm. Sau đó cắt dải giấy thành những đoạn dài 10–12cm. Sử dụng những đoạn giấy này làm nhãn. Mỗi nhãn dùi 1 lỗ ở mép và luồn 1 sợi dây nhỏ hay chỉ khâu để buộc lên cây.

3.2. Lai đậu Hòa lan và Ngô.

+ Đậu Hòa lan.

Gieo các hạt đậu Hòa lan thuộc các thứ đã chọn trong vườn thí nghiệm hàng cách hàng 50–60cm nếu gieo dày quá sẽ không thuận tiện cho việc tiến hành lai. Sau đó, các cây non cần được buộc vào những giá đỡ cứng (có thể làm bằng tre hay nứa).

Ở pha ra nụ, khi các nụ non còn có màu xanh nhạt thì tiến hành khử nhị. Nếu các hoa đã mọc thành 2–3 chiếc một ở nách lá thì ở chúng đã xảy ra tự thụ phấn. Những nụ quá non cũng không thích hợp với việc khử nhị cần loại bỏ. Việc khử nhị cho hoa đậu Hòa lan được tiến hành như sau: bằng các ngón tay trái giữ đài hoa, tay phải dùng pince tách cánh hoa để xuống dưới. Sau đó vứt bỏ tất cả nhị. Các hoa đã được khử nhị của cây mẹ được thụ phấn bằng phấn của cây cho. Việc thụ phấn cho đậu Hòa lan có thể tiến hành ngay sau khi khử nhị. Nếu việc thụ phấn được tiến hành 1–2 ngày sau khi khử nhị tức là lúc nhụy đã chín (điều bắt buộc với đa số cây trồng khác) thì các hoa đã khử nhị phải được phủ bao cách li ngay.

Mang các bao phấn của cây cha để cho hạt phấn tiếp xúc với đầu nhụy của hoa đã được khử nhị, cũng có thể tập trung các hạt phấn của các cây cha vào đĩa petri rồi dùng bút lông mềm đưa phấn vào đầu nhụy hoa mẹ. Các hoa đã được khử nhị và thụ phấn cần được bao bằng bao cách li ngay.

Một vài ngày sau khi thụ phấn, khi hạt bắt đầu hình thành cần bỏ bao cách li. Những hạt trong quả đậu ở năm lai đã là thế hệ hạt lai thứ nhất (F_1), trên chúng có thể quan sát sự biểu hiện của tính trạng trội.

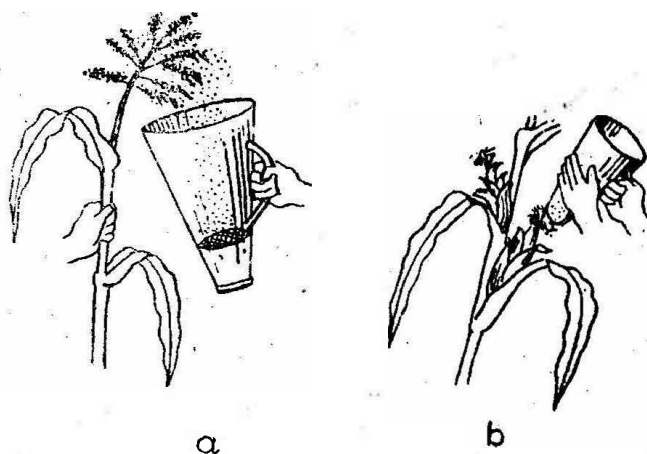
Năm sau, gieo các hạt F_1 mới thành cây F_1 trong quả của chúng do tự thụ phấn tạo nên hạt lai F_2 .

Tập trung các hạt lai F_2 để phân tích sự di truyền của những tính trạng cần nghiên cứu.

+ Ngô:

Gieo các thứ cha mẹ với khoảng cách $60 \times 70 \times 30$ cm và làm sao để cứ 2 hàng cây mẹ thì có 1 hàng cây bố. Cắm 1 bảng ghi nhãn các thứ ở gần hàng ngô gieo. Lúc cây mẹ mới nhú cờ thì rút ngay đi, không để cho bông cờ xòa ra và phơi màu. Lúc bắp mới nhú khỏi bẹ lá, trước khi phun râu thì phải dùng túi cách li bao lại. Khi bắp phun râu, dùng 1 cái phễu bằng bìa, miệng rộng, đáy nhỏ, bịt bằng 2 lần vải màn để giữ hạt phấn không rơi ra trừ khi lắc mạnh. Lấy phấn vào lúc 7–8 giờ sáng, làm sớm quá, nhiều sương thì phấn bị vón, làm buổi trưa hay chiều thì không còn phấn: 1 tay đưa phễu lên sát bông cờ, một tay vít bông cờ xuống, ngả vào miệng phễu rồi khẽ rung cho hạt phấn rơi vào phễu (hình 26a).

Đem phễu phấn tới cây mẹ, đặt tròn phễu lên râu bắp



Hình 26—Phương pháp thu nhận hạt phấn và thụ phấn ở Ngô

- a) Hứng phấn vào phễu;
- b) Thụ phấn cho bắp phun râu.

và khê lắc, hoặc dùng ngón tay búng phễu cho hạt phần lọt qua vải màn rơi vào râu của bắp. (Hình 26b). Sau khi thụ phấn, dùng túi cách li bao kín bắp lại. Khi râu đã thâm hết thì bỏ túi cách li đi. Mỗi bắp buộc 1 nhãn ghi công thức lai, ngày thụ phấn. Những hạt chín (quả) trên bắp ngô ở năm lai là thế hệ hạt lai F_1 . Trên chúng có thể quan sát được biểu hiện của tính trạng trội. Năm sau gieo hạt F_1 , mọc thành cây F_1 , cho chúng tự thụ phấn bắt buộc sẽ thu được hạt lai F_2 . Tập trung các hạt F_2 để phân tích sự di truyền của những tính trạng cần nghiên cứu.

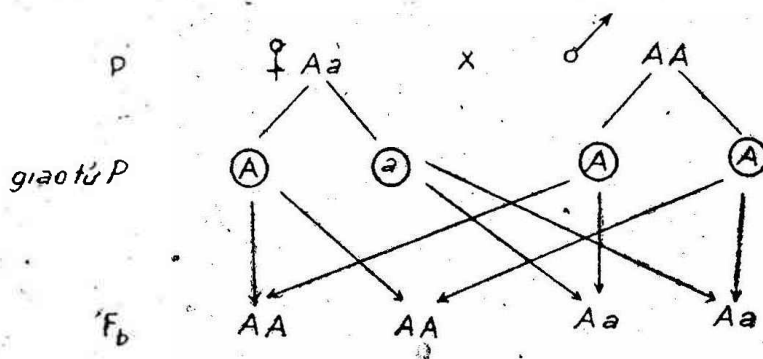
Qua những điều trình bày ở trên ta thấy rằng: những khó khăn cho việc tổ chức các bài thực tập nhỏ về di truyền học và cơ sở chọn giống đặc biệt là đối với phần « các quy luật di truyền và cơ sở di truyền chọn giống » là ở chỗ toàn bộ chu trình các bước tiến hành không thể hoàn thành trong vòng 1 buổi thí nghiệm với khuôn khổ thời gian 3–4 giờ. Cho nên đa số các bài đòi hỏi phải tiếp tục ở những tuần (đối với ruồi dấm), những tháng (đối với cá cảnh) và cả những năm sau (đối với thực vật). Thí dụ để nghiên cứu sự di truyền các tính trạng cha mẹ ở F_1 và F_2 của cây một năm thì phải tiến hành lai ở năm đầu và vào năm thứ 2 mới có cây lai F_1 và chỉ thu được cây lai F_2 ở năm thứ 3 để phân tích đặc trưng phân li. Để kiểm tra dòng thuần ở cá cảnh, ruồi dấm và các loài thực vật phải cần 3–5 thế hệ, như vậy thời gian cũng không phải ngắn. Bởi vậy sinh viên tiến hành thực tập phải đặt các thí nghiệm cần thiết và làm đủ các khâu nhưng phân tích kết quả lại phải dựa vào kết quả của sinh viên các khóa trước hay cán bộ chuẩn bị.

IV – LAI, MỘT TÍNH

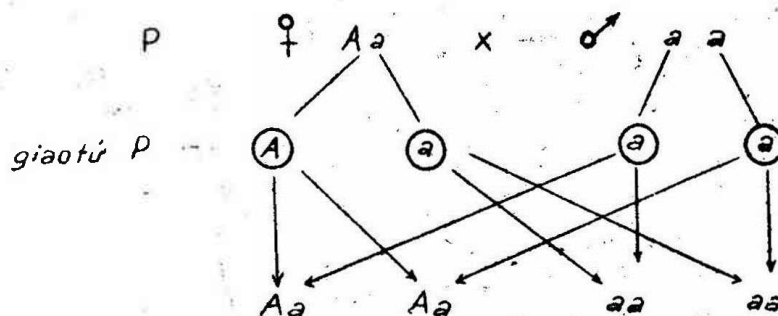
Người ta gọi phép lai trong đó các dạng cha mẹ phân biệt nhau theo một cặp tính trạng tương phản là lai 1 tính.

Trên cơ sở lai 1 tính, Mendel đã trình bày hai định luật đầu tiên của sự di truyền các tính trạng. Định luật thứ 1 của Mendel là định luật tính trội hay định luật đồng hình ở cơ thể lai F_1 . Định luật thứ 2 của Mendel là định luật phân li tính trạng trên cơ sở đó đưa ra giả thuyết « giao tử thuần khiết ».

Phép lai các con lai F_1 với một trong các dạng cha mẹ mà ở nó tính trạng ở dạng « thuần khiết » được gọi là lai ngược (Backcross). Thế hệ lai do lai như vậy được kí hiệu là F_b . Kết quả lai sẽ phụ thuộc vào dạng cha mẹ trội hay lặn được đưa vào lai. Khi lai các con lai với dạng cha mẹ đồng hợp trội sẽ thu được con cái đồng nhất về kiểu hình.



Khi lai các con lai với dạng cha mẹ đồng hợp theo gen lặn thì ở đời con xảy ra sự phân li tính trạng theo tỉ lệ: 1 : 1



Phép lai các con lai với dạng cha mẹ đồng hợp theo gen lặn được gọi là lai phân tích. Nó cho phép tiến hành phân tích di truyền các con lai để kiểm tra tính dị hợp của chúng theo tính trạng nghiên cứu. Sự di truyền một cặp tính trạng trong thí dụ ruồi dấm, cá cảnh, đậu Hòa lan, Ngô sẽ được giới thiệu trong mục này. Để lai ruồi dấm người ta thường lấy ruồi kiểu dại có cánh bình thường Normal (N) và thể đột biến lặn vestigial (vg) có cánh cụt, hay ruồi dại có thân xám và thể đột biến lặn ebony (e) có thân đen. Để lai một tính có thể sử dụng nhiều thể đột biến khác phân biệt rõ ràng với ruồi bình thường thí dụ black (b) thân đen, Lobe (L) mắt thùy, Curved (c) Cánh cong, eyeless (ey) không mắt và những thể đột biến khác. Để lai cá cảnh có thể dùng kiểu mắt xanh với kiểu mắt đỏ, mún xanh với mún đỏ, Khổng tước có chấm màu với khổng tước không chấm màu... Đối với đậu Hòa lan người ta chọn hai thứ khác nhau về một cặp tính trạng như (màu sắc hạt, chiều cao thân...) mẫu vật để phân tích di truyền ở cá cảnh, đậu Hòa lan hay các thực vật khác được lấy từ kết quả của sinh viên các khóa trước hay do cán bộ chuẩn bị.

I. Sự di truyền tính trạng lặn ebony (thân đen) ở ruồi dấm.

1.1. Mục đích:

Làm quen với các định luật di truyền cơ bản (quy luật tính trội và quy luật phân li) khi lai 1 tính. củng cố những kiến thức về việc sử dụng các kí hiệu di truyền và các thuật ngữ ứng dụng trong lai.

1.2. Vật liệu và thiết bị:

Trong buổi thí nghiệm cần chuẩn bị cho mỗi sinh viên những vật liệu và thiết bị sau:

Ruồi dấm bình thường (Normal) và dòng đột biến ebony, ống nghiệm đáy bằng có đường kính 2,5cm – 3cm. Chiều cao 10 – 12cm trong có môi trường dinh dưỡng.

Thiết bị gây mê ruồi

Bông gạc làm nút và lau trong ống nghiệm.

Bút lông

Kính làm bàn có kích thước 18 × 24cm

Mặt kính đồng hồ

Ete etilic

Rượu

Đĩa petri

Mực nho

Quần bút.

1.3. Các bước tiến hành.

Đồ môi trường dinh dưỡng vào ống nghiệm nuôi ruồi, lau sạch phía trong thành ống và nút chặt. Mỗi sinh viên 10 ống (5 ống lai thuận, 5 ống lai nghịch).

Đưa ruồi vào ống nuôi: 2 – 3 con ♀ và 2 con ♂ cho mỗi ống. Bằng một mảnh giấy nhỏ đặt ruồi lên thành ống nghiệm để chúng không bị dính vào môi trường dinh dưỡng. Các ống nghiệm được đặt ở vị trí nằm ngang cho đến khi ruồi hoàn toàn tỉnh.

Ghi sơ đồ thí nghiệm lên thành ống.

P ♀ N × ♂ e
P ♀ e × ♂ N

Khi xuất hiện những con nhộng đầu tiên (sau khi lai một tuần). Cần tách ruồi bố, mẹ ra khỏi ống: mở nút, nhanh chóng đặt miệng ống nghiệm áp sát với 1 ống mới và lật ngược ống cũ dùng đũa con gõ khẽ vào thành ống, khi ruồi bố mẹ đã rơi hết vào ống thì nút lại. Sau 10–12 ngày, khi xuất hiện thế hệ đầu tiên (tốt nhất là sau 2 tuần) quan sát tất cả các ruồi và xác định:

Đặc điểm trội của các tính trạng cha, mẹ. Vai trò của các con mẹ và bố trong việc di truyền các tính trạng trội và lặn.

Tỉ lệ đực, cái.

Tốt hơn hết là đặt chúng lên tấm kính lót giấy và quan sát tất cả bằng kính lúp.

Trong thí nghiệm này, ruồi ebony (thân đen) phân biệt rõ ràng so với ruồi bình thường (thân xám), cho nên cũng dễ dàng quan sát bằng mắt thường. Kết quả đếm các loại ruồi được ghi vào vở theo bảng dưới đây.

N ^o ống	Tổ hợp lai	Ruồi			
		Normal		Ebony	
		♀	♂	♀	♂

Đặt thí nghiệm lai các ruồi F₁ để thu nhận F₂ (5 ống từ các con lai F₁ do lai thuận và 5 ống từ các con lai F₁ do lai nghịch). Cũng như khi lai dạng bố mẹ đưa vào ống 2 – 3 con ♀ và 2 con ♂.

Tổ hợp lai được ghi lên thành ống nghiệm.

F_2 từ F_1 (♀ N × ♂ e)
 F_2 từ F_1 (♀ e × ♂ N)

Đặt thí nghiệm cho lai phân tích (5 ống, để làm việc này, cần lai các ruồi lai F_1 (con ♂ hay con ♀) với dạng cha mẹ đồng hợp lặn tức là ruồi ebony. Các tổ hợp lai là như sau:

P ♀ e × ♂ F_1 (từ N × e)
P ♀ F_1 (từ e × N) × ♂ e

Sau khi lai một tuần, tách tất cả các ruồi bố mẹ ra khỏi ống nghiệm.

Hai tuần sau khi lai, quan sát tất cả các ruồi F_2 , tính toán sự phân li tính trạng màu sắc thân ở các tổ hợp lai khác nhau của thí nghiệm. Đếm số ruồi Normal và Ebony, các số liệu được ghi vào vở:

N ^o ống	Tổ hợp lai	Ruồi F_2	
		Normal	Ebony

Phân tích các dẫn liệu thu được và rút ra các kết luận về:

Sự di truyền tính trạng khi lai thuận và lai nghịch

Tỉ lệ số lượng khi phân li tính trạng ở F_2 và ở lai phân tích

Xác định độ tin cậy của kết quả về sự phân li tính trạng ở F_2 , Để làm việc này cần sử dụng số liệu tổng cộng của tất cả sinh viên trong nhóm. Khi tính toán một số lượng lớn ruồi thì sự phân li ở F_2 sẽ gần với dự đoán lí thuyết.

Đánh giá độ tin cậy của các dẫn liệu thực nghiệm:

Trong thí nghiệm di truyền học, các dẫn liệu thu được về sự phân li của một hay một số tính trạng cần phải so sánh với dự đoán lí thuyết để xác định độ tin cậy của kết quả. Thí dụ, từ phép lai ruồi có thân xám (tính trạng trội) và thân đen (tính trạng lặn) ở F_2 thu được 217 ruồi có thân xám và 87 có thân đen. Các số liệu này có phù hợp với dự đoán lí thuyết khi lai đơn (3 : 1) hay không?

Mức độ tin cậy của các dẫn liệu thực nghiệm được xác định bằng các phương pháp đặc biệt khi xử lí thống kê. Trong số những phương pháp này, phương pháp χ^2 của Pirson—Fisher là phổ biến hơn cả.

$$\chi^2 = \sum \frac{(p - q)^2}{q}$$

Trong đó p: Số thu được trong thực nghiệm

q: Số theo dự đoán lí thuyết.

Dưới đây giới thiệu cách lập bảng để dễ dàng tính toán. Những tính toán trong thí dụ với ruồi dấm nêu ở trên được dẫn ra ở bảng sau đây.

Bảng 6

Tính giá trị χ^2 (lai 1 tính ruồi dấm).

Lớp	p	q	p - q	(p - q) ²	(p - q) ²
Thân xám	217	228	-11	121	0,53
Thân đen	87	76	+11	121	1,59
Tổng cộng	304	304	-	-	$\Sigma = 2,12$

Tính số lượng theo dự đoán lí thuyết như sau: tổng số ruồi ở F_2 là 304 con. Theo quy luật phân li thì ruồi có thân xám chiếm $3/4$ còn ruồi thân đen chiếm $1/4$ tổng số con ở F_2 ta tiến hành tính toán một cách tương ứng:

$$304 \times 3/4 = 228$$

$$304 \times 1/4 = 76$$

Như vậy tỉ lệ số lượng dự đoán lí thuyết là 228: 76 hay 3: 1. Tiếp đến xác định độ lệch (p - q) giữa số liệu thu được trong thực nghiệm và theo dự đoán lí thuyết đối với mỗi lớp. Mỗi số này được bình phương lên (p - q)², ở cột cuối cùng lấy bình phương của độ lệch này chia cho số theo dự đoán lí thuyết. Cộng tất cả các số đề thu được giá trị χ^2 . Bằng phương pháp này nhờ bảng giá trị phân phối χ^2 ta xác định được xác suất cho độ lệch này là ngẫu nhiên hay có quy luật.

Trong bảng giá trị phân phối χ^2 ở dưới các giá trị xác suất được biểu thị bằng đơn vị. Giá trị χ^2 được tính cho 7 bậc tự do. Để sử dụng bảng cần hiểu rõ khái niệm «số bậc tự do» (χ)².

Bảng 7

Giá trị χ^2 các bậc tự do khác nhau

Số bậc tự do (n - 1)	0,99	Xác suất (p)					
		0,95	0,80	0,5	0,2	0,05	0,01
1	0,000 . 157	0,0393	0,0642	0,455	1,642	3,841	6,635
2	0,101	0,103	0,446	1,386	3,219	5,991	9,210
3	0,115	0,352	1,005	2,366	4,642	7,815	11,341
4	0,297	0,711	1,649	3,357	5,989	9,488	13,277
5	0,554	1,145	2,343	4,351	7,289	11,070	15,086
6	0,872	1,635	3,070	5,348	8,558	12,592	16,812
7	1,239	2,167	3,822	6,346	9,803	14,067	18,475

Thí dụ. Lấy tổng của 2 số thành phần: nếu một trong chúng được lấy tùy ý thì số thứ hai sẽ bằng hiệu giữa số tổng và số thành phần thứ nhất. Trong trường hợp này, số bậc tự do bằng 1. Khi có 3 số thành phần mà 2 được lấy tùy ý (số bậc tự do bằng 2) thì số thứ 3 tính được 1 cách dễ dàng.

Trong thí dụ đã dẫn ra với ruồi dấm tỉ lệ các lớp là 3: 1 có thể biểu diễn là 2 số thành phần mà tổng của chúng là 304 cá thể. Mỗi lớp có thể là khác nhau về số lượng (tự do) cho đến khi ta xác định được số lượng cá thể