

الأساس الخلوي للعبور Cytological Basis Of Crossing Over

قدم الدليل الوراثي للارتباط والعبور قبل توضيح الأساس الخلوي لهما . حيث افترض بأن الجينات المرتبطة تترتب ترتيباً خطياً على كروموسوماتها الخاصة وأعتبر العبور الوراثي نتيجة لتبادل أجزاء بين الكروموسومات المتماثلة . وفي البداية لم يمكن برهان هذه النظرية خلويًا لأن الكروموسومات المتماثلة تظهر عند فحصها مجهرياً بأنها متشابهة تماماً ، وكان مستحيلاً ملاحظة تبدل محلات أجزاء الكروموسومات لحين دمج علامات مرئية بالمجهر على الكروموسومات . وأنجز ستيرن Stern عام 1931م البرهان الخلوي للعبور بتجاربه الكلاسيكية على ذبابة الفاكهة ، وكذلك أنجز كريكتون Creighton وماك كلينتوك Mc Clintock عام 1931م نفس الشيء بتجاربهما على الذرة الصفراء .

حصل ستيرن على ذبابات ذات كروموسومات X التي يمكن تمييزها بالمجهر

- حيث لاحظ العالم أن جزءاً من كروموسوم Y قد أنكسر ثم التحق بأحد كروموسومي X في السلالة الأولى .
 - كسر جزء من كروموسوم X بمعاملته بالأشعة السينية ثم ألحق بالكروموسوم الرابع الصغير في السلالة الثانية .
 - عند تلقيح هاتين السلالتين ينتج ذبابات الجيل الأول التي يمكن تمييز كل من كروموسومي X للإناث بالفحص المجهرى ،
 - أصبح من الممكن برهان حدوث العبور خلويًا .
- حيث أخذ ستيرن إناثاً متباينة الامشاج إلى الجين c الذي ينتج العيون القرنفلية Carnation والجين B الذي ينتج العيون القضيبيية Bar ، يرتبط هذان الجينان بكروموسوم X . لقحت هذه الإناث ذات العيون الحمراء اللون والقضيبيية الشكل على الذكور ذات العيون القرنفلية اللون والطبيعية الشكل . درست الأنماط الظاهرية للذبابات الناتجة من هذا التلقيح وعزلت الذبابات الحاملة على تراكيب جديدة الناتجة من العبور ، وعند فحص خلايا هذه الذبابات بالمجهر أظهرت تبدل في كروموسومي X ناتج من تبادل بين الكروموسومات المتماثلة أثناء الانقسام الميوزي وبذا قدم الأساس الفيزيائي أو الخلوي للعبور .

تشابه نتائج كريتون وماك كلينتوك مع نتائج ستيرن . حيث استخدموا عقدة على نهاية كروموسوم معين وشذوذ مرئي على الكروموسوم المماثل له كعلامات خلوية في الذرة الصفراء .

الكشف عن الارتباط والعبور Detection of Linkage and Crossing Over

يوجد طريقتان مناسبتان لتعيين الارتباط والعبور في الكائنات الحية ثنائية المجموعة الكروموسومية :

1. طريقة دراسة معلومات التلقيح الاختبار Test cross data

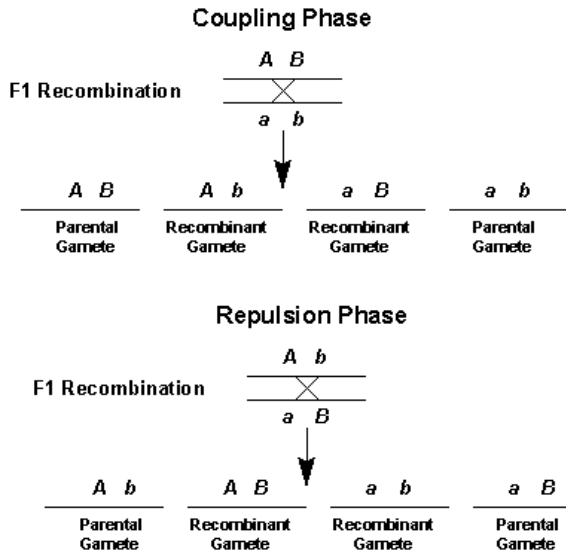
2. طريقة دراسة معلومات الجيل البنوي الثاني F₂ generation data

الفائدة الرئيسية من طريقة دراسة معلومات التلقيح الاختباري هو تجهيزها لنسب بسيطة ، والتي تكون

1 : 1 : 1 : 1 في حالة حدوث التوزيع الحر لجينين

مختلفين

فمثلاً:



1. يقع الجين **vg** للجناح الأثري في ذبابة الفاكهة من

نوع *D. melanogaster* على الكروموسوم الثاني.

2. بينما يقع الجين **e** للجسم الابنوسي اللون على

الكروموسوم الثالث .

3. في إحدى التجارب **لُفحت أنثى طبيعية النمط**

الظاهري ومتماثلة الأمشاج بذكر أثري الجناح وابنوسي

الجسم ثم **لُفحت إناث F₁ بذكور أثرية الأجنحة وابنوسية الجسم المتنحيتين** .

4. نتجت النسبة 1 : 1 : 1 : 1 وهي المتوقعة عندما يكون الجينان **vg** و **e** غير مرتبطين وبما أن النسبة

1 : 1 : 1 : 1 تكون خاصية التوزيع الحر ، فالجينات الغير معروف موقعها وتعطي مثل هذه النتائج في

تلقيح الاختبار ، يمكن الافتراض بأنها تقع على كروموسومات مختلفة . بينما يدل الانحراف المهم إحصائياً

(المعين باختبار χ^2) عن النسبة 1 : 1 : 1 : 1 على شيء ما غير الانعزال الحر ، ويكون الارتباط البديل

الأكثر احتمالاً .

5. **يمكن توضيح البديل للانعزال الحر بالتجربة التالية :**

• في ذبابة الفاكهة **لُفحت أنثى متماثلة الزيجة ذات أجنحة مستقيمة (نمط بري) وجسم رمادي (نمط**

بري) بذكر ذو أجنحة متجعدة Curled (وهي متنحية إلى الأجنحة المستقيمة ويرمز لها بـ cu) وجسم

ابنوسي Ebony (وهو متنحي للجسم الرمادي ويرمز له بـ e) ونتجت إناث F₁ التي لُفحت بذكور ذات

أجنحة متجعدة وجسم ابنوسي (أي تلقيح اختبار) فنتجت نسبة مقارنة إلى 1:4:1:4

أربعة مستقيمات ، رمادي : واحد مستقيمة ، ابنوسي : واحد متجعدة ، رمادي : أربعة متجعدة ، ابنوسي .

تدل هذه النتيجة على أن **cu** و **e** كانتا على نفس الكروموسوم في F₁ وبطور الأزواج Coupling

phase .

• بتجربة أخرى كان التلقيح بين إناثاً ذات أجنحة مستقيمة وأجساماً ابنوسي وذكوراً ذات أجنحة متجعدة

وأجساماً رمادية .

ثم لُفحت إناث F₁ بذكور تحمل الصفتين المتنحيتين (وهذا هو تلقيح اختبار أيضاً) .

أعطت نتائج تلقيح الاختبار نسبة مقاربة إلى 1:4:4:1

واحد مستقيمة ، رمادي : أربعة مستقيمة ، ابنوسي : أربعة متجعدة ، رمادي : واحد متجعدة

ابنوسي كالمتوقع عندما يكون ترتيب الجينين بطور التنافر Repulsion phase في F_1 .

بعد معرفة إن جينين يقعان على نفس الكروموسوم ، يتم تقدير موقعهما النسبي بواسطة حساب تردد

العبور بينهما . وعند تحويل نسبة العبور إلى موقعهما النسبي في الكروموسوم يكون نسبة واحدة من

التراكيب الجديدة تساوي وحدة مسافة واحدة على خريطة الارتباط . ويكون عدد وحدات العبور بين مكانين

Two Loci لجينين مساوياً لنسبة الذرية التي تنتج من التبادل بين المكانين . فإذا حصلنا على أرقام مثالية (

40 مستقيمة ، رمادي و 10 مستقيمة ، ابنوسي و 10 متجعدة ، رمادي و 40 متجعدة ، ابنوسي) للتجربة

السابقة بطور الازدواج فيمكن تمييز الأنماط الأبوية والتراكيب الجديدة كما يلي :

مستقيمة ، رمادي 40 أنماط أبوية Parental types

متجعدة ، رمادي 10 تراكيب جديدة Recombinations

مستقيمة ، ابنوسي 10 تراكيب جديدة Recombinations

متجعدة ، ابنوسي 40 أنماط أبوية Parental types

وعند دمج الأنماط الأبوية ينتج 80 % ، وعند دمج التراكيب الجديدة ينتج 20 % . وعليه تكون قوة

الارتباط بين هذين المكانين 80 % والتراكيب الجديدة 20 % . وتكون نتائج تلقيحات طور التنافر مشابهة

إلى نتائج تلقيحات طور الازدواج . استعملت أرقام مثالية في المثال المذكور أعلاه لتوضيح فكرة حساب

الارتباط والعبور إلا إن المعلومات (الأرقام) من التجارب الحقيقية لا تكون منتظمة مثل انتظام الأرقام

المثالية . وأول معلومات حصل عليها باتسون وبونيت التي أوضحت الانحراف عن الانعزال الحر كانت

من جيل F_2 الناتج من تلقيح ثنائي الهجين في البازلاء . ومثل هذه المعلومات تكون صحيحة بنفس درجة

صحة المعلومات من تلقيح الاختبار لاكتشاف الارتباط وتقدير درجته ، ولكن دراستها أكثر إرباكاً بسبب

النسبة 9 : 3 : 3 : 1 الأكثر تعقيداً من النسبة 1 : 1 : 1 : 1 التي تقارن النتائج معها . إلا إن معلومات F_2

من تلقيح ثنائي الهجين قد يحصل عليها بسهولة أكثر من معلومات تلقيح الاختبار في بعض الأنواع وخاصة

في النباتات ذات الإخصاب الذاتي كالحنطة والشعير ، حيث يكون إجراء تلقيح الاختبار متعباً ومستهلكاً

للوقت في هذه النباتات بإزالة المتوك والتلقيح باليد ، بينما يكون من السهل جداً السماح لي نباتات F_1

للإخصاب الذاتي لإنتاج نباتات F_2 . ويوجد طريقتان لتقدير درجة الارتباط من معلومات F_2 .

طرق تقدير درجة الارتباط

أ . طريقة الجذر التربيعي Square Root Method

يمكن استعمال تردد الأنماط الظاهرية المتنحية المزدوجة (مثل rr ss) في F_2

* لتقدير تردد الأمشاج التي لم يحصل فيها العبور عندما يكون F1 في طور الازدواج باستخدام الجذر التربيعي لتردد المتنحيات المزدوجة في F2 مضروب في 2 ثم يطرح العدد الناتج من واحد فينتج قيمة العبور التي يمكن تحويلها إلى نسبة مئوية .

*لتقدير تردد الأمشاج التي يحصل فيها العبور عندما يكون F1 في طور التنافر الذي يساوي الجذر التربيعي لتردد المتنحيات المزدوجة في F2 مضروب في 2 ثم يحول العدد الناتج إلى نسبة مئوية .

ب . طريقة نسبة الحاصل Product-ratio method

تستعمل بهذه الطريقة جداول خاصة وطرق حسابية تتضمن تردد الأنماط الظاهرية الأربعة في F₂ الناتجة من تلقيح ثنائي الهجين وهي **R-ss , R-S-, rr ss , rr S-** والتي يرمز لها بـ **a , b , c , d** على التوالي :

$$x = \frac{b \cdot c}{a \cdot d}$$

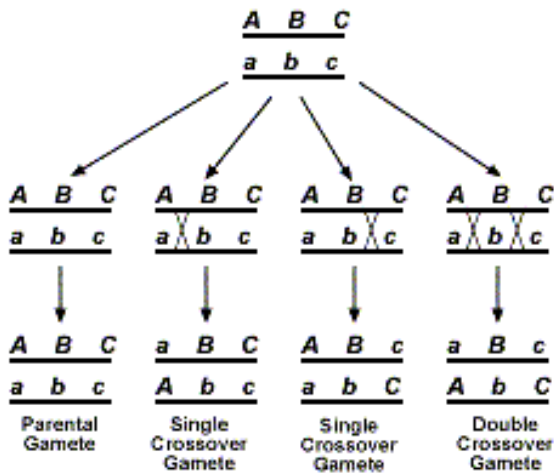
لمعلومات الازدواج :

لمعلومات التنافر يستخدم نفس القانون

ويطلق على x نسبة الحاصل Product ratio وباستعمال جداول نسبة الحاصل يمكن استخراج ما يقابل قيمة x من نسبة العبور أو التراكيب الجديدة .

تلقيح الثلاثة نقاط Three-point cross

Parental and Recombinant Gametes Derived from Three-Point Crosses



يمكن إجراء التلقيح الثلاثي النقاط في حالة توفر ثلاثة جينات (a, b, c) التي تقع في نفس زمرة الارتباط لغرض تعيين المسافات بينهم ومواقعهم النسبية ورسم الخريطة الوراثية . يتوقع من التلقيحات بين أفراد تحمل A, B, C بحالة متماثلة الأمشاج مع أفراد تحمل a, b, c وبحالة متماثلة الأمشاج إنتاج ذرية F₁ بحالة متباينة الأمشاج .

ويتوقع من تلقيح الاختبار لـ F₁ بأفراد متنحية (c ,

a, b) ومتماثلة الزيجة أنتاج ذرية التي يمكن تصنيفها إلى أنماط أبوية وتراكيب جديدة . ولثلاثة جينات مرتبطة ، تنحرف النتائج المتوقعة عن النسبة $1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1 : 1$ الناتجة من تلقيح ثلاثي الهجين وبافتراض التوزيع الحر .

ففي إحدى تجارب ذبابة الفاكهة لقحت إناث التي تحمل ثلاثة جينات متنحية وبحالة متماثلة الأمشاج

وهي **cu** (الأجنحة المتجعدة **Curled wings**) و **sr** (الجسم المخطط **Striped body**) و **e** (الجسم الابنوسي **Ebony body**)

بذكور تحمل الجينات السائدة وبحالة متماثلة الأمشاج وهي :

cu⁺ (مستقيمة الأجنحة **Straight wings**) و **sr⁺** (الجسم غير مخطط **Not striped**) و **e⁺** (الجسم الرمادي **Gray**)

ثم اجري تلقيح الاختبار لإناث F₁ بذكور تحمل الصفات المتنحية : الأجنحة المتجعدة ، الجسم المخطط ، الجسم الابنوسي ، ونتجت الأنماط الظاهرية والوراثية وبالشكل التالي :

1. مستقيمة ، غير مخطط ، رمادي

2. متجعدة ، مخطط ، أبنوسي

3. مستقيمة ، مخطط ، أبنوسي

4. متجعدة ، غير مخطط ، رمادي

5. مستقيمة ، غير مخطط ، أبنوسي

6. متجعدة ، مخطط ، رمادي

7. مستقيمة ، مخطط ، رمادي

8. متجعدة ، غير مخطط ، أبنوسي

وتتبع الخطوات الأساسية التالية لتحليل نتائج تلقيح الثلاثة نقاط :

1. تعين الأنماط الوراثية بملاحظة أكثر الصنوف ترددا لذرية تلقيح الاختبار وهما **الصف 1**

والصف 2

2. تعين التراكيب الجديدة المزدوجة **Double recombinants** بملاحظة أقل الصنوف ترددا في

ذرية تلقيح الاختبار وهما **الصف 7 والصف 8** ويستفاد من هذين الصنفين لتعيين الترتيب الصحيح

للجينات على الكروموسوم باتباع الطريقة التالية :

• يعين الجين في الصنفين المزدوجين الذي يختلف عن التركيب الوراثي الأبوي .

• ثم يوضع هذا الجين بالوسط وتكون النتيجة الترتيب الصحيح للجينات على الكروموسوم .

• ويمكن توضيح ذلك من المثال المذكور حيث تكون **cu sr e⁺** , **cu⁺ sr⁺ e⁺** تراكيب أبوية . ويختلف

الجين **sr** في الصف 7 والجين **sr⁺** في الصف 8 عن التراكيب الأبوية ، وعليه يكون الجين **sr** بالوسط

وينتج أن الترتيب **cu sr e** أو الترتيب **e sr cu** صحيحين .

• يمكن أتباع طريقة أخرى لمعرفة الترتيب الصحيح للجينات الثلاثة على الكروموسوم وذلك بافتراض

ثلاثة ترتيبات لإناث F₁ وحصول العبور المزدوج **Double crossing over** في كل ترتيب ثم مقارنة

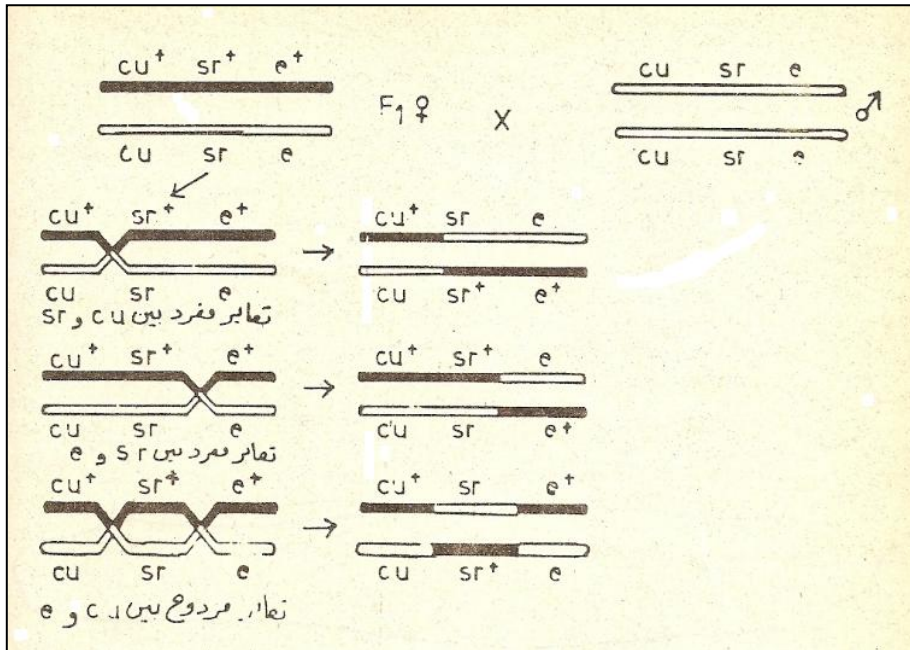
نتيجة مع التركيب الجديد المزدوج المنظور (الصفة 7 والصفة 8) فالترتيب الذي يعطي التركيب المزدوج المنظور هو الترتيب الصحيح.

3. تحسب النسب المئوية للعبور بين الجينات من المعادلة التالية :

$$\text{نسبة العبور بين جينين} = \frac{\text{عدد الذبابات التي تحمل تراكيب جديدة بين الجينين}}{\text{المجموع الكلي للذبابات}} \times 100$$

وتعكس هذه النسب وحدات المسافات بين الجينات على الكروموسوم اللازمة لإعداد خريطة

الكروموسوم الوراثة . يمكن البدء بمنطقة $sr\ cu$ شكل المرفق حيث ينتج العبور المفرد Single crossing over بين $sr\ cu$ الصنف 3 ، 4 ، 7 ، 8 ، ومجموع أعداد التراكيب الجديدة لهذه الصنف وهو 207 (207 = 2 + 1 + 97 + 107) من المجموع الكلي البالغ 1926 ذبابة . وعليه تكون النسبة المئوية للعبور في المنطقة $cu\ sr$ مساوية إلى $(1926/207) \times 100 = 9,5\%$ وكذلك ينتج العبور المفرد بين $sr\ e$ ، الصنف 5 ، 6 ، 7 ، 8 ويكون مجموع أعداد التراكيب الجديدة لهذه الصنف هو 183 أو $9,5\%$ وكذلك ينتج العبور المفرد بين $cu\ e$ ، الصنف 3 ، 4 ، 5 ، 6 ويكون مجموع أعداد التراكيب الجديدة لهذه الصنف هو 384 أو $20,0\%$. إن حدوث العبور المزدوج Double crossing over بين $cu\ e$ ، ترك نهاية النقاط في الترتيب الأبوي مما قلل المسافة بينهما . أن المسافة الصحيحة بين $cu\ e$ على أساس العبور المفرد هي $9,5 + 10,7 = 20,0$ وحدة . تعتبر مسافة 10 وحدات أو أقل من ذلك حداً سليماً الذي لا يحدث فيه العبور مزدوج في ذبابة الفاكهة . وعليه تبعد $cu\ sr$ 10,7 وحدة مسافة عن sr وتبعد $sr\ e$ 9,5 وحدة مسافة عن e ، وتبعد $cu\ e$ 20,0 وحدة مسافة عن e على الكروموسوم .



تلقيح الثلاثة نقاط في الدروسوفلا وتعايرين مفردين ومعاير مزدوج .

ويمكن الاستفادة من هذه النتائج لإعداد جزء من الخريطة الكروموسوم الثالث الوراثية لذبابة الفاكهة .
وقبل تحليل هذه النتائج لابد لنا أن نتذكر معلومات الهندسة المستوية حول ثلاثة نقاط a, b, c . فإذا كانت
المسافة بين a, c مساوية إلى المسافة بين a, b مضافاً إليها المسافة بين b, c , يستنتج أن النقاط الثلاثة
تقع على خط مستقيم أو تترتب ترتيباً خطياً . وعند تطبيق هذه المعلومات الهندسية على وحدات المسافة
بين الجينات الثلاثة (e, sr, cu) نستنتج بأنها تترتب ترتيباً خطياً على الكروموسوم الثالث .