

Việc tiến hành các thí nghiệm lai và đánh giá kết quả lai có thể theo nhiều cách khác nhau tùy thuộc vào điều kiện cụ thể của từng địa phương. Với bài thực hành này, SGK sẽ trình bày nhiều phương án khác nhau để các trường có thể lựa chọn phương án thích hợp nhất với trường mình. Vì vậy, các mục tiêu nêu dưới đây không nhất thiết phải đạt được cho mỗi bài thực hành.

I - MỤC TIÊU

Tùy theo cách lựa chọn phương án thực hành mà mục tiêu của bài học có thể là một hoặc một số mục tiêu sau đây :

- Rèn luyện kỹ năng bố trí thí nghiệm trong nghiên cứu di truyền học : tự mình bố trí thí nghiệm lai, tạo dòng thuần chủng, đánh giá kết quả thí nghiệm bằng phương pháp thống kê χ^2 .
- Rèn luyện phương pháp nghiên cứu di truyền học thông qua các băng hình, ghi lại quá trình lai tạo giống, sau đó đánh giá kết quả lai được cung cấp bởi các nhà di truyền học hoặc bởi chính các thầy cô giáo.

II - CHUẨN BỊ

- Những trường ở nông thôn hoặc những trường có vườn trường có thể cho học sinh chuẩn bị sẵn đất trồng các cây ngắn ngày (như cà chua) để tiến hành lai giống khi có điều kiện thích hợp.
- Những trường ở thành phố nếu có bể cá cảnh thì có thể chuẩn bị các giống cá cảnh như cá khồng tước (*Lebistes reticulatus* Peters), cá kiếm (*Xiphophorus helleri* Hackel), cá mún (*Platypoecilus maculatus* Gunther), cá hãmôni (*Mollienisia velifera* Regan) hay các loại cá cảnh khác mà địa phương có sẵn.
- Những trường có điều kiện nuôi các dòng ruồi giấm trong phòng thí nghiệm thì có thể tiến hành lai các dòng ruồi đột biến với nhau để theo dõi quy luật di truyền của các tính trạng. Thời gian cho mỗi thế hệ của ruồi giấm (*Drosophila melanogaster*) kéo dài khoảng 2 tuần trong điều kiện nhiệt độ 28 – 30°C.

III - NỘI DUNG VÀ CÁCH TIẾN HÀNH

1. Nội dung thí nghiệm

Trong SGK Sinh học 9, học sinh đã được thực hành về lai giống ở thực vật nên SGK Sinh học 12 chỉ giới thiệu thêm một số thí nghiệm lai đối với một số đối tượng cá cảnh sẵn có ở Việt Nam.

Các thí nghiệm lai cá cảnh :

– Thí nghiệm lai cá kiểng mắt đen với cá kiểng mắt đỏ nhằm cho học sinh kiểm tra xem tính trạng màu mắt ở cá kiểng có phải do 1 gen quy định hay không và kiểu hình mắt đen có phải là trội hoàn toàn so với kiểu hình mắt đỏ hay không.

– Thí nghiệm lai cá mún mắt xanh với cá mún mắt đỏ nhằm cho học sinh kiểm tra xem tính trạng màu mắt ở cá mún có phải do 1 gen quy định hay không và kiểu hình mắt xanh có phải là trội không hoàn toàn so với kiểu hình mắt đỏ hay không.

– Thí nghiệm lai cá khổng tước đực có vây lưng hình dài dài với khổng tước cái không có vây lưng hình dài dài nhằm cho học sinh kiểm tra xem tính trạng hình dạng vây lưng ở cá khổng tước có phải do gen nằm trên NST Y quy định hay không.

2. Cách tiến hành

Tùy theo điều kiện từng trường, bài thực hành có thể được tiến hành tại phòng thí nghiệm của trường hoặc cũng có thể cho học sinh làm thí nghiệm theo từng cá nhân hoặc theo nhóm tại các bể cá cảnh gia đình (tùy theo điều kiện của gia đình học sinh).

Trước khi tiến hành thí nghiệm lai cần tiến hành tạo các dòng thuần chủng và nuôi từng dòng trong các bể cá cách li. Nhiều loài cá cảnh giao phối một lần và đẻ liền mấy lứa nên việc cách li sớm các con cá cái chưa từng giao phối là điều cần đặc biệt chú ý. Để đảm bảo an toàn, chúng ta cần cách li cá đực với cá cái khi cá con đạt 20 ngày tuổi. Khi cá đạt độ tuổi 3 đến 5 tháng thì có thể tiến hành ghép cặp lai.

Nếu nhiều học sinh hoặc nhóm học sinh cùng tiến hành thí nghiệm thì kết quả thí nghiệm được tổng hợp lại và có thể tiến hành xử lý thống kê theo phương pháp khi bình phương (χ^2) để khẳng định tỉ lệ phân li kiểu hình có đúng như mong đợi hay không. Việc xử lý thống kê không bắt buộc học sinh phải làm nhưng giáo viên hoặc những học sinh yêu thích khoa học có thể kiểm tra đánh giá kết quả thí nghiệm và thông báo cho toàn lớp.

Dưới đây, SGK giới thiệu về phương pháp thống kê χ^2 và ứng dụng của nó trong việc xử lý kết quả lai để học sinh tham khảo.

Phương pháp thống kê χ^2

Giả sử trong một phép lai giữa cây đậu Hà Lan hoa đỏ, hạt tròn với cây đậu hoa trắng, hạt nhăn, chúng ta thu được đời con với tỉ lệ phân li kiểu hình như sau : 140 cây hoa đỏ, hạt tròn : 135 cây hoa trắng, hạt nhăn : 110 cây hoa đỏ, hạt nhăn : 115 cây hoa trắng, hạt tròn.

Nếu ta chấp nhận tỉ lệ kiểu hình thu được là 1 : 1 : 1 : 1 thì ta có thể coi đây là phép lai giữa một cây dị hợp tử về hai cặp gen (ví dụ AaBb) với cây đồng hợp tử lặn (aabb) và 2 cặp gen quy định tính trạng màu hoa và hình dạng hạt nằm trên 2 NST khác nhau.

Tuy nhiên, liệu tỉ lệ kiểu hình nói trên có thể xem là 1 : 1 : 1 : 1 hay không ?

Có tiêu chuẩn khách quan nào để đánh giá một tỉ lệ kiểu hình nêu trên đúng là 1 : 1 : 1 : 1 ? Câu trả lời là có và trong trường hợp này cũng như các trường hợp tương tự, các nhà khoa học thường dùng phương pháp thống kê χ^2 hay còn gọi là phép thử χ^2 . Để có thể hiểu rõ cách tính χ^2 , chúng ta hãy quay trở lại với ví dụ trong phép lai trên.

Đầu tiên ta xây dựng giả thuyết H_0 , cho rằng tỉ lệ phân li kiểu hình trong phép lai là 1 : 1 : 1 : 1 và sự sai khác mà ta thu được trong phép lai hoàn toàn do các yếu tố ngẫu nhiên. Sau đó, ta tính giá trị χ^2 theo công thức dưới đây.

$$\chi^2 = \frac{\Sigma(O - E)^2}{E}$$

với O là số liệu quan sát (tỉ lệ phân li kiểu hình của phép lai), E là số liệu lí thuyết (tỉ lệ phân li kiểu hình theo lí thuyết).

Ta có thể lập bảng tính χ^2 cho trường hợp trên như sau :

Bảng 14.1. Cách tính giá trị χ^2

Tỉ lệ kiểu hình	O	E	(O - E) ²	$\frac{(O - E)^2}{E}$
Đỏ, tròn	140	125	225	1,8
Trắng, nhăn	135	125	100	0,8
Đỏ, nhăn	110	125	225	1,8
Trắng, tròn	115	125	100	0,8
Σ	500	500		$\chi^2 = 5,2$

Để có thể tính được xác suất xuất hiện sự sai khác giữa số liệu lí thuyết và thực nghiệm có hoàn toàn do các lí do ngẫu nhiên hay không, ta cần tra bảng phân bố của các giá trị χ^2 dựa trên số bậc tự do. Trong ví dụ này, chúng ta có thể tính bậc tự do (n) bằng cách lấy số kiểu hình trừ đi 1, $n = 4 - 1 = 3$ và với $\chi^2 = 5,2$ ta có thể tra bảng 14.2 để tìm xác suất p của giá trị χ^2 bằng cách dò trên hàng số 3 (chỉ bậc tự do = 3) và tìm xem giá trị 5,2 có lớn hơn hay nhỏ hơn giá trị χ^2 ở cột $p = 0,05$. Nếu giá trị χ^2 nhỏ hơn hoặc bằng giá trị χ^2 ở cột $p = 0,05$ thì ta chấp nhận giả thuyết H_0 và khi đó tỉ lệ phân li thực nghiệm mà ta thu được coi như phù hợp với tỉ lệ phân li lí thuyết. Sự sai khác giữa số liệu lí thuyết và thực nghiệm được xem như là sai sót ngẫu nhiên.

Bảng 14.2. Bảng phân bố giá trị χ^2 : cột đầu chỉ số bậc tự do, hàng trên cùng chỉ mức xác suất (p) tìm thấy giá trị χ^2 ở các bậc tự do tương ứng

$\frac{n}{p}$	0,9	0,5	0,1	0,05	0,01
1	0,016	0,455	2,706	3,841	6,635
2	0,211	1,386	4,605	5,991	9,210
3	0,584	2,366	6,251	7,815	11,345
4	1,064	3,357	7,779	9,488	13,277
5	1,610	4,351	9,236	11,070	15,086

Tìm ở hàng tương ứng với số bậc tự do bằng 3 ta thấy giá trị $\chi^2 = 5,2$ trong ví dụ nhỏ hơn giá trị χ^2 ở cột $p = 0,05$ ($\chi^2 = 7,815$). Như vậy, có thể coi tỉ lệ kiểu hình trong thí nghiệm nêu trên đúng là tỉ lệ 1 : 1 : 1 : 1.

Khi sử dụng phép thử χ^2 , các nhà khoa học thường hay lấy mức xác suất $p = 0,05$ (hay 5%). Nếu giá trị χ^2 của thí nghiệm lớn hơn giá trị χ^2 ở trong cột $p = 0,05$ với bậc tự do tương ứng thì ta bác bỏ giả thuyết H_0 (có nghĩa là sự sai khác giữa số liệu thực nghiệm với số liệu lí thuyết không phải là do yếu tố ngẫu nhiên mà có thể do một nguyên nhân nào khác), còn nếu nhỏ hơn thì ta chấp nhận giả thuyết H_0 .

Ứng dụng phương pháp χ^2 trong đánh giá các kết quả lai

Khi có một kết quả lai cụ thể nào đó, ví dụ kết quả phân li kiểu hình ở đời F_2 cho tỉ lệ phân li kiểu hình 165 quả tròn : 28 quả dài. Liệu đây có phải là tỉ lệ 3 : 1 hay không ? Chúng ta chỉ cần áp dụng công thức tính χ^2 nêu trên rồi tra vào bảng 14.2 với bậc tự do là 1 và mức xác suất bằng 0,05. Nếu giá trị χ^2 của thí nghiệm nhỏ hơn giá trị trong bảng thì ta chấp nhận đó đúng là tỉ lệ 3 : 1 và ngược lại. Các em hãy tự mình áp dụng phương pháp χ^2 để tính xem kết quả lai mà mình thu được có tuân theo tỉ lệ phân li của Mendel hay không.

Quy trình xử lí kết quả thí nghiệm theo các bước sau :

– Lập giả thuyết H_0 . Nếu tiến hành phép lai một tính trạng ở đời F_2 thì giả thuyết H_0 là tỉ lệ phân li kiểu hình thu được đúng là 3 : 1. Sự sai khác giữa tỉ lệ thực nghiệm và lí thuyết hoàn toàn do lí do ngẫu nhiên.

– Lập bảng tính giá trị χ^2 tương tự như bảng 14.1.

– So sánh số liệu χ^2 tính được với số liệu trong bảng 14.2 trên cột $p = 0,05$ với số bậc tự do tương ứng để xem có thể chấp nhận hay bác bỏ giả thuyết H_0 .

– Dùng χ^2 để kiểm định kết quả lai ở các bài tập cho trong SGK theo các bước nêu ở trên.