

实验二 基因分离定律和自由组合定律的验证

201850050 徐培宾

2022 年 4 月 20 日

1 实验目的

通过实验验证分离规律和自由组合规律，掌握果蝇杂交的实验技术，在实验中熟练运用生物统计的方法对实验数据进行分析。

2 实验原理

2.1 基因分离定律

一对等位基因在杂合状态中保持相对的独立性，在配子形成时，按原样分离到不同的配子中去，理论上配子分离比是 1:1，F₂ 代基因型分离比是 1:2:1，若显性完全，F₂ 代表型分离比是 3:1。

控制体色性状的突变基因位于 2 号常染色体，正常体色对黑体完全显性，用正常体色果蝇与黑体果蝇交配，得到 F₁ 代都是正常体色，F₁ 代雌雄个体之间相互交配，F₂ 代产生性状分离，出现两种表现型。

2.2 基因自由组合定律

不同相对性状的等位基因在配子形成过程中，等位基因间的分离和组合是互不干扰，各自独立分配到配子中去，它们所决定的两对相对性状在 F₂ 代是自由组合的，在杂种第二代表型分离比就呈 9:3:3:1。

控制体色性状的突变基因位于 2 号常染色体，正常体色对黑体完全显性，控制眼色性状的突变基因位于性染色体。红眼对白眼完全显性，用黑体红眼果蝇（雌）与正常体色白眼果蝇（雄）交配，得到 F₁ 代都是正常体色，F₁ 代雌雄个体之间相互交配，F₂ 代产生性状分离，出现四种表现型。

3 实验材料

- 用具：显微镜，麻醉瓶，培养瓶，滤纸，毛笔，标签，恒温培养箱
- 材料：野生型果蝇原种、双隐（黑体、残翅）突变型果蝇原种
- 药品：乙醚，乙醇，培养基

4 实验操作

4.1 设计杂交组合

亲本：正交（野生雌 X 双隐雄），反交（双隐雌 X 野生雄）

正交产生的 F1 代继续杂交，产生 F2 代。

4.2 杂交接种

1. 清除成蝇（生长好、接近羽化蛹多者）
2. 清除成蝇后每间隔 10 小时重复收集处女蝇。
3. 杂交接种（次日就要检查，如有死亡及时补救）。杂交瓶上注明：杂交组合、实验日期、实验者姓名。
4. 部分蛹变黑，F1 即将孵出前，移出亲本蝇。亲本蝇冻存（为防止失败，可留存活蝇适当时间），配制新培养基，用于 F1 同胞交配。
5. F1 代果蝇的观察和交配。F1 代果蝇孵出 7-9d 观察统计 F1，并选 5 对再杂交于一个或多个新瓶。
6. F1 杂交一周后，移出 F1 代果蝇。
7. 第一只 F2 代果蝇出现后 10 天内，观察、统计 F2 代的结果，进行分析。

5 实验结果与分析

5.1 杂交结果

表 1: 反交（双隐雌 X 野生雄）

	雄	雌
灰体长翅	17	9
灰体残翅	8	6
黑体长翅	7	3
黑体残翅	0	3
χ^2 检验	2.178	

表 2: 正交（野生雌 X 双隐雄）

	雄	雌
灰体长翅	30	26
灰体残翅	3	5
黑体长翅	4	8
黑体残翅	1	5
χ^2 检验	6.542	

从表中可以看出，数据虽然呈现出比较明显的大小差异，但是不能体现出 9:3:3:1 的分离比，可能是由于果蝇数量少，存在误差。

通过 χ^2 检验可以发现，正交数据差异较为明显。

此外，不同性状的果蝇性别差异较大，可能原因有两个，一是总量过小，存在一定的误差，二是收集在 F3 产生时停止，可能有一部分 F2 未计入数据，导致 F2 的统计数据不正确。

表 3: 反交（双隐雌 X 野生雄）

	雄	雌
灰体	25	15
黑体	7	6
χ^2 检验	6.289×10^{-3}	
长翅	24	12
残翅	8	9
χ^2 检验	114533	

表 4: 正交（野生雌 X 双隐雄）

	雄	雌
灰体	33	31
黑体	5	13
χ^2 检验	0.406	
长翅	34	34
残翅	4	10
χ^2 检验	4111	

从不同性状的统计来看，显性性状和隐性性状之间均可以看出近似 3:1 的特点，通过 χ^2 检验可以发现，灰体和黑体的分离比比长翅和残翅的分离比更明显。

6 总结与讨论

1. 实验中的注意事项：

- 果蝇要麻醉要适度，用毛笔等温和的工具挑取果蝇，以免对果蝇造成伤害；
- 果蝇麻醉后应及时观察，以免果蝇苏醒后飞走；
- 培养基干湿度适中，防止果蝇粘在培养基上，麻醉后的果蝇应轻轻倒回培养瓶，防止沾上培养基；
- 观察性状时要仔细，特别是黑体和灰体的区分要明确；
- 及时收集处女蝇，避免处女蝇在杂交实验前已交配；
- 分工合作，高效地进行实验和数据统计。

2. 为什么长翅-残翅的分离比不明显?

可能原因一是长翅果蝇在收集时飞走了两只，对实验数据产生了一定影响。

二是因为残翅果蝇不能飞行，比较脆弱，可能有部分个体压在培养基中死亡，没有计入数据中。

三是收集在 F3 产生时停止，可能有一部分 F2 未计入数据，导致 F2 的统计数据不正确。

3. 果蝇杂交实验的改良?

- 有条件的情况下，选用更多的果蝇进行饲养，避免因基数少，造成明显的实验误差。
- 选取更好的果蝇收集方式，如可以用离心管收集处女蝇，方便保存并且避免频繁地进入实验室收集^[1]。
- 长时间收集 F2，在确保 F2 收集的雌性全是处女蝇的前提下，收集并处死每次产生的 F2，防止 F3 产生，延长收集时间直至 F2 手机完全。

参考文献

- [1] 张远莉, 庞延军. 果蝇杂交实验中处女蝇收集方法的改进 [J]. 生物学教学, 2018, 43(12): 56-57.