الفصل الثامن

تحاليل: التلقيحات ثنائية الآباء
(تحاليل نورث كارولينا)، والاختبار الثلاثى

تحاليل التلقيحات ثنائية الآباء (تحاليل نورث كارولينا)

تعتمد طريقة تنفيذ تحاليل التلقيحات ثنائية الآباء biparental crosses على اختيار عدد من نباتات الجيل الثانى – أو الثالث – لتلقيح بين سلالتين نقيتين – وتلقيح تلك النباتات المختارة معًا بطريقة محددة.

ويمر تحليل الـ biparental cross بالخطوات التالية:

١ – اختيار الآباء:

يجب أن تختلف الآباء إلى أبعد حد ممكن فى الصفات التى يُراد دراستها، وتفضل السلالات النقية

٢ – إجراء التلقيح وإنتاج بذور الجيل الأول، وزراعتها لإنتاج بذور الجيل الثانى، التى تزرع لإنتاج نباتات الجيل الثانى

٣ – اختيار عدد كبير من نباتات الجيل الثانى عشوائيًا، وتلقيح هذه النباتات معًا بواحد من ثلاثة تصاميم – كما سيأتى بيانه بعد قليل – وحصاد بذور كل تلقيح منفصلة

٤ – تقييم أنسال مختلف التلقيحات التى أجريت بين نباتات الجيل الثنى مستقلة فى مكررات، ثم تجرى القياسات، فالتحليل.

ومن أهم صفات الـ biparental cross، ما يلى:

١ – يعطى معلومات عن كل من التباين الإضافى وتباين السيادة فقط.

٢ – يفيد فى اختيار طريقة التربية لأجل التحسين الوراثى فى الصفات الكمية.

٣ – يعتمد التحليل على الافتراضات الوراثية التالية

أ – التوزيع العشوائى للتراكيب الوراثية فيما يتعلق بالاختلافات.

ب – الاختيار العشوائى للآباء التى تستعمل فى التلقيحات من بين نباتات الجيل الثانى.

جـ – حدوث انعزال عادى لنباتات ثنائية المجموعة الكروموسومية.

د – غياب الوراثة السيتوبلازمية.

هـ – عدم تعدد الآليلات

و – غياب التفوق.

ز – غياب الارتباط.

حـ – بقاء جميع التراكيب الوراثية بنسب متساوية

ونادرًا ما تتحقق كل تلك الافتراضات معًا.

وكما أسلفنا .. توجد ثلاثة تصاميم للـ biparental cross، وهى التى تعرف بأسماء نورث كارولينا ١، ونورث كارولينا ٢، ونورث كارولينا ٣، والتى نتناولها بالشرح فيما يلى.

تصميم نورث كارولينا رقم ١

يمكن تقدير مكونات التباين الوراثى بواسطة ما يعرف بتصميم نورث كارولينا رقم (١) أو NCD 1، أو الـ nested design.

التصميم

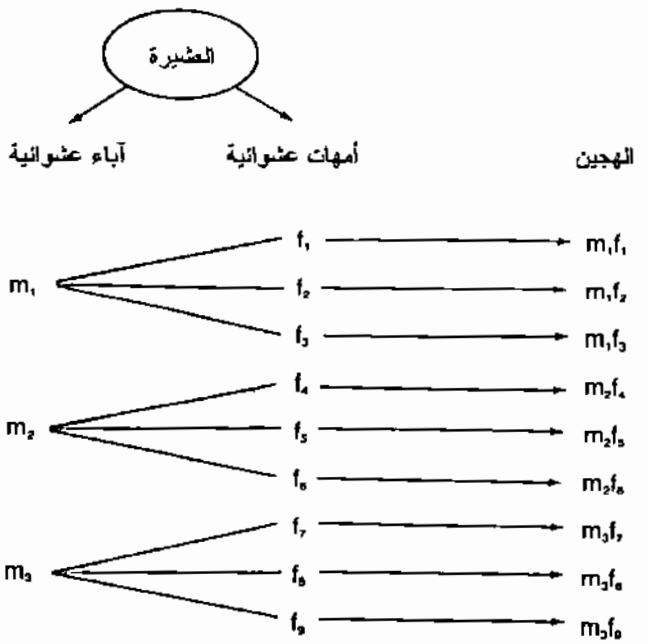
يتضمن الجيرمبلازم الذى يستخدم لهذا التصميم تلقيحات بين نباتات تؤخذ اعتباطا من عشيرة تكثر فيها الاختلافات الوراثية، مع تخصيص بعض هذه النباتات كآباء male parents (P_m)، والبعض الآخر كأمهات famale parents (P_f). يستخدم كل أب (ذكر) فى تلقيح عدد متساو من الأمهات (إناث)، على أن يتم اختيار الآباء والأمهات بشكل اعتباطى، وتستخدم مجموعات مختلفة sets (أو s) من نباتات الأمهات مع كل نبات مستعمل كأب، وبذا يكون عدد التلقيحات الفردية الممكنة مساويًا لعدد الآباء (P_m) مضروبًا فى عدد الأمهات (P_f) التى يتم تزاوجها مع كل أب. فإذا تم تزاوج (١٠) سلالات آباء مع (٥٠) سلالة أمهات، بمعدل خمس سلالات مختلفة لكل سلالة من سلالات الآباء يصبح عدد التلقيحات الفردية ١٠ × ٥ = ٥٠ تلقيحا ويستخدم – غالبًا – تصميم القطاعات العشوائية الكاملة كتصميم إحصائى لدراسة الصفات

ويبين جدول (٨–١) وشكل (٨–١) التلقيحات الممكنة فى حالة وجود أربعة آباء مع تلقيح كل منهم مع أربع أمهات مختلفة.

جدول (٨–١): تخطيط التلقيحات فى تصميم نورث كارولينا رقم ١[أ]

المجموعة الأولى		المجموعة الثانية	
$m_1 \times f_1$	$m_3 \times f_9$	$m_1 \times f_1$	$m_3 \times f_9$
$\times f_2$	$\times f_{10}$	$\times f_2$	$\times f_{10}$
$\times f_3$	$\times f_{11}$	$\times f_3$	$\times f_{11}$
$\times f_4$	$\times f_{12}$	$\times f_4$	$\times f_{12}$
$m_2 \times f_5$	$m_4 \times f_{13}$	$m_2 \times f_5$	$m_4 \times f_{13}$
$\times f_6$	$\times f_{14}$	$\times f_6$	$\times f_{14}$
$\times f_7$	$\times f_{15}$	$\times f_7$	$\times f_{15}$
$\times f_8$	$\times f_{16}$	$\times f_8$	$\times f_{16}$

أ – m، و f هما الآباء والأمهات، على التوالى.



شكل (٨–١): تخطيط يبين كيفية الحصول على الأنسال فى تصميم نورث كارولينا رقم ١ (التصميم المتداخل **nested design**). يلاحظ أن كل أب مذكر يلقح مع أمهات مختلفة من العشيرة (عن Fehr ١٩٨٧).

التحليل

يتم تقسيم التباينات بين التلقيحات إلى تباينات بين الآباء (الذكور)، وتباينات بين الأمهات (لإناث) لكل ذكر، وتكون مصادر التباين ودرجات الحرية في التحليل الإحصائي على النحو التالي.

مصادر التباين	درجات الحرية	التباين
المكررات	r-1	
الذكور	m-1	M_3
لإناث لكل ذكر	m(f-1)	M_2
الخطأ التجريبي	(r-1)(mf-1)	M_1
الكلي	rmf-1	

حيث تمثل (r) عدد المكررات، و (m) عدد نباتات أو سلالات الآباء (الذكور)، و (f) عدد نباتات أو سلالات الأمهات (الإناث) المستخدمة مع كل ذكر، هذا ويعد تباين الذكور ممثلاً للقدرة العامة على التآلف بينما يعد تباين الإناث ممثلاً للقدرة الخاصة على التآلف

وتشتمل توقعات التباينات المختلفة على ما يلي:

أولاً. توقعات مكونات التباين.

$M_3 = V_e + rV_{f:m} + rfV_m$

$M_2 = V_e + rV_{f:m}$

$M_1 = V_e$

ملحوظة القيمة $V_{f:m}$ تعني تباين الإناث داخل الذكور.

ثانيًا توقعات التباينات المشتركة للأقارب.

$M_3 = V_e + r\,(Cov\ FS - Cov\ HS) + rf\ Cov\ HS$

$M_2 = V_e + r\,(Cov\ FS - Cov\ HS)$

$M_1 = V_e$

علمًا بأن Cov FS هو التباين المرافق لعائلات الأقارب التامة، Cov HS هو التباين المرافق لعائلات أنصاف الأقارب، و V_e هو تباين الخطأ التجريبي

وبذا .. يمكن حساب التباين الإضافى (VA) وتباين السيادة (VD)، وذلك بالتعويض فى المعادلتين التاليتين:

$$M_3 = ¼ VA$$
$$M_2 = ¼ VA + ¼ VD$$

وتبعًا لـ Singh & Naryanan (١٩٩٣) .. فإن تحليل التباين لتصميم نورث كارولينا رقم يكون كما هو مبين فى جدول (٨-٢)

جدول (٨-٢): تحليل التباين لتصميم نورث كارولينا رقم ١[أ].

مصادر الاختلافات	درجات الحرية	MS	توقعات الـ MS
المجموعات sets	s-1		
المكررات/المجموعات	s(r-1)		
الآباء/المجموعات	s(m-1)	M_1	$VE + rV_f + rfV_m$
الأمهات/الآباء/المجموعة	sm(f-1)	M_2	$VE + rV_f$
الخطأ التجريبى	s(mf-1)(r-1)	M_3	VE
المجموع	smfr-1		

أ - دلالات الرموز: s = عدد المجموعات، و r = عدد المكررات، و m = عدد نباتات الآباء، و f = عدد نباتات الأمهات، و V_m = تباين الآباء، و V_f = تباين الأمهات، و E = تباين الخطأ التجريبى

العيوب

من أهم عيوب تصميم نورث كارولينا رقم ١، ما يلى:

١ - تتأثر نتائجه بالوراثة السيتوبلازمية

٢ - تلزمه مساحة تبلغ ١٠-١٢ ضعف المساحة التى تلزم لتصميم نورث كارولينا رقم ٣.

٣ - يعد أقل تصاميم نورث كارولينا قوة.

هذا .. ويمكن إجراء التصميم بالطريقة التى سبق بيانها مع زراعة عدد K من النباتات فى كل قطعة تجريبية (Plot) وإجراء تحليل التباين على النحو التالى.

مصادر الاختلافات	درجات الحرية	توقعات متوسط المربعات
الذكور	m-1	$V + kV_i + rkV_{Dm} + nrkV_m$
الإناث لكل ذكر	m(f-1)	$V + kV_i + rkV_{Df}$
القطع التجريبية لكل ذكر ولكل انثى	Mf(r-1)	$V + kV_i$
الخطأ التجريبى	Mfr(k-1)	V
الكلى	Mfrk-1	

علمًا بأن

V = مجموع التباين الوراثى، والتباين البيئى داخل القطع التجريبية

V_i = تباين تأثير القطع التجريبية

V_f = تباين تأثير الأمهات

V_m = تباين تأثير الآباء الذكور

ويحسب التباين الإضافى (VA) وتباين السيادة (VD) كما يلى

¼ VA = V_m

¼ VA + ¼ VD = V_f

تصميم نورث كارولينا رقم ٢

يعرف تصميم نورث كارولينا رقم ٢ North Carolina Design 2 (أو NCD2) كذلك باسم التصميم العاملى factorial design، وهو شبيه بال line x tester analysis

التصميم

تُخصص فى هذا التصميم بعض التراكيب الوراثية التى تختار من عشيرة تكثر فيها الاختلافات الوراثية كآباء (ذكور)، والبعض الآخر كأمهات (إناث)، مع إعطاء الفرصة لكل أب لأن يتلقح مع كل أم، ولكن لا تلقح الآباء مع بعضها كما لا تلقح الأمهات مع بعضها كذلك، وبذا يكون عدد التلقيحات الفردية الممكنة مساويًا لعدد الآباء (P_m)، مضروبًا فى عدد الأمهات (P_f)؛ فلو كان عدد الآباء ثمانية، وكان عدد الأمهات ستًا، يكون عدد التلقيحات الفردية الممكنة ٨ × ٦ = ٤٨ تلقيحًا (جدول ٨-٣، وشكل ٨-٢)

جدول (٨–٣): تخطيط التلقيحات فى تصميم نورث كارولينا رقم ٢، يتضمن ٦ آباء، و ٤ أمهات.

الآباء	نباتات الأمهات			
	f_1	f_2	f_3	f_4
m_1	×	×	×	×
m_2	×	×	×	×
m_3	×	×	×	×
m_4	×	×	×	×
m_5	×	×	×	×
m_6	×	×	×	×

	f_1	f_2	f_3
m_1	×	×	×
m_2	×	×	×
m_3	×	×	×

شكل (٨–٢): تخطيط يبين كيفية الحصول على الأنسال فى تصميم نورث كارولينا رقم ٢. تلقـــح جميع الآباء مع جميع الأمهات.

التحليل

تقسم التباينات بين التلقيحات إلى تباينات بين الآباء (الذكور)، وتباينات بين الأمهات (الإناث)، والتفاعل بين الذكور والإناث ويمكن اعتبار التباين المرافق بين عائلات أنصاف الأقارب أنه $Cov\ HS_D$ عندما يكون الأب (الذكر) مشاركاً فى كل التلقيحات، و $Cov\ HS_F$ حينما تكون الأم (الأنثى) مشاركة فى كل التلقيحات. علمًا

بأنه تتساوى مكونات التباين المرتبطة لكل منهما، أى إن مكونات التباين الوراثى الخاصة بكل من التباينين المتركبين تكون متماثلة بينهما

وتكون مصادر التباين ودرجات الحرية فى التحليل الإحصائى، كما يلى:

مصدر التباين	درجات الحرية	التباين
المكررات (r)	r-1	
الذكور (m)	m-1	M_4
الإناث (f)	f-1	M_3
الذكور × الإناث	(m-1)(f-1)	M_2
الخطأ التجريبى	(r-1)(mf-1)	M_1
الكلى	rmf-1	

وتكون توقعات التباينات المختلفة على النحو التالى

أولا توقعات مكونات التباين

$M_1 = V_e + rV_{fm} + rfV_m$

$M_2 = V_e + rV_{fm} + rmV_f$

$M_3 = V_e + rV_{fm}$

$M_4 = V_e$

ثانيا توقعات التباينات المشتركة للأقارب

$M_4 = V_e + r(Cov\ FS - Cov\ HS_m - Cov\ HS_f) + rf\ Cov\ HS_m$

$M_3 = V_e + r(Cov\ FS - Cov\ HS_m - Cov\ HS_f) + rm\ Cov\ HS_f$

$M_2 = V_e + r(Cov\ FS - Cov\ HS_m - Cov\ HS_f)$

$M_1 = V_e$

حيث يمثل (V_e) تباين الخطأ التجريبى، و (Cov FS) التباين المرافق لعائلات الأقارب التامة، و ($Cov\ HS_m$) التباين المرافق لعائلات أنصاف الأقارب حينما تكون الأم (الأنثى) مشتركة فى كل التلقيحات، و (Cov HS) التباين المرافق لعائلات أنصاف الأقارب، حينما يكون الأب (الذكر) مشاركاً فى كل التلقيحات (عن Sprague ١٩٦٦، و Fehr ١٩٨٧)

وعندما تكون الآباء (الذكور والإناث) سلالات مربأة تربية داخلية (أى حينما تكون قيمة F مساوية للصفر) .. تكون مكونات التباين الوراثى كما يلى:

$$Cov\ HS_m\ (or\ Cov\ HS_f) = \frac{1}{4}\ VA + \frac{1}{16}\ VAA$$

ويضاف إلى الجانب الأيمن من المعادلة الدرجات الأعلى من تباينات التفوق الإضافية.

أما حينما تكون الآباء (الذكور والإناث) عبارة عن سلالات مربأة تربية داخلية (أى حينما تكون قيمة (1=F) .. تصبح مكونات التباين الوراثى كما يلى:

$$Cov\ HS_m\ (or\ Cov\ HS_f) = \frac{1}{2}\ VA + \frac{1}{4}\ VAA$$

ويضاف إلى الجانب الأيمن من المعادلة الدرجات الأعلى من تباينات التفوق الإضافية

وتستخدم قيم التباينات المرافقة المستقلة لعائلات أنصاف الأقارب – لكل من الآباء (الذكور) والأمهات (الإناث) – فى إيجاد تقديرين مستقلين للتباين الإضافى (V_A).

أما تقدير تباين السيادة (V_D)، فيمكن الحصول عليه من العلاقة التالية:

$$Cov\ FS - (Cov\ HS_m + Cov\ HS_f) = VD$$

علمًا بأن:

$$V_{mf} = V_e + r(Cov\ FS - Cov\ HS_f - Cov\ HS_m)$$

حيث تمثل (V_{mf}) تباين التفاعل بين الذكور والإناث، و (V_e) تباين الخطأ التجريبى، و r عدد المكررات المستعملة فى التصميم الإحصائى (عن Fehr ١٩٨٧).

وبصورة أخرى .. فإن:

$M_4 = \frac{1}{4}\ VA$

$M_3 = \frac{1}{4}\ VA$ (تقدير آخر مستقل)

$M_2 = \frac{1}{4}\ V_D$

وتبعًا لـ Singh & Naryanan (١٩٩٣) .. فإن تحليل التباين لتصميم نورث كارولينا رقم ٢ يكون كما هو مبين فى جدول (٨–٤).

جدول (٨-٤) تحليل التباين لتصميم نورث كارولينا رقم ٢[1]

مصادر الاختلافات	درجات الحرية	MS	توقعات الـ MS
المجموعات	s-1		
المكررات	s(r-1)		
الآباء	s(m-1)	M_1	$VE + rV_{fm} + rfV_m$
الأمهات	s (f-1)	M_2	$VE + rV_{fm} + rmV_f$
الآباء × الأمهات	s(m-1)(f-1)	M_3	$VE + rV_{fm}$
الخطأ التجريبي	s(mf-1)(r-1)	M_4	VE
الكلي	smfr-1		

أ - دلالات الرموز s = عدد المجموعات، و r = عدد المكررات، و m = عدد نباتات الآباء، و f = عدد نباتات الأمهات، و V_m = تباين الآباء، و V_f - تباين الأمهات، و V_{fm} - تباين التفاعل بين الآباء والأمهات، و VE = التباين البيئي

ومن أهم سمات تصميم نورث كارولينا رقم ٢ ما يلي:

١ - يوفر تبيننا الآباء والأمهات تقديرًا لـ D

٢ - يوفر تباين التفاعل بين الآباء والأمهات تقديرًا لـ H

٣ يتأثر بالوراثة السيتوبلازمية

٤ يتطلب مساحة تعادل ٢-٤ أضعاف المساحة التي يتطلبها تصميم نورث كارولينا رقم ٣

تصميم نورث كارولينا رقم ٣

التصميم

في تصميم نورث كارولينا رقم ٣ North Carolina Design (أو NCDS 3) تختار نباتات عشوائية بين عشيرة الجيل الثاني أو الثالث وتعتبر جميعها نباتات آباء (مذكرة) يلقح كل نبات منتخب رجعيًا مع أبوى التلقيح الأصلي (P_1، و P_2). ويعني ذلك أن كل نبات منتخب يُحصل منه على نسلين، فإذا كان لدينا خمسة نباتات آباء نحصل على ١٠ تلقيحات (جدول ٨-٥)، وتشكل تلك التلقيحات مجموعة set واحدة ويمكن عمل أى عدد من المجموعات المماثلة يكون بكل منها نباتات آباء (مذكرة) مختلفة عما في غيرها من المجموعات.

ويعنى ذلك أن عدد التلقيحات الكلى الذى يلزم فى هذا التصميم يكون 2ns حيث n = عدد نباتات الآباء بالمجموعة، و s – عدد المجموعات

جدول (٨–٥). تخطيط التلقيحات فى تصميم نورث كارولينا رقم ٣.

الآباء	P_1	P_2	الآباء	P_1	P_2
مجموعة I			مجموعة III		
m_1	×	×	m_1	×	×
m_2	×	×	m_2	×	×
m_3	×	×	m_3	×	×
m_4	×	×	m_4	×	×
m_5	×	×	m_5	×	×
مجموعة II			مجموعة IV		
m_1	×	×	m_1	×	×
m_2	×	×	m_2	×	×
m_3	×	×	m_3	×	×
m_4	×	×	m_4	×	×
m_5	×	×	m_5	×	×

التحليل

يقسم التباين بين التلقيحات فى هذا التصميم إلى جزأين (جدول ٨–٦)، كما يلى:

١ – تباين بين الآباء (الذكور) يعادل ½ VD (نصف التباين الإضافى).

٢ – تباين التفاعل بين الآباء والأمهات، ويعادل: ½ VA (نصف تباين السيادة).

السمات المميزة

إن من أهم صفات تصميم نورث كارولينا رقم ٣، ما يلى:

١ – يعطى تباين الآباء تقديرًا للتباين الإضافى.

٢ – يعطى تباين التفاعل بين الآباء والأمهات تقديرًا لتباين السيادة.

٣ – لا يتأثر بالوراثة السيتوبلازمية.

٤ – يتطلب لإجرائه مساحة تقل كثيرًا عما يتطلبه التصميمين الآخرين.

٥ – يعتبر أقوى تصميم، ويليه فى القوة تصميم نورث كارولينا رقم ٢ (عن Singh & Naryanan ١٩٩٣).

جدول (٨ ٦) تحليل تباين لتصميم تورنت كارولينا رقم ٣

مصادر الاختلافات	درجات الحرية	MS	توقعات MS
المجموعات	s-1		
المكررات بالمجموعات	s(r-1)		
السلالات المرباة داخل المجموعة	s		
الآباء بالمجموعة	s(n-1)	M_1	$V_e + 2rV_{s1}$
الآباء بالأمهات بالمجموعة	s(n-1)	M_2	$V_e + rV_{s2}$
الخطأ التجريبي	s(2n-1)(r-1)	M_3	V_e
المجموع	2snr-1		

دلالات الرموز: s عدد المجموعات، و r = عدد المكررات، و n عدد الآباء بالمجموعة و V_{s1} تباين الآباء (الذكور)، و V_{s2} تباين التفاعل بين الآباء والأمهات، و V_e تباين الخطأ التجريبي

تحليل الاختبار الثلاثي

بعد تحسين الاختبار الثلاثي Triple Test Cross Analysis المعد للتصميم تورنت كارولينا رقم ٣. حيث يلقح كل نبات انتخب عشوائيًا من الجيل الثاني بلقيح رجعي، بين كل من أبوية فقط كما في تصميم تورنت كارولينا رقم ٣. وإتمام تحليل الجدول الأول وبذا فهو يوفر معلومات عن كل أنواع التباين الوراثي الغير الإضافي، وتباين السيادة، وتباين التفاعل

يكني نباتات الجيل الثاني المختارة عشوائيًا بأنها آباء (ذكور) males. يسمح بكني سلالتا الآباء (P_1 و P_2) والجيل الأول (F_1) بأنها أمهات (إناث) females وبذا يكون لدينا 3n تلقيحا، حيث n عدد نباتات الجيل الثاني المختارة

تقيم أنسال تلك التلقيحات، ومعها الـ P_1، و P_2، و F_1 في مكررات

يوفر هذا التحليل معلومات عن وجود أو غياب التفاعلات غير الاليلية

ففي غياب الارتباط يكون

$$L_1 + L_2 - 2L_3 = 0$$

حيث إن L_1، و L_2، و L_3 = متوسطات الأنسال المتحصل عليها من التلقيح مع كل من P_1، و P_2، و F_1 على التوالي توفر تلك العلاقة اختبارًا لغياب أو وجود سيادة، كما يلي