واستخدمت أشعة جاما فى كل من الأنواع التالية:

Allium cepa	*Cucumis melo*
Hordeum vulgare	*Malus domestica*
Petunia hybrida	*Rosa hybrida*

كما استخدمت النظائر المشعة P^{32}، و P^{35} فى النوع *Triticum aesativum* (عن Sestili & Ficcadenti ١٩٩٦).

ويحد من اتباع تلك الطريقة فى إنتاج النباتات الأحادية ارتفاع نسبة الأجنة التى لا تكمل نموها ولا يمكنها الإنبات، الأمر الذى يمكن التغلب عليه باللجوء إلى مزارع البويضات ومزارع الأجنة.

كذلك تؤدى معاملة الطور الجاميطى الأنثوى female gametophyte (الكيس الجنينى) بالإشعاع قبل التلقيح بحبوب لقاح غير معاملة بالإشعاع إلى إنتاج نباتات أحادية من حبوب اللقاح. حدث ذلك فى عدد من الأنواع النباتية، مثل:

Crepis tectorum	*Antirrhinum majus*
Petunia spp.	

(عن Maluszynski وآخرين ١٩٩٦).

إنتاج النباتات الأحادية المضاعفة

نجد عند المستوى الأحادى (١ ن) أن كل جين يكون ممثلاً مرة واحدة hemizygous وبعد مضاعفة الكروموسومات يصبح — نظريًا — كل جين ممثلاً مرتين، أى يصبح كل جين homozygous. وبذا يكون النبات الأحادى المضاعف أصيلاً تمامًا.

هذا .. ويشار أحيانًا إلى النباتات الأحادية المضاعفة doubled haploids بأنها أحادية ثنائية dihaploids، إلاّ أن التعريف الكلاسيكى للنباتات الأحادية الثنائية أنها النباتات الأحادية (١ ن = ٢س) للنباتات الرباعية التضاعف (٢ن = ٤س). ولذا يوصى بعدم استخدام مصطلح الـ dihaploids فى وصف النباتات الـ double haploids (عن Khush & Virmani ١٩٩٦)

وتتم مضاعفة النباتات الأحادية — لإعادتها إلى الحالة الثنائية العدد الكروموسومى — إما بمعاملتها بالكولشيسين، وإما عن طريق مزارع الكالس للنباتات الأحادية.

وتجرى المعاملة بالكولشيسين بأى من الطرق التالية:

١ — بمعاملة النباتات الصغيرة الناتجة من مزارع المتوك — وهى مازالت متصلة بالمتوك — بالكولشيسين بتركيز ٠,٥٪ لمدة ٢٤–٤٨ ساعة، ثم غسلها جيدًا وإعادة زراعتها.

٢ — زراعة المتوك — مباشرة — على بيئة تحتوى على كولشيسين لمدة أسبوع — أى لحين بدء الانقسام الخلوى الأول — ثم نقلها إلى بيئة لا تحتوى على أى كولشيسين (شكل ٧–٥).

٣ — معاملة البراعم الإبطية (محاور الأوراق) فى النباتات الأحادية بعجينة من اللانولين المحتوى على الكولشيسين بتركيز ٠,٤٪.

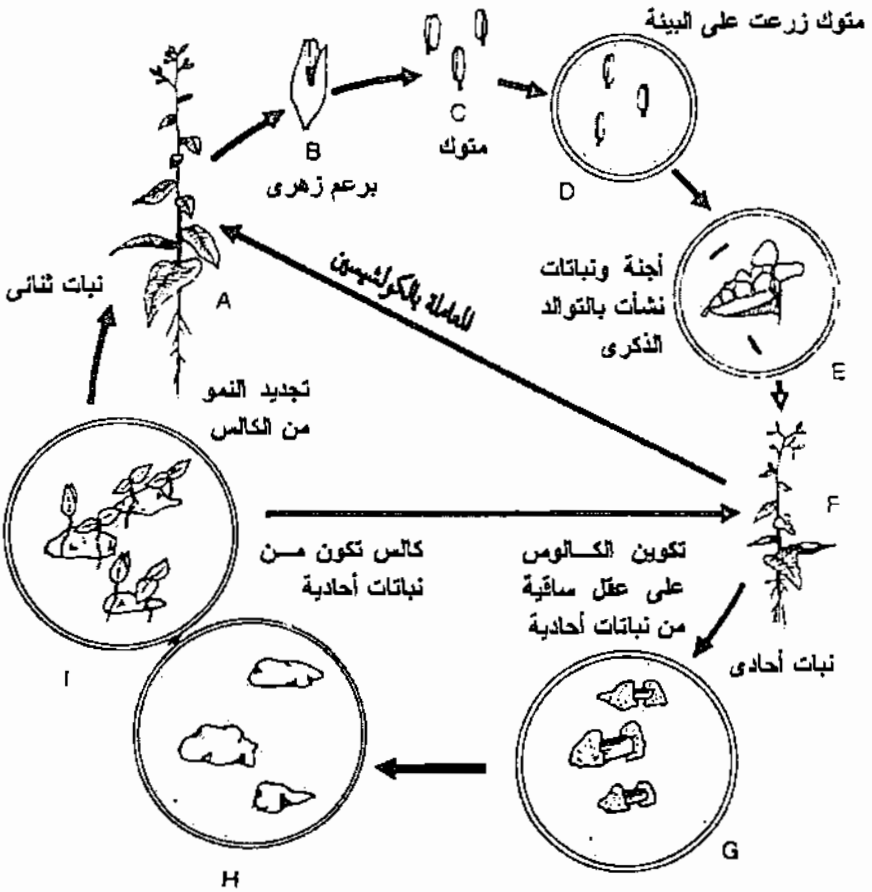
٤ — تكرار معاملة البراعم الإبطية للنباتات الأحادية بالقطن المبلل بالكولشيسين لمدة ١٠–١٤ يومًا (عن Chawla ٢٠٠٠).

ويبين جدول (٧–٥) معاملات الكولشيسين التى تجرى بهدف إحداث التضاعف فى مختلف أنواع مزارع الأنسجة.

أما مزارع الكالس الأحادى المجموعة الكروموسومية فيمكن الحصول عليها بزراعة عقل ساقية لنباتات أحادية فى بيئة تحفز إنتاج الكالس (شكل ٧–٥). ومن المعروف أن مزارع الكالس الأحادى المجموعة الكروموسومية كثيرًا ما تمر خلاياها بانقسامات ميتوزية للنواة فقط (endomitosis)، الأمر الذى يمكن استغلاله فى الحصول على نباتات ثنائية أصيلة. وفى تلك الحالات تزرع قطعة صغيرة من ساق النبات الأحادى فى بيئة تحتوى على أوكسين وسيتوكينين لحث تكوين الكالس (عن Bajaj ١٩٩٠).

جدول (٧–٥) معاملات الكولشيسين بهدف إحداث التضاعف فى نباتات مزارع الأنسجة (عن Rao & Suprasanna ١٩٩٦)

النوع النباتى	المزرعة	تركيز الكولشيسين (جم/لتر)	مدة المعاملة	التأثير
Atropa belladona	مزارع خلايا أحادية	١,٠	٢٤ ساعة	مضاعفة ٧٠٪ من الخلايا
Brassica napus	جذور نباتات المزارع	٠,٠٥	٤–٨ أيام	مضاعفة ٥٠٪ من الخلايا
	مزارع الأبواغ الدقيقة	٠,١–٠,٠٢٥	٦–٧٢ ساعة	استجابة إيجابية على تكوين الأجنة فى ٦٩٪ من الحالات
Nicotiana tabacum	نباتات صغيرة فى المزارع	٤,٠	٤ ساعات	تضاعف بنسبة ٦٠٪
Oryza sativa	مزارع المتوك	٠,٥–٠,٢٥	٢٤–٤٨ ساعة	٣١–٦٥٪ نباتات أحادية مضاعفة
Saccharum officinarum	مزارع خلايا الأوراق	٠,٥–٠,٠٥	٤ أيام	٥٣,٥٪ نباتات أحادية مضاعفة
Solanum verrucosum	مزارع القمة الميرستيمية	٠,٥	٤٨ ساعة	نسبة عالية من التضاعف
Triticum aesativum	مزارع المتوك	٠,٢٥–٠,١٢٥	٤٨–٧٢ ساعة	تضاعف بنسبة ٨٩٪ ، مع تأثير ضار على النباتات
	مزارع الأبواغ الدقيقة	٠,٤–٠,١	٧٢ ساعة	نسبة عالية من النباتات الخصية
	مزارع المتوك	٠,٢–٠,١	٣ أيام	٧٢٪ تضاعف
Zea mays	كالس جنينى أحادى	٠,٥–٠,٢٥	٢٤–٧٢ ساعة	٥٠٪ تضاعف



شكل (٧-٥): طرق إنتاج نباتات ثنائية أصيلة من نباتات أحادية حُصِل عليها من مزارع المتوك (عن Bhojwani & Razdan ١٩٨٣).

هذا .. ولكى تكون عملية مضاعفة النباتات الأحادية ناجحة، فإنه يجب أن تتوفر فيها الشروط التى تجعل اتباعها اقتصاديًا مقارنة بالطرق الأخرى، وهى كما يلى:

١ — أن تكون سهلة وتعطى بانتظام أعدادًا كبيرة من النباتات الأحادية المضاعفة من كل التراكيب الوراثية فى برنامج التربية.

٢ — يجب أن تكون النباتات الأحادية المضاعفة طبيعية وثابتة وراثيًا.

٣ – يجب أن تمثل النباتات الأحادية المضاعفة عينة عشوائية من جاميطات الآباء (عن Khush & Virmani ١٩٩٦).

مزارع النباتات الأحادية كمصدر للتباينات الوراثية

الأساس الوارثى للتباينات

تظهر فى مزارع النباتات الأحادية العدد الكروموسومى تباينات وراثية لا حصر لها، يكون مرد بعضها إلى حالات التضاعف الكروموسومى غير التام aneuploidy، وبعضها الآخر إلى حالات من التضاعف الكروموسومى التام euploidy. والنوع الأخير هو الأكثر شيوعًا؛ ربما بسبب التأثيرات الضارة لعدم التوازن الجينى الذى يحدث فى حالات التضاعف الكروموسومى غير التام (جدول ٧–٦)

جدول (٧–٦): بيانات عن بعض الأنواع النباتية ذات القدرة العالية على إنتاج نباتات غير أحادية فى مزارع المتوك (عن Bhojwani & Razdan ١٩٨٣).

النوع (وعدد الكروموسومات الجسمى)	وسيلة تكوين النموات الجديدة	عدد كروموسومات النباتات المنتجة
Atropa belladonna (٧٢)	الأجنة	٣٦، ٧٢، ١٠٨
Datura innoxia (٢٤)	الأجنة	١٢، ٢٤، ٣٦، ٤٨، ٧٢
D. metel (٢٤)	الأجنة	١٢، ٢٤، ٣٦
D. meteloides (٢٤)	الأجنة	١٢، ٢٤
Hordeum vulgare (١٤)	كالس	٧، ١٤، ٢٨
Lotus corniculatus (٢٤)	كالس	٢٤، ٢٨
Oryza sativa (٢٤)	كالس	١٢، ٢٤، ٣٦، ٤٨، ٦٠
Petunia hybrida (١٤)	كالس جنينى	٧، ١٤، ٢١، ٢٨
Solanum nigrum (٧٢)	كالس	٣٦، ٧٢، ١٠٨، وتضاعفات غير تامة للمجموعة الكروموسومية aneuploids

وإلى جانب التغيرات فى أعداد الكروموسومات، فإن التباينات الوراثية التى قد تحدث فى مزارع المتوك يمكن أن تتضمن – كذلك – تغيرات على المستوى الجزيئى