التقاوى ؛ لكثرة اليد العاملة اللازمة لإنتاج الهجن ، وصعوبة إكثار السلالات الرباعية التضاعف ، وظهور أشكال غير طبيعية من الثمار الثلاثية ، مع ميلها إلى التفريغ ، وظهور بذور صلبة فارغة بها .

٤- يستفاد من التضاعف فى إنتاج سلالات أصيلة ثنائية (٢ن) من النباتات الأحادية.

٥- كما يلجأ المربى إلى مضاعفة عدد الكروموسومات فى كثير من الهجن النوعية للتغلب على مشاكل العقم .

طرق إحداث التضاعف الذاتى فى النباتات

أمكن إنتاج نباتات متضاعفة من الذرة ؛ بتعرضها لدرجات حرارة مرتفعة ، كما عرف فى الذرة - أيضًا - جين يجعل النبات قادراً على إنتاج جاميطات متضاعفة ، وهو الجين as (asynaptic) الذى يمنع التقارن الكروموسومى فى أثناء الانقسام الاخترالى . هذا .. إلا أن مضاعفة الكروموسومات تجرى - عادة - بإحدى طريقتين ، هما :

١- إنتاج نباتات متضاعفة من نسيج الكالوس Callus Tissue :

يلزم لإنتاج نباتات متضاعفة بهذه الطريقة قطع فرع نباتى ، ثم معاملة السطح المقطوع بمنظم النمو إندول حامض الخليك (IAA) فى اللانولين . وتؤدى هذه المعاملة فى بعض النباتات إلى تكون كتلة من نسيج الكالوس على السطح المقطوع ، قد تنمو منها أفرع جديدة . تكون بعض هذه الأفرع رباعية التضاعف . وتنتج - لدى إكثارها خضريًا - نباتات كاملة رباعية . وقد اتبعت هذه الطريقة بنجاح فى الطماطم والدخان .

٢- إنتاج نباتات متضاعفة بالمعاملة بالمركبات الكيميائية :

استخدم عديد من المركبات الكيمائية فى مضاعفة كروموسومات الأنواع النباتية ، وكان من أمثلتها الإيثر ، والكلوروفورم ، وأكسيد النتروز nitrous oxide ، وكلورال هيدريت Chloral hydrate ، واسينافثين acenapthene ، وإيثيل كلوريد الزئبق ethyl - mercury - chloride . إلا أن أكثر المركبات استعمالاً وأهمها فى مضاعفة الكروموسومات كان الكولشيسين colchicine ، وهو ما سنتناوله بشئ من التفصيل . وقد أعقب اكتشافه - وهو مركب طبيعى - تخليق طرز أخرى صناعية منه ؛ مثل الكولشيم

Colchium ، والكالسيميد Calceimid .

الكولشيسين واستعمالاته فى مضاعفة الكروموسومات

كان الكولشيسين هو المركب الرئيسى المستخدم فى إحداث التضاعف الكروموسومى فى النباتات منذ أكثر من أربعين عاماً ولايزال كذلك ، وهو يستخرج من نبات *Cochium autumnale* الذى يحتوى على المركب بنسبة ٠,٤٪ من وزنه الجاف . ونتناول – فيما يلى – دراسة الكولشيسين من الجوانب التالية :

١– كيفية إحداث الكولشيسين للتضاعف :

يُحدث الكولشيسين تأثيره بمنع تكوين خيوط المغزل فى أثناء انقسام الخلية ، وهو مايمنع هجرة الكروموسومات إلى قطبى الخلية . ويؤدى ذلك إلى تكوين نواة جديدة تحتوى على ضعف العدد الأصلى من الكروموسومات . ونظراً لأن عدد الكروموسومات يستمر فى التضاعف مع كل انقسام جديد مادام تأثير الكولشيسين باقياً ؛ لذا .. فإن المعاملة بالمركب يجب أن تتوقف بعد انقضاء الفترة اللازمة لإحداث التضاعف المطلوب . هذا .. علماً بأن الخلايا الرباعية التضاعف –وأحياناً الثمانية التضاعف– هى التى يمكن أن تستمر فى الانقسام والنمو .

٢– طرق إضافة الكولشيسين للأنسجة النباتية :

يضاف الكولشيسين للأنسجة النباتية فى إحدى الصور التالية :

(أ) محلول مائى : يتراوح تركيز المحلول المائى عادة من ٠,٠٥٪ – ٠,٤٪ .

(ب) محمَّل فى الجلسرين : يستعمل لذلك ٧,٥ مل جلسريناً ، و ٢,٥ مل ماءً ، و ٦–٨ نقاط من المادة المبللة سانتوميرز santomerse ، ثم يضاف الكولشيسين بالتركيز المطلوب .

(جـ) محمل فى الآجار : يضاف الكولشيسين إلى الآجار الساخن قبل تصلبه .

(د) محمل فى مستحلب اللانولين : يحضر مستحلب اللانولين بإضافة ٢٠ مل ماء إلى ١,٥ جم حامض استياريك stearic acid ، ٠,٥٢ مل مورفولين morpholine مع التسخين إلى أن يتم ذوبان حامض الاستياريك ، على ألا ترتفع درجة حرارة المخلوط عن

١٠٠م . يحرك المخلوط بساق زجاجية ، إلى أن يأخذ مظهر الصابون فى اللون والقوام ، ثم يضاف إليه ٨ جم لانولين lanolin مع استمرار التسخين والتقليب ، إلى أن يذوب اللانولين ؛ وحتى يصبح قوام المستحلب سميكاً نسبيًا ، ثم يترك ليبرد ، ويضاف إليه الكولشيسين بالتركيز المطلوب .

٣- طرق المعاملة بالكولشيسين :

تجرى المعاملة بالكولشيسين بإحدى الطرق التالية :

أ- معاملة البذور :

تنقع البذور التى يُراد معاملتها فى محلول مائى من الكولشيسين بتركيز ٠,٠٥٪ - ١,٥٪ لمدة ١-٦ أيام ، علماً بأن البذور البطيئة الإنبات تحتاج إلى مدة أطول . ويجب أن تنتهى المعاملة قبل أن تباشر البذور بالإنبات . وتغسل البذور جيداً بعد المعاملة .

ب- معاملة البادرات :

تعامل القمم النامية للبادرات الصغيرة بنجاح أكبر من معاملة البذور ، وتستمر المعاملة لمدة ٣-٢٤ ساعة . يراعى عدم وصول الكولشيسين إلى جذور البادرات نظراً لحساسيتها الشديدة له . وتجرى المعاملة بإحدى طريقتين كما يلى :

(١) إذا استنبتت البذور على ورق ترشيح فى أطباق بترى ، وكانت جذور البادرات تتخلل ورق الترشيح بشكل جيد .. فإن المعاملة تجرى بقلب أطباق بترى بما عليها من بادرات ، حتى تنغمس القمم النامية للنباتات فى محلول مائى من الكولشيسين .

(٢) يلف جذور مجموعة من البادرات بقطن مبلل بالماء ، ثم قلبها فى كأس به محلول مائى من الكولشيسين بنفس الطريقة السابقة ، وتفضل هذه الطريقة ؛ لأن الجذور تبقى رطبة ولاتتعرض للجفاف . هذا .. وتغسل البادرات بالماء بعد انتهاء المعاملة .

جـ - معاملة النباتات الكبيرة :

تعامل الفروع الصغيرة ، والبراعم الإبطية ، والقمم النامية للسيقان الكبيرة بإحدى

الطرق التالية :

(١) غمر القمة النامية فى محلول مائى من الكولشيسين .

(٢) وضع قطعة قطن مبللة بمحلول الكولشيسين بين أوراق البرعم النامى ، مع تكرار المعاملة يوميًا لمدة ٢-٦ أيام .

(٣) رش البراعم بمحلول الكولشيسين عدة مرات يوميًا . أو قد يضاف إلى البرعم الإبطى نقطة واحدة من محلول مائى من الكولشيسين بتركيز ٠,٥ ٪ ، يضاف إليه زيت معدنى بنسبة ١٪ .

(٤) إضافة الكولشيسين محملاً فى الجلسرين بواسطة فرشاة .

(٥) دهان القمة النامية بالكولشيسين فى مستحلب من اللانولين .

(٦) معاملة القمة النامية بالكولشيسين المحمل فى الأجار ، مع إضافته إما بفرشاة ، وإما فى نصف كبسولة توضع منكسة على البرعم .

هذا .. ويراعى عند استعمال الكولشيسين أنه مركب شديد السمية ، فلايجب أن يلامس الجلد فترة طويلة ، كما أنه مرتفع الثمن ، ويتلف من التخزين الطويل ، لذا .. يجب ألا تحضر منه إلا الكمية اللازمة فقط حسب الحاجة . وتذاب الكمية المطلوبة من الكولشيسين فى قطرات من الكحول ، ثم يضاف الماء ببطء لأن سرعة إضافته تجعل الكولشيسين يترسب من المحلول ثانية . ويمكن تخزين محلول الكولشيسين فى الثلاجة لأسابيع قليلة ، ولكنه لا يخزن مجمداً (Avery وآخرون ١٩٤٧ ، Egisti & Dustin ١٩٥٥ ، Hayes وآخرون ١٩٥٥ ، North ١٩٧٩) . ولمزيد من التفاصيل عن الكولشيسين واستعمالاته .. يراجع Egisti & Dustin (١٩٥٥) .

أعداد الكروموسومات فى النباتات

تظهر فى جدول (١٤-٢) قائمة بأعداد الكروموسومات فى الخلايا الجسمية (٢ن) ، وفى الهيئة الكروموسومية الواحدة (x) لبعض المحاصيل الاقتصادية . أما أعداد الكروموسومات فى بقية النباتات .. فيمكن الرجوع إليها فى كل من Hayes وآخرين (١٩٥٥) ، و Purseglove (١٩٧٢ ، و ١٩٧٤) ، Simmonds(١٩٧٩) .