وعندما يرغب فى إحداث تغيرات وراثية فى وحدة واحدة، كأن تكون فى إحدى النيوكليوتيدات (من أجل الحصول على طفرة جينية point mutation) أو على صورة فقد فى جزء من أحد الكروموسومات (من أجل الحصول على فقد كروموسومى deletion) .. فإنه يكفى – عادة – التعرض للعامل المطفر مرة واحدة ولفترة قصيرة. أما إذا رغب فى إحداث تغيرات وراثية فى وحدتين أو أكثر، مثلما يكون عليه الحال عند الرغبة فى إحداث كسر فى كروموسومين مختلفين بغية الحصول على انتقال كروموسومى .. فإنه يفضل فى تلك الحالات التعريض للعامل المطفر عدة مرات وعلى فترة زمنية طويلة (عن Ahloowalia & Maluszynski ٢٠٠١).

## المركبات الكيميائية المحدثة للطفرات

### أنواع المركبات الكيميائية المحدثة للطفرات

تقسم المركبات الكيميائية المحدثة للطفرات – حسب فاعليتها – إلى الأقسام التالية:

١ – مركبات شديدة الفاعلية فى إحداث الطفرات، ولكنها خطرة الاستعمال، وسامة، وقد تسبب الإصابة بالسرطان لو تعرض لها الإنسان، ومن أمثلتها ما يلى:

ethylenimine (EI)

N-nitroso-N-ethylurea (NEU)

N-nitroso-N-methylurea (NMU)

1,4-bisdiazoacetylbutane

٢ – مركبات فعّالة فى إحداث الطفرات، وشائعة الاستعمال، ومن أمثلتها ما يلى:

diethyl sulphate (DES)

ethyl methane sulphonate (EMS) إيثيل ميثان سلفونيت

methy methane sulphonate (MMS)

isopropyl methane sulphonate (iPMS)

azide

colchicine الكولشيسين

٣ – مركبات أقل فاعلية فى إحداث الطفرات وأقل استعمالاً، ومن أمثلتها ما يلى:

caffeine الكافين

paraxanthine
adenine
formalin الفورمالين
phenols الفينولات
maleic hydrazide الماليك هيدرازيد
Potassium thiocyanate ثيوسيانات البوتاسيوم
dichloroacetone
chloroacetone

**كما تقسم المركبات المحدثة للطفرات - حسب المجموعة الكيميائية التي تنتمي إليها - إلى المجاميع التالية:**

١ - مجموعة شبيهات القواعد Base Analogues: تحل محل القواعد النيتروجينية في الأحماض النووية، ومن أمثلتها ما يلي:

5-bromo-uracil
5-bromodexoyuridine
2-amino-purine

ومن المركبات القريبة من شبيهات القواعد ما يلي:

8-ethoxy caffeine
maleic hydrazide
Theophyline
Paraxanthine
Theobromine
Tetramethyluric acid
Nebularine

٢ - مجموعة مضادات الحيوية Antibiotics، ومن أمثلتها ما يلي:

Azaserine
mitomycin C
streptonigrin
actinomycin D

٣ – مجموعة المركبات القلوية Alkylating Agents:

تنتمي المركبات القلوية المحدثة للطفرات إلى مجاميع كيميائية مختلفة، منها مركبات المسترد الكبريتية Sulfur Mustards، ومركبات المسترد النيتروجينية Nitrogen Mustards، والإبوكسيدات Epoxides، والإيثيلين إمينات Ethyleneimines، والكبريتات Sulfates والسلفوناتات Sulfonates، والسلفونات Sulfones، واللاكتونات Lactones، والديازو ألكينات Diazoalkanes، ومركبات النيتروزو Nitrozo compounds.

ومن أهم المركبات الكيميائية القلوية المحدثة للطفرات ما يلى:

Ethyl-2-chloroethyl sulfide

2-chloroethyl-dimethyl amine

Ethylene oxide

Ethyleneimine

Ethyl methanesulfonate

Diazomethane

N-ethyl-N-nitroso urea

n-Butylmethanesulphonate

cis-1: 4-Dimethanesulphonoxybut-2-ene

p-N-di-(Choloroethy) - phenyl propionic acid

1: 4-Dimethanesulphonoxybutane

p-N-di (Chloroethyl)-phenylamino butyric acid

trans-1: 4-Dimethanesulphonxy but-2-enc

p-N-di-(Choloroethyl)-phenyl valeric acid

p-N-di-(Chloroethy)-phenyl acetic acid

1:2, 3:4-Diepoxybutane

D: P-N-di-(Chloroethyl)-phenylalanine

L:p-N-di-(Chloroethyl)-phemylalanine

1:4-Dimethanesulphonoxybut-2-ene

p-N-di-(Choroethyl)-phenyl butyric acid

2:4:6-tri-(Ethyleneimino)-1:3:5-Triazine

٤ – مجموعة الأزايد Azide: ومن أمثلتها ما يلى:

Sodium azide

٥ – مجموعة الهيدروكسيل أمين Hydroxylamine: من أمثلتها ما يلى:

Hydroxlamine

٦ – مجموعة حامض النيتروز: Nitrous Acid .. من أمثلتها ما يلى:

Nitrous Acid

٧ – مجموعة الأكريدينات Acridines .. ومن أمثلتها ما يلى:

Acridine orange

٨ – مركبات أخرى مثل:

Chloroacetone

Dichloroacetone

Potassium Thiocyanate

Ethyl Carbamate

Formalin

Phenols (عدة فينولات)

Manganous chloride

ويبين شكل (١٠–١) التركيب الكيميائى البنائى لبعض من تلك المركبات المطفرة (عن Gardner وآخرين ١٩٩١).

**ويُجمع الباحثون على أن أهم المركبات التى تستخدم فى استحداث الطفرات، هى ما يلى (عن Fehr ١٩٨٧، و Chopra ٢٠٠٠):**

١ – إثيل ميثان سلفونيت Ethyl methansulfonate:

الرمز: EMS.

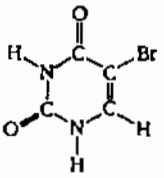
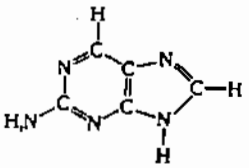
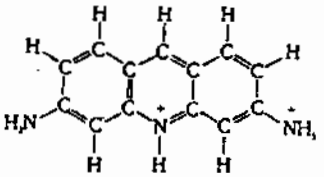
التركيب الكيميائى: $CH_3SO_2OC_2H_5$.

الطبيعة: عديم اللون.

التركيز المستعمل عادة: ٠,١–٠,٣٪.

يعد الإثيل ميثان سلفونيت أهم المركبات المحدثة للطفرات، وأكثرها استعمالاً، وهو

غير سام نسبيًا. يستخدم المركب على صورة محلول مائى تنقع فيه البذور أو الجذور الصغيرة للنباتات التى يراد معاملتها، وأكثر الطفرات التى يحدثها هى من النوع العاملى.

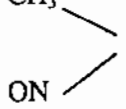
| الاسم الكيميائى للمركب | الاسم العادى أو المختصر للمركب | التركيب الكيميائى |
|---|---|---|
| I. Alkylating agents المركبات القلوية | | |
| Di-(2-chloroethyl) sulfide | Mustard gas or sulfur mustard | $Cl—CH_2—CH_2—S—CH_2—CH_2—Cl$ |
| Di-(2-chloroethyl) methylamine | Nitrogen mustard | $Cl—CH_2—CH_2—N(CH_3)—CH_2—CH_2—Cl$ |
| Ethylmethane sulfonate | EMS | $CH_3—CH_2—O—SO_2—CH_3$ |
| Ethylethane sulfonate | EES | $CH_3—CH_2—O—SO_2—CH_2—CH_3$ |
| *N*-Methyl-*N*'-nitro-*N*-nitrosoguanidine | NTG | $HN=C(NH—NO_2)—N(O)—CH_3$ |
| II. Base analogs شبيهات القواعد | | |
| 5-Bromouracil | 5-BU |  |
| 2-Aminopurine | 2-AP |  |
| III. Acridines الأكريدينات | | |
| 2,8-Diamino acridine | Proflavin |  |
| IV. Deaminating agents المزيلة لمجموعة الأمين | | |
| Nitrous acid | | $HNO_2$ |
| V. Miscellaneous مركبات أخرى | | |
| Hydroxylamine | HA | $NH_2OH$ |

شكل ( ١٠-١ ): التركيب الكيميائى البنائى لبعض من أهم المركبات المطفرة.

٢ – إن مثيل إن نيتروزويوريا N-methyl-N-nitrosourea:

الرمز: (MNH).

التركيب الكيميائى:



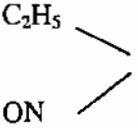
الطبيعة: مادة صلبة صفراء اللون

التركيز المستعمل عادة: ٠,٠١–٠,٠٣٪.

٣ – إن إثيل إن نيتروزويوريا N-ethyl-N-nitrosourea:

الرمز: (ENH).

التركيب الكيميائى:



الطبيعة: مادة صلبة صفراء اللون.

التركيز المستعمل عادة: ٠,٠١–٠,٠٣٪.

٤ – آزايد الصوديوم Sodium azide:

التركيب الكيميائى: $NaO_3$.

الطبيعة: مادة صلبة بيضاء اللون.

التركيز المستعمل عادة: ٠,٠٠١–٠,٠٠٤ مولار M.

٥ – إثيل نيتروزويوريثين Ethyl nitroso urethane:

الرمز: (ENU).

٦ – إثيلين إمين Ethyleneimine:

الرمز: (EI).

٧ – داى إثيل سيلفيت Diethyl sulfate:

الرمز: (DES).

## كيفية إحداث المركبات المطفرة لتأثيرها

نجد – بصورة عامة – أن المركبات الكيميائية المطفرة تحدث تأثيرها بطريقتى التأين والإثارة، وينتج عنها طفرات عاملية أكثر من التحورات الكروموسومية، إلاّ أن النسبة بين نوعى الطفرات تختلف باختلاف المركب المستعمل (Williams ١٩٦٤، و Lapins ١٩٨٣).

تنتمى المركبات المطفرة المفضلـة إلى مـا يعـرف باسـم الـ alkylating agents، وهـى تتضمن المركبات: EMS، و MNH، و ENH، ويعنى بالـ alkylation إحـلال مجموعـة alkyl (مثل $C_2H_5$ من EMS) محل ذرة أيدروجين فى قاعدة آزوتية بالدنا.

**ويُحدث الـ akylation للدنا التأثيرات التالية:**

١ – إذا حدث فى مجموعة الفوسفات فإنه تتكون phosphate triesters تكـون غـير ثابتـة، وتطلق مجموعة الـ alkyl، ولكـن إذا مـا تبقـى عدد كـاف مـن مجموعـات الـ alkyl، فإنها تتعارض مع انقسام الدنا. وأحيانًا .. يتحلل الـ phosphate triesters بـين مجموعتى السكر والفوسفات؛ مؤديًا إلى تقطع شريط الدنا.

٢ – إذا حدث فى القواعد الآزوتية فإن الموقع السـابع للجوانـين يكـون هـو المفضـل لعملية الـ alkylation، إلا أن معظم التأثيرات المطفرة تنشأ فـى حـالات الـ alkylation عند الموقع السادس للجوانين، حيث يمكنه الاقتران مع الثيامين؛ مما ينشأ عنه ترحيـل transition لمواقع اقتران القواعد.

٣ – يمكن للـ alkylated guanine أن ينفصل عـن الديوكسـى ريبـوز deoxyribose؛ مما يجعله depurinated. ويمكـن أن تُمـلأ تلـك الفجـوة – حينئـذٍ – بـأى قـاعدة أثنـاء ازدواج الدنا؛ مما يؤدى إلى حدوث الطفرات (عن Chopra ٢٠٠٠).

ولدراسة فعل المركبات الكيميائية المحدثة للطفرات على المستوى الجزيئى .. يراجع Drake (١٩٦٩).

## الأمور التى تجب مراعاتها بشأن استخدام المركبات المطفرة

تعتبر المركبات المطفرة شديدة التفاعل؛ فهى تتفاعل حتى مع الماء الذى تُذاب فيـه؛ فمثلاً يتفاعل الـ EMS مع الماء معطيًا methane sulphonic acid وإيثانول، كما يلى:

$$CH_3SO_2OC_2H_5 + H_2O \longrightarrow CH_3SO_2OH + C_2H_5OH$$

ولذا .. فإنه – عمليًـا – يجـب تحضـير محـاليل المركبـات المطفـرة قبـل اسـتعمالها مباشرة، وألاّ تخزن. وتقاس سرعة تحلل تلك المركبات بفترة نصـف الحيـاة half life، وهى الوقت الذى يستغرقه تحلل نصف الكمية الأصلية. وعلى سبيل المثال .. تقدر فـترة نصف الحياة فى الـ EMS فـى المـاء (عنـد pH=٧,٠) بـ ٩٣ سـاعة علـى ٢٠°م، و ٢٦ سـاعة على ٣٠°م، و ١٠,٤ سـاعة على ٣٧°م.

وتوّصف الجرعة بكل من تركيز المركب المستخدم ومدة المعاملة الكلية (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

هذا .. ويجب تداول جميع المركبات المحدثة للطفرات بحذر شديد؛ فتؤخذ كافة الاحتياطات كي لا تصل منها أية كمية إلى جوف الإنسان، أو تلامس جلده، كما ترتدى القفازات عند زراعة البذور المعاملة.

## الأهداف التى تجرى لأجلها برامج التربية باستحداث الطفرات

لا يلجأ المربى إلى التربية باستحداث الطفرات إلاّ بعد استنفاذ كل الوسائل الأخرى الممكنة لتحسين المحصول. ويجرى برنامج التربية بالطفرات – عادة – لتحقيق واحد أو أكثر من الأهداف التالية:

١ – إحداث طفرات فى جين واحد، أو فى عدد محدود من الجينات:

يكون ذلك هو الهدف الأمثل، عندما يرغب المربى فى تحسين أحد الأصناف الجيدة فى إحدى الصفات المهمة التى تنقصه؛ خشية أن تؤدى التربية بالطرق الأخرى إلى فقدان الصنف بعض خصائصه التى تميزه عن غيره، وكثيرًا ما يفاضل المربى بين طريقتى التربية بالتلقيح الرجعى وبالطفرات، آخذًا فى الحسبان مدى سهولة إحداث الطفرة المرغوبة، ومدى ارتباطها بالطفرات الأخرى غير المرغوبة.

وتجدر الإشارة إلى أن التربية بالطفرات لاستحداث طفرة فى جين واحد .. هى الطريقة الوحيدة الممكنة لتحسين الأصناف الممتازة من المحاصيل الخضرية التكاثر، نظرًا لأن اللجوء إلى التكاثر الجنسى عند تربيتها يعنى الابتعاد كثيرًا عن التركيب الوراثى للصنف. وعمليًا .. تعتبر التربية بالطفرات فى المحاصيل الخضرية التكاثر بديلة للتربية بطريقة التهجين الرجعى فى المحاصيل الجنسية التكاثر.

هذا .. وقد تستحدث الطفرات العاملية بغرض الاستفادة منها فى تحسين المحصول فى برامج التربية الأخرى.

٢ – تحسين الصفات الكمية:

على الرغم من أن الصفات الكمية يتحكم فيها عدة جينات .. إلاّ أنه أمكن إحراز تقدم كبير فيها بالتربية بالطفرات؛ فمثلاً .. تمكن Gregory فى عام ١٩٥٦ من إنتاج

طفرات من الفول السودانى بالمعاملة بأشعة إكس، وكانت هذه الطفـرات أعلـى محصـولاً من الصنف الأصلى (عن Briggs & Knowles ١٩٦٧).

٣ – إحداث زيادة فى نسبة العبور:

قد يكون الغـرض مـن تعريـض النباتـات للعوامـل المطفرة – خاصـة الإشـعاع – هـو إحداث زيادة فى نسبة العبور؛ لإعطاء الفرصـة لحـدوث عبـور بـين الجينـات المرتبطـة بشدة وبين الجينات التى توجد فى المناطق القريبة من السنترومير، وهى التى تقل فيـها نسبة العبور الطبيعى. ويساعد العبور – فى هذه الحالات – على انعزال تراكيب وراثيـة جديدة، قد يرغب المربى فى الحصول عليها.

٤ – إحداث تحورات كروموسومية:

تحدث المعاملة بالعوامل المطفرة تحورات كروموسومية كثيرة يمكن الاستفادة بها فـى برامج التربية؛ فمثلاً .. أمكن – عن طريق إحداث كسـور كروموسومية فى أمـاكن معينـة من الـكروموسومات – نقل صفة المقاومة لصدأ الأوراق فى القمح من أحـد الأنـواع البريـة إلى القمح المزروع.

٥ – إحداث طفرات فى الجينـات السيتوبلازميـة التـى تتحكـم فـى الصفـات التـى تورث عن طريق الأم. ويذكر أنه حتى عام ١٩٧٢ أمكن إنتاج ٩٨ صنفًا محصوليًا، و ٤٧ صنفًا من نباتات الزينة من طفرات مسـتحدثة. ومـن الأصنـاف المحصوليـة .. أنتـج ٨٥ صنفًا منها بالانتخاب المباشر للطفـرات المسـتحدثة، بينمـا أنتجـت الثلاثـة عشـر صنفًـا الأخرى من برامج تربية تضمنـت تـهجينات بـين الطفـرات وأصنـاف – أو سـلالات – أخرى (Welsh ١٩٨١).

ويمكن القول إنه فى حالات عدم وجود الصفات المرغوبة فـى جـيرمبلازم المحصـول (المحلى والعالمى)، أو عندما لا يُرغب فى إحداث أى تغيير وراثـى فـى صنـف تجـارى هام (ولو بطريقة التهجين الرجعى) .. فإن التربيـة بـالطفرات تعـد هـى الطريقـة المثلـى لتحسين المحصول وإكسابه الصفات المطلوبة. ولا يعتد – فـى هـذا الشـأن – بانخفـاض معدل حدوث الطفرات، أو بزيادة نسبة الطفرات الضارة، فإن طفرة واحد مفيدة من كـل ألف طفرة يمكن أن تسهم فى تحسين المحصـول بشـكل جوهـرى، خـلال فـترة زمنيـة وجيزة، وبجهـد أقل مما فى طرق التربية الأخرى.