الفصل الثانى عشر

التضاعف الذاتى وأهميته

يندرج التضاعف الذاتى autoploidy ضمن حالات التعدد الكروموسومى التام euploidy، وفيها يشمل التضاعف جميع كروموسومات الهيئة الكروموسومية للنبات؛ وتوجد منه أنواع كثيرة. وبرغم أن نقص عدد الكروموسومات إلى هيئة كروموسومية واحدة كاملة (١ن) يعد اختزالا، وليس تضاعفًا .. إلا أن حالات النباتات الأحادية هذه تدرج ضمن حالات تعدد المجموعة الكروموسومية التام. ونبين - فيما يلى - مختلف أنواع التعدد الكروموسومى التام.

أحادية المجموعة الكروموسومية

تعريف الحالات الأحادية المجموعة الكروموسومية

تحتوى الخلايا الجسمية للنبات الأحادية المجموعة الكروموسومية monoploids على العدد الأحادى من الكروموسومات (١ن)، ويطلق عليها - بوجه عام - اسم Haploids. هذا .. إلا أن النباتات الأحادية المتحصل عليها من نباتات ثنائية يطلق عليها اسم Monohaploids (وفيها ن = ١س)، بينما يطلق على النباتات الأحادية المتحصل عليها من النباتات الرباعية tetraploids اسم dihaploid (وفيها ن = ٢س)، ويطلق اسم trihaploid على النباتات الأحادية المتحصل عليها من النباتات السداسية hexaploids (وفيها ن = ٣س) ... إلخ.

خصائص النباتات الأحادية

١ - تكون الأفراد الأحادية المجموعة الكرموسومية صغيرة الحجم - عادة - وأضعف نموا من مثيلاتها الثنائية المجموعة الكروموسومية.

٢ - تكون الأفراد الأحادية المجموعة الكروموسومية على درجة عالية من العقم، ويرجع ذلك إلى أن كل كروموسوم يوجد فى هذه النباتات بحالة مفردة؛ وبذلك .. لا

يحدث أى اقتران كروموسومى، ويكـون الإنعـزال الكروموسـومى غـير منتظم، وتحتـوى معظم الجاميطات التي تنتجها النباتات الأحاديـة علـى نقص فـى كروموسـوم واحـد أو أكثر؛ لذا .. فإنها تكون غالبًا عديمة الحيوية. هذا .. إلا أن جميع الكروموسـومات قـد تتجه – أحيانًا – إلى قطب واحد من قطبـى الخليـة فـى الـدور الانفصـالى مـن الانقسـام الميوزى، وتتكون بذلك جاميطة طبيعية. ويؤدى تزاوج جاميطتين من هذا النوع إلى تكون فرد ثنائى المجموعة الكروموسومية.

ونظرًا لأن احتمال توجه أى كروموسـوم إلى أى مـن قطبـى الخليـة هـو ٠,٥، لـذا .. يكون احتمال توجه جميع الكروموسومات فى أثناء الانقسـام الميـوزى إلى أى مـن قطبـى الخلية هو $(\frac{1}{2})^{n}$، حيـث تمثـل (ن) عـدد الكروموسـومات فـى الهيئـة الكروموسـومية؛ وعليه نجد فى نبات كالذرة (وهو يحتوى علـى ١٠ أزواج مـن الكروموسـومات) أن هـذا الاحتمال يساوى $(\frac{1}{2})^{10}$، أو جاميطة من كل ١٠٢٤ جاميطة. ويتضح من ذلك لِمَ تكون نسبة العقم عالية فى الأفراد الأحادية المجموعة الكروموسومية، وهى التى تكثر بـالطرق الخضرية كلما أمكن ذلك.

٣ – تكون جميع الجينات فى النباتات الأحادية ممثلـة مـرةً واحـدة؛ ويعنـى ذلـك ظهور الصفات التى تتحكم فيها الآليلات المتنحية. ويوصف التركيب الوراثـى فـى هـذه الحالة بأنه hemizygous. وتعتبر تلك هى الحالة الطبيعيـة فـى النباتـات الدنيئـة، إلا أنها تعد حالة شاذة بالنسبة للنباتات الاقتصادية.

طرق إنتاج النباتات الأحادية المجموعة الكروموسومية

تبلـغ نسـبة النباتـات الأحاديـة التـى تتكـون طبيعيًـا بـالتوالد البكـرى (*in vivo* parthenogensis) فى الـذرة نحـو ٠,١٪؛ وهـى تتكـون بنمـو إحـدى الخلايـا الأحاديـة بالكيس الجنينى إلى جنين. وقد ينشأ الجنين الأحادى فى أحيـان قليلـة مـن الجاميطـة المذكرة مع سيتوبلازم الجاميطة المؤنثة.

ولمزيد من التفاصيل عن التكوين الطبيعى للنباتات الأحادية المجموعة الكروموسـومية .. يراجع حسن (٢٠٠٥).

وبالإضافة إلى التكوين الطبيعي للنباتات الأحادية بطريق التوالد البكرى، فإنه يمكن استحداثها بأى من الوسائل التالية:

معاملات خاصة لحبوب اللقاح

أمكن إنتاج أجنة أحادية *in vivo* من مبايض الأزهار بعد تعريضها لإحدى المعاملات التالية: تأخير التلقيح – التلقيح بحبوب لقاح معاملة بالإشعاع – التلقيح بحبوب لقاح من أنواع أخرى – تعريض الأزهار لدرجات حرارة منخفضة. وقد أمكن زيادة نسبة النباتات الأحادية (ن) بعد العثور على ما يسمى بالملقحات الفائقة superior pollinators لبعض النباتات؛ مثل الذرة، والبطاطس.

ولقد أمكن إنتاج أجنة أحادية بكثرة فى الشمام بتلقيح الأزهار المؤنثة صباح يوم تفتحها بحبوب لقاح معاملة بأشعة إكس، وينتج هذا التلقيح ثمارًا طبيعية المظهر، تحتوى داخلها على بعض الأجنة الأحادية، بالإضافة إلى الأجنة الثنائية العادية. هذا .. ويلزم التعرف على الأجنة الأحادية المتكونة بعد ثلاثة أسابيع من التلقيح اليدوى، ونقلها إلى بيئة صناعية، وإلا .. فإنها تنهار وتختفى إذا تركت فى الثمار لأكثر من ذلك.

وأمكن تقليل الجهد اللازم للتعرف على هذه الأجنة؛ بجمع البذور من الثمار بعد ٤–٧ أسابيع من التلقيح، وفحصها بجهاز أشعة إكس العادى الذى يستخدم فى الأغراض الطبية. وتكون الأجنة صغيرة جدًا – قبل ذلك، ويصعب تداولها، بينما تبدأ الأجنة فى الانهيار لو تركت لأكثر من سبعة أسابيع. ويلزم تجفيف الأجنة – جزئيًا – قبل فحصها؛ حتى لا تبدو معتمة فى الفيلم، مع مراعاة عدم الإفراط فى التجفيف، حتى لا تفقد حيويتها، ويكون التجفيف على ٤°م لمدة ١٥ ساعة. وتوضع البذور – بعد تجفيفها – على لوح من البوليسترين سمكه ٥ مم، وتغطى بشريط لاصق شفاف، ثم تعرض لأشعة إكس. وتبدو البذور – التى تحتوى على أجنة أحادية – أقل عتمة على الفيلم من البذور التى تحتوى على أجنة ثنائية (Savin وآخرون ١٩٨٩).

كذلك أمكن إنتاج أجنة أحادية فى عدد من أصناف الكوسة *Cucurbita pepo* بتعريض حبوب اللقاح لجرعات من أشعة جاما تراوحت بين ٢٥، و ٥٠ Gy، وقد

حُصل من تلك الأجنة الأحادية على نباتات أحادية العدد الكروموسومى (Kurtar وآخرون ٢٠٠٢). كما حُصل على أجنة أحادية من البطيخ استعمل فى إنتاجها أشعة جاما بجرعات تراوحت بين ٢٠٠، و ٣٠٠ Gy (Sari وآخرون ١٩٩٤). وقد كانت بداية استخدام هذه الطريقة فى إنتاج النباتات الأحادية فى القرعيات فى كل من البطيخ، والقاوون، والخيار (عن Sari وآخرين ١٩٩٤).

أعطت معاملة حبوب لقاح الكنتالوب بأشعة جاما بجرعة مقدارها ٠,٦ أو ١,٢ kGy نسبة عالية من النسل الأحادى المجموعة الكروموسومية عندما استخدم ذلك اللقاح فى تلقيح مياسم أزهار غير معاملة بالأشعة، حيث أمكن بتلك المعاملة الحصول على ٣٧ جنينًا أحاديًا، و ٧٤ جنينًا ثنائيًا من ثمار كنتالوب بعمر ٤ أسابيع لدى زراعة تلك الأجنة فى بيئة صناعية (Ficcadenti وآخرون ١٩٩٥).

إنتاج نباتات أحادية من مزارع حبوب اللقاح والبويضات

يذكر Chu (١٩٨٢) أنه أمكن – حتى عام ١٩٨٢ – إنتاج نباتات أحادية من حبوب اللقاح فيما لا يقل عن ١١١ نوعًا نباتيًا، ينتمى معظمها إلى العائلات الباذنجانية، والنجيلية، والصليبية. ومنها بعض الأنواع الخشبية؛ مثل جنسى؛ الحمضيات *Citrus*. والعنب *Vitis*. ويعطى المرجع قائمة كاملة بهذه الأنواع.

وللتفاصيل المتعلقة بهذا الموضوع .. يراجع Jain وآخرين (١٩٩٦، و ١٩٩٨).

استبعاد كروموسومات أحد النوعين فى الهجن النوعية

أمكن إنتاج نباتات أحادية من الشعير بأعداد كبيرة من خلال التهجين بين النوع المزروع *Hordeum vulgare*، والنوع البرى المعمر *H. bulbosum*، وذلك من خلال حدوث فقد لكروموسومات النوع البرى من أجنة الهجين النوعى، وهى الظاهرة التى عرفت باسم استبعاد الكروموسومات chromosome elemination. وبمضاعفة كروموسومات تلك النباتات الأحادية الناتجة أمكن الحصول على سلالات ثنائية أصيلة بسهولة، كما تعرف تلك العملية لإنتاج النباتات الأحادية فى الشعير باسم طريقة بلبوزم the Bulbosum method، وذلك فى إشارة إلى النوع البرى *H. bulbosum*.

وعلى الرغم من أن ظاهرة استبعاد الكروموسومات تحدث فى أجنة هذا التهجين النوعى سواء استعمل النوع المزروع كأم، أم كأب فى الهجين، إلاّ أنه يفضل استعماله كأم نظرًا لأن لسيتوبلازم النوع البرى تأثيرات ضارة على نمو الشعير.

ويتم تحفيز تكوين الحبوب المحتوية على الأجنة الأحادية بفصل الخلفات التى تحتوى على الأزهار الملقحة عن النبات ووضعها فى محلول هوجلند معدل، ويعقب ذلك – بعد يوم واحد إلى ثلاثة أيام – وضع نقطة من محلول حامض الجبريلليك بتركيز ٧٥ جزءًا فى المليون فى كل زهرة ملقحة، وتستمر تلك الإضافة لمدة يومين إلى ثلاثة أيام متوالية. وبعد نحو أسبوع آخر تفصل الأجنة وتزرع فى بيئة نمو مناسبة. وبعد وضوح نمو البادرات الأحادية فإنها تعامل فى مرحلة نمو الورقة الثانية إلى الثالثة بالكولشيسين بتركيز ٠,١٪ لمدة خمس ساعات، ثم تغسل البادرات وتنمىّ فى أصص.

ومن بين الحالات الأخرى التى عرفت فيها ظاهرة استبعاد الكروموسومات، ما يلى:

- اكتشفت ظاهرة استبعاد الكروموسومات فى عديد من الهجن النوعية بين الشعير المزروع وأنواع أخرى من الجنس *Hordeum*.
- عرفت الظاهرة – كذلك – فى الهجن النوعية فى الجنس *Nicotiana*.
- أمكن أيضًا الحصول على نباتات فردية من القمح بتهجينه – كأم – مع الشعير البرى *H. bulbosum*.
- كذلك أمكن إنتاج نباتات أحادية من التهجينات بين الجنس *Aegilops* – كأم – مع صنف القمح السداسى Salmon (وهو: *Triticale*-derived hexaploid) كأب، حيث كان حوالى ٣٠٪ من النسل الناتج من هذا التهجين أحادى العدد الكروموسومى (عن Fehr ١٩٨٧).

هذا .. ومن بين الطرق المتاحة لإنتاج نباتات أحادية العدد الكروموسومى، فإن مزارع المتوك، والتخلص من الكروموسومات من خلال التلقيحات البعيدة (طريقة الـ bulbosum) هما أكثر الطرق استعمالاً (عن Khush & Virmani ١٩٩٦).

أوجه الاستفادة من النباتات الأحادية

إن من أهم استخدامات النباتات الأحادية المجموعة الكروموسومية فى مجال تربية النبات، ما يلى:

١ – الحصول على سلالات ثنائية أصيلة تمامًا بمجرد مضاعفة عدد كروموسوماتها باستعمال الكولشيسين:

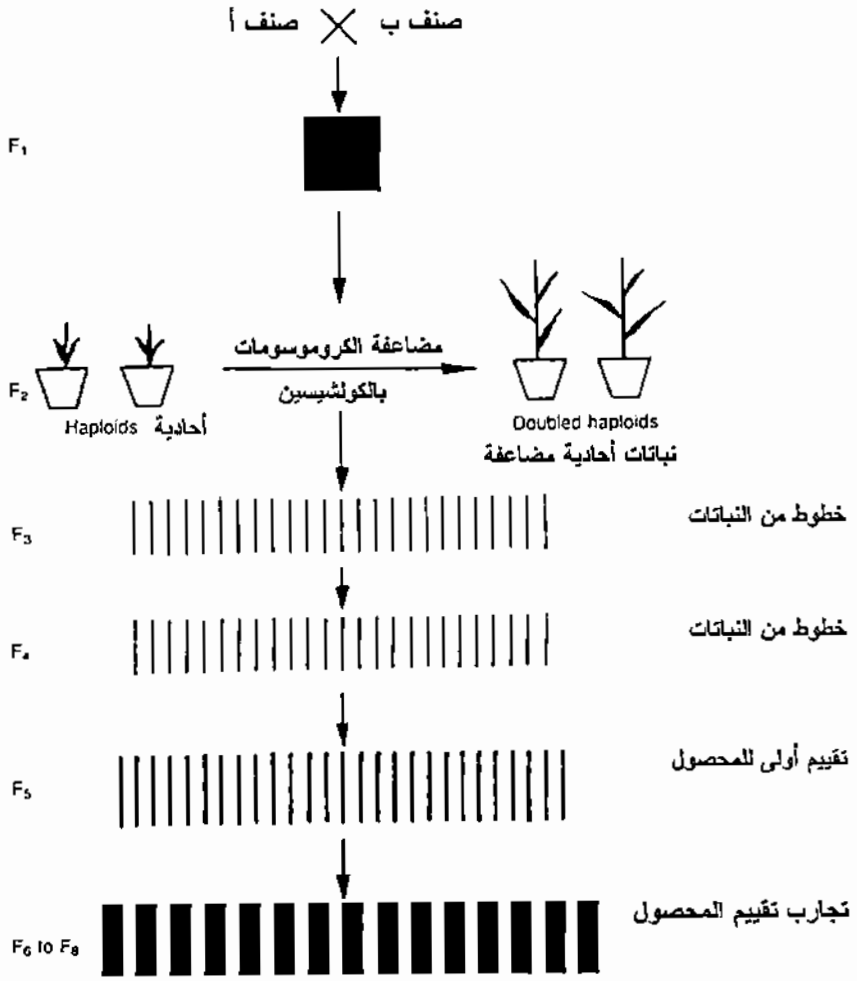
تؤدى مضاعفة النباتات الأحادية بالكولشيسين إلى إنتاج نباتات ثنائية أصيلة، قد يمكن الاستفادة منها فى إنتاج الهجن الفردية والزوجية، دونما حاجة لعمليات التربية الداخلية، التى تستغرق عدة سنوات، وقد تستعمل كأصناف جديدة محسنة، كبعض أصناف الشعير، و التبغ، والأرز، والقمح، التى أنتجت بمضاعفة نباتات أحادية.

يتم بموجب هذه الطريقة – التى تعرف باسم double-haploid procedure – إنتاج نباتات أحادية (من مزارع حبوب لقاح نباتات الجيل الأول الهجين، أو بأى من الطرق الأخرى)، ثم مضاعفة أعداد كروموسومات نباتات الجيل الثانى الأحادية المتنحية باستعمال الكولشيسين لتصبح ثنائية diploid (شكل ١٢–١)، وتحصد منها البذور. تزرع بذور الجيل الثالث (نسل كل نبات على حدة)، وتحصد البذور من النباتات المتفوقة، ويكرر ذلك فى الجيل الخامس، مع إجراء تجارب أولية لتقييم المحصول فيه، ثم استمرار تجارب تقييم المحصول فى الأجيال من السادس إلى الثامن. واعتبارًا من الجيل التاسع وحتى الجيل العاشر يتم إكثار وتوزيع السلالات المتفوقة كأصناف جديدة.

هذا .. وتزداد أهمية النباتات الأحادية فى إنتاج نباتات ثنائية أصيلة فى الأنواع التى يصعب فيها إجراء التلقيح الذاتى بسبب وجود ظاهرة عدم التوافق الذاتى فيها.

تكون النباتات الأحادية المضاعفة أصيلة وراثيًا فى جميع المواقع الجينية، ولا توجد أية ضرورة لتقييم أجيال انعزالية لأنها لا توجد أصلاً. ويمكن أن تصل السلالات الأحادية المضاعفة إلى مرحلة التقييم الأولى للمحصول مبكرة بنحو جيلين أو ثلاثة أجيال عما فى طريقتى انتخاب النسب، وانتخاب التجميع. وكما فى طريقة التحدر من بذرة واحدة، فإن الأجيال المبكرة فى طريقة مضاعفة النباتات الأحادية لا تعرض لظروف بيئية قاسية فى الحقل، كما أن الانتخاب فيها يكون شديدًا وليس كما طريقتى انتخاب النسب وانتخاب التجميع التى تزرع فيها الأجيال المبكرة بأعداد كبيرة.

هذا .. ولقد أثيرت اعتراضات على الأصناف التى تنتج من مضاعفة كروموسومات النباتات الأحادية؛ نظرًا لأنها تكون أصيلة بنسبة ١٠٠٪، ومتجانسة وراثيًا بنسبة ١٠٠٪؛ ومن ثم تكون شديدة الحساسية للتقلبات البيئية (عن Poelham & Sleper ١٩٩٥).



شكل (١٢-١): طريقة إنتاج النباتات الثنائية بمضاعفة كروموسومات النباتات الأحادية.

٢ - تفيد النباتات الأحادية - المتحصل عليها من النباتات المتضاعفة - فى إجراء الدراسات الوراثية للصفات الكمية، مثل دراسات التباين الوراثى، والارتباط، وعدد الجينات ومواقعها؛ ذلك لأن اختزال عدد كروموسومات النباتات الرباعية التضاعف -

مثل البطاطس – إلى النصف يجعلها ثنائية المجموعة الكروموسومية، مما يسهل دراسة وراثة الصفات فيها (عن Dunwell ١٩٨٥).

٣ – إن أهم وأبرز استعمال للنباتات الأحادية المضاعفة هو فى رسم الخريطة الجينومية؛ حيث تشكل مادة وراثية ممتازة لإعطاء معلومات دقيقة عن موقع الجينات الرئيسية، ومواقع جينات الصفات الكمية QTLs الهامة (عن Khush & Virmani ١٩٩٦).

٤ – تفيد النباتات الأحادية فى دراسات الوارثة السيتولوجية للنباتات المتضاعفة، حيث يمكن عن طريقها الحصول على كافة الـ monosomics الممكنة للنوع.

٥ – يمكن عن طريق النباتات الأحادية نقل الجينات من نوع لآخر، وإحلال كروموسوم من أحد الأنواع محل كروموسوم آخر فى نوع مختلف.

٦ – سهولة الانتخاب للآليلات السائدة فى النباتات الأحادية؛ بخلاف الحال فى النباتات الثنائية التى قد تكون خليطة أو أصيلة فى الصفة السائدة؛ الأمر الذى لا يمكن تحديده إلاّ باختبار النسل.

٧ – يمكن الاستفادة من النباتات الأحادية فى التعرف على الطفرات المتنحية التى تظهر فيها – مباشرة – دونما حاجة إلى إنتاج الجيل الطفرى الثانى (M_2)؛ لأن الطفرة تكون فى حالة hemizygous. ويكون من الأفضل معاملة مزارع الخلايا الأحادية، وإجراء التقييم والانتخاب وهى على هذه الصورة. وقد أمكن بهذه الطريقة التعرف على طفرات مقاومة لمضادات الحيوية، وشبيهات الأحماض الأمينية، ومبيدات الحشائش. ويعاب على هذه الطريقة فى إنتاج الطفرات أن استعمالها مقصور على الأنواع القليلة التى يمكن أن تبقى مزارع خلاياها الأحادية على حالتها، مع إمكان دفعها إلى تكوين نباتات أحادية.

متعددة المجموعة الكروموسومية ذاتيًا

تحتوى النباتات المتعددة المجموعة الكروموسومية ذاتيًا – أو الذاتية التضاعف – Autopolyploids أو Autoploids على مضاعفات كاملة للهيئة الكروموسومية؛ كأن تكون ٣س، أو ٤س ... إلخ.