و العامل a مكملاً للعامل b، إلا أن العامل A لا يكون مكملاً للعامل b، ولا العامل a مكملاً للعامل B، وتحتوى الأنواع المهجنة على هذه العوامل فى صورة مكملة لبعضها، وتكون خصبة؛ كأن تكون aa bb، و AA BB، ويكون الجيل الأول الهجين بينها ذا تركيب وراثى Aa Bb وخصبًا أيضًا. أما الجيل الثانى .. فتظهر فيه انعزالات كثيرة، يكون بعضها خصبًا؛ مثل aa bb، و A- B-، ويكون بعضها عقيمًا؛ مثل aa B-، و A- bb.

طرق التغلب على مشاكل إنتاج الهجن النوعية

معالجة مشكلة عدم نجاح التهجين النوعى

توصل مربو النبات إلى طرق فعالة للتغلب على كثير من مشاكل إنتاج الهجن النوعية فى حالات خاصة إلا أن هذه الطرق لا تكون - دائمًا - مجدية فى كل الحالات؛ ولذا .. فإنه يلزم استمرار التجربة والخطأ ومحاولة استنباط وسائل جديدة تناسب كل حالة.

ومن الطرق التى أمكن التوصل إليها ما يلى:

١ - مضاعفة كروموسومات أحد - أو كلا - الأبوين الداخلين فى التهجين، وسوف نتناول هذا الموضوع بالشرح تحت عنوان مستقل نظرًا لأهميته.

٢ - زراعة جنين أحد النوعين غير المتوافقين فى إندوسبرم النوع الآخر. وتعطى هذه الأجنة نباتات أكثر توافقًا مع النوع الذى استخدم إندوسبرمه عن النباتات العادية؛ فمثلاً .. وجد أن زراعة أجنة القمح فى إندوسبرم الشيلم يعطى نباتات قمح أكثر توافقًا فى التلقيح مع الشيلم عن نباتات القمح العادية (عن Elliott ١٩٥٨). كما أمكن إنتاج هجن القمح مع الشعير بزراعة الأجنة - وهى فى بداية تكوينها فى إندوسبرم الشعير، وقد كانت هذه الهجن عقيمة ذكريًا، ولكنها أنتجت بذورًا عندما لقحت بالقمح، واحتوت النباتات الناتجة على كل كروموسومات القمح ونصف كروموسومات الشعير (Jan وآخرون ١٩٨٢).

٣ - فصل الأجنة النامية وزراعتها فى بيئات خاصة فى الحالات التى لا يوجد فيها توافق بين الجنين النامى والإندوسبرم، ويكون الهدف الأساسى من ذلك هو مد الجنين

النامى بكل احتياجاته الغذائية؛ لمساعدته على النمو قبل أن يبدأ فى تكوين الأوراق والاعتماد على نفسه.

٤ – محاولة إجراء التهجين بين أصناف مختلفة من كلا النوعين؛ نظرًا لأن بعض الأصناف تكون متوافقة أكثر من غيرها. ويفيد فى هذه الشأن استعمال مخلوط من حبوب لقاح عدة أصناف فى تلقيح كل واحد من هذه الأصناف، ولكن يعاب على هذه الطريقة عدم معرفة هوية الأب الذى يكون متوافقًا مع الصنف المستخدم كأم.

إن من أهم الإنجازات التى تحققت فى مجال تربية النباتات تلك التى تضمنت إجراء تهجينات بين أنواع بعيدة تقسيميًا عن بعضها البعض؛ والتى نُقلت من خلالها صفات غاية فى الأهمية من الأنواع البرية إلى الأنواع المزروعة القريبة منها، ولقد كان اللجوء إلى مزارع الأجنة بهدف إنجاح تلك التهجينات والحصول منها على أجنة هجين مكتملة التكوين أحد أهم الوسائل التى لاقت نجاحًا كبيرًا فى هذا الشأن، حيث استخدمت فى عديد من الهجن النوعية، نذكر منها – على سبيل المثال – تلك التى أجريت فى الأجناس التالية:

Lycopersicon	*Oryza*	*Phaseolus*
Brassica	*Medicago*	*Hordeum*
Agropyron	*Triticum*	*Arachis*
Gossypium	*Glycine*	*Allium*
Trifolium	*Populus*	*Helianthus*
Lotus	*Vitis*	*Carica*
Citrus	*Actinidia*	*Solanum*

ولمزيد من التفاصيل عن أهمية استخدامات مزارع الأجنة فى نجاح إجراء الهجن النوعية .. يراجع Sharma وآخرين ١٩٩٦.

٥ – استعمال مخلوط من حبوب لقاح كلا النوعين عند إجراء التهجين؛ فيضاف – أولاً – إلى ميسم الأم كمية قليلة من لقاحها، ثم تضاف – بعد ذلك بفترة وجيزة – كمية أكبر من حبوب لقاح النوع المستخدم كأب، وتفيد حبوب لقاح الأم فى إخصاب بعض البويضات؛ فلا تسقط الزهرة مبكرة؛ وبذا تتوفر فرصة أكبر أمام حبوب لقاح نوع الأب لإخصاب بقية البويضات.

٦ – إجراء التهجين فى كلا الاتجاهين؛ أى استعمال كل من النوعين كآباء وكأمهات فى تلقيحات مختلفة؛ لأن التهجين قد يكون غير ناجح فى أحد الاتجاهين، ولكنه ناجح فى الاتجاه الآخر.

ويفضل أن يكون التهجين فى اتجاه معين فى الحالات الخاصة التالية:

أ – عند اختلاف عدد كروموسومات الأبوين .. يفضل استخدام النوع الأكثر فى عدد الكروموسومات كأم، ولكن خلافًا لهذا الاعتقاد .. فإن عديدًا من الهجن البعيدة مع القمح يمكن عملها عندما يستعمل النوع الذى يحتوى على العدد الأقل من الكروموسومات كأم (Sharma ١٩٩٥).

ب – يفضل فى حالة مضاعفة كروموسومات أحد النوعين أن يستخدم النوع المضاعف كأم.

جـ – فى حالة وجود ظاهرة عدم التوافق الذاتى فى أحد النوعين .. يفضل استعماله كأب.

٧ – محاولة إجراء التلقيح فى مراحل مختلفة من النمو البرعمى والزهرى، وغالبًا ما تكون التلقيحات البرعمية أكثر نجاحًا من تلك التى تجرى فى الوقت الطبيعى.

٨ – إزالة الميسم بجزء من القلم؛ لأن ذلك يقلل المسافة التى تجب أن تقطعها الأنبوبة اللقاحية، التى غالبًا ما تقطعها ببطء وصعوبة. وفى هذا الشأن .. أفادت إضافة كمية صغيرة من الآجار مع السكر مكان الميسم المقطوع قبل إجراء التهجينات النوعية فى الجنس *Solanum*.

٩ – معاملة متاع الأم ببعض منظمات النمو؛ مثل بتيا نفثوكس حامض الخليك βNAA لمنع سقوط الأزهار مبكرًا.

١٠ – تطعيم النوع المستخدم كأم على أصل من النوع المستخدم كأب. وتفيد هذه المعاملة فى تهيئة الطعم (الأم) فسيولوجيًا لاستقبال حبوب لقاح النوع الآخر.

١١ – إذا كان من الصعب تهجين نوعين (أ)، و (ب) مباشرة .. فيفضل تهجين أحدهما – وليكن (أ) – مع نوع ثالث (جـ)، ثم تلقيح الهجين (أجـ) مع النوع الثانى (ب). ويسمى النوع (جـ) فى هذه الحالة باسم النوع القنطرى Bridge Species (Briggs & Knowles ١٩٦٧).

١٢ – معاملة الأزهار عند إجراء التهجينات بمركب أمينوإيثوكسى فينيل جليسين aminoethoxyvinylglycine:

أدت المعاملة إلى تأخير سقوط الأزهار، إلى أن وصلت الأنابيب اللقاحية إلى البويضات. ويحدث المركب تأثيره بمنع تمثيل الإثيلين، وهو الهرمون الذى يعرف بدوره فى التعجيل بالشيخوخة، وتساقط الأزهار والثمار (Custers & Den Nijs ١٩٨٦).

١٣ – استخدام مزارع المبايض والبويضات.

١٤ – إدخال حبوب اللقاح فى المبيض مباشرة Intraovarian Pollination:

يتم فى هذه الطريقة حقن معلق لحبوب اللقاح مباشرة داخل المبيض من خلال ثقب جانبى فى المبيض، مع عمل ثقب فى الجانب الآخر؛ للسماح بخروج الهواء، يستمر حقن المعلق إلى أن يمتلئ كل فراغ المبيض ويظهر ذلك بخروج السائل من الثقب المقابل. ويلى ذلك .. سد الثقوب بجلى بترولى، اتبعت هذه الطريقة بنجاح فى بعض الهجن النوعية مثل *Argemone mexicana* × *A. ochroleuca* (عن Bhojwani & Razdan ١٩٨٣).

١٥ – تقنية مزارع الأزهار:

أمكن تهجين الفجل *Raphanus sativus* مع لفت الزيت *Brassica napus* بالاستعانة بتقنية مزارع الأزهار flower-culture technique دونما حاجة إلى مزارع مبايض أو مزارع أجنة (Metz وآخرون ١٩٩٥).

معالجة مشكلة التنافر

إن من أهم الطرق التى اقترحت حديثًا للتغلب على ظاهرة التنافر فى الهجن النوعية – وهى التى تؤدى إما إلى عقم الجيل الأول الهجين، وأما تدهوره فى الأجيال التالية – ما يلى:

١ – التلقيح الرجعى للتغلب على التنافر Congruity Backcrossing:

يتم فى هذه الطريقة إجراء التهجين الرجعى لأحد الأبوين – بالتبادل – فى الأجيال المتعاقبة، كما يلى:

النسل	نسبة جينات A	نسبة جينات B	السيتوبلازم
A × B	٥٠,٠	٥٠,٠	A
(A × B) × A	٧٥,٠	٢٥,٠	A
[(A × B) × A] × B	٣٧,٥	٦٢,٥	A
[(A × B) × A) × B] × A	٦٨,٧٥	٣١,٢٥	A

وتفيد هذه الطريقة عندما يخشى من تدهور الخصوبة بعد الجيل الأول الهجين، ومن مظاهر ذلك عدم اكتمال خصوبة الهجين ذاته بالدرجة الكافية.

٢ – التلقيح القنطرى المتكرر للهجين:

يتم فى هذه الطريقة المقترحة للتغلب على التنافر استعمال الجيل الأول الهجين النوعى كقنطرة لنقل نواة أحد النوعين إلى سيتوبلازم النوع الآخر، كما يلى (عن Liedl & Anderson ١٩٩٣):

النسل	نسبة جينات A	نسبة جينات B	السيتوبلازم
A × B	٥٠,٠	٥٠,٠	A
B × (A × B)	٢٥,٠	٧٥,٠	B
[B × (A × B)] × (A × B)	٣٧,٥	٦٢,٥	B
[(B × (A × B)) × (A × B)] × (A × B)	٤٣,٧٥	٥٦,٢٥	B
[((B × (A×B)) × (A×B)) × (A×B)] × A	٧١,٨٧٥	٢٨,١٢٥	B

التغلب على مشكلة العقم بمضاعفة الكروموسومات

عندما يكون الجيل الأول للهجن النوعية عقيمًا عقمًا تامًا .. فإن مضاعفة عدد كروموسومات الجيل الأول الهجين وجعله متضاعفًا هجينيًا amphiploid تعد أفضل وسيلة للتغلب على مشكلة العقم؛ لتأمينها لحدوث اقتران كروموسومى كامل بين كروموسومات متماثلة.

ولقد ساعد التحكم فى مستوى التضاعف الكروموسومى فى حالات الهجن النوعية، فيما يلى:

١ – التغلب على مشكلة عدم التوافق الخلطى.

٢ – توفير التوازن المطلوب لتقبُّل الهيئة الكروموسومية الغريبة.

٣ – استعادة الخصوبة فى الهجن العقيمة.

٤ – توفير قنطرة وراثية genetic bridge لنقل الجينات بين الأنواع.

٥ – تنظيم تقارن الكروموسومات لتأمين نقل أجزاء كروموسومية تحوى الجينات المرغوب فيها.

من بين الأمثلة الناجحة لتلقيحات نوعية أفاد فيها إحداث التضاعف الكروموسومى تلك التى أجريت فى أجناس معينة، مثل: *Trifolium*، و *Medicago*، و *Hibiscus* (عن Singh ١٩٩٣).

رقم توازن الإندوسبرم وأهميته فى التغلب على العقم فى الهجن النوعية

أهمية الإندوسبرم فى نمو الجنين واكتمال تكوينه

نجد فى حالات الهجن النوعية التى ينهار فيها تكوين الإندوسبرم أن التزاوج يحدث ويبدأ تكوين الجنين، ولكن ما أن تتكون حوالى ١٠–١٥ خلية إندوسبرمية حتى يفشل هذا الإندوسبرم الناشئ فى التميز كمصدر لتغذية البذرة. ومع اضطراب التوازن الغذائى يحدث نمو زائد – بصورة غير طبيعية – للنسيج الأمى، يتبعه انهيار الإندوسبرم. ويؤدى ذلك التدهور فى الإندوسبرم التى تحلل الجنين. وتلك هى المراحل التى تحدث فى كل الهجن النوعية التى يفشل فيها تكوين الإندوسبرم، وإن اختلفت فى سرعة حدوثها بين مختلف الهجن (عن Liedl & Anderson ١٩٩٣).

أهمية توازن العدد الكروموسومى فى تكوين الإندوسبرم

يعتقد أن عدم التناسق الكروموسومى فى الهجن النوعية قد يؤدى إلى الإنتاج الهرمونى غير المتوازن من قِبَل الإندوسبرم؛ ومن ثم تدهور الجنين، أو قد تؤدى حالة عدم التناسق الكروموسومى تلك إلى الإنتاج غير المنظم لإنزيمات الـ nucleases والـ proteases التى قد تقود إلى حدوث تحلل ذاتى للإندوسبرم وهضم للجنين (Lester & Kang ١٩٩٨).

تقريم لنظرية عدد توازن الإندوسبرم

بناء على ما تقدم بيانه .. فقد فُسِّرَ تكوين الإندوسبرم من عدمه فى الهجن النوعية على أساس ما يعرف بنظرية "عدد توازن الإندوسبرم" Endosperm balance number (اختصارًا: EBN). وحسب تلك النظرية، فإن الـ EBN يجب أن يكون بالنسبة المناسبة فى الإندوسبرم، وهى: اثنان EBN أميان: واحد EBN أبوى، لكى يتكون الإندوسبرم بصورة طبيعية؛ علمًا بأن الـ EBN لا يرتبط مباشرة بمستوى التضاعف؛ فقد يختلف الـ EBN بين نوعين بهما نفس مستوى التضاعف، وقد يتساوى الـ EBN فى نوعين يختلفان فى مستوى التضاعف.

وتفترض النظرية أن الـ EBN يتحكم فيه جينات معينة تحمل على كروموسوم أو أكثر من الهيئة الكروموسومية للنوع المعنى، ولكن تلك العوامل المسئولة عن الـ EBN لم تحدد بعد، ولم يعرف أى دليل على وجودها.

نظرية رقم توازن الإندوسبرم

يتوقف استمرار الجنين فى نموه إلى حين اكتمال تكوينه – فى كل مغطاة البذور – على النمو الطبيعى للإندوسبرم؛ وبذا .. فإن التكوين الطبيعى للإندوسبرم يعد متطلبًا أساسيًا لنجاح أى تهجين نوعى. ومن أهم شروط التكون الطبيعى للإندوسبرم أن تكون نسبة الكروموسومات الأمية إلى الأبوية ٢ : ١؛ الأمر الذى يتحقق فى التلقيحات الصنفية وفى عديد من التهجينات النوعية. هذا إلا أنه يعرف العديد من التلقيحات النوعية التى لا يعتمد فيها التكون الطبيعى للإندوسبرم على النسبة ٢ : ١ للكروموسومات الأمية والأبوية، ومثال ذلك التهجين بين *Solanum acaule* (وفيه ٢ن = ٤س = ٤٨ كأم، و *S. tuberosums* وفيه (٢ن = ٤س = ٤٨) كأب، والذى لا يعطى أى بذور، بينما يتلقح *S. acaule* بنجاح تام مع أنواع كثيرة ثنائية التضاعف وحتى مع *S. tuberosun* الثنائى (٢ن = ٢س = ٢٤). ويعنى ذلك أنه على الرغم من توفر النسبة الكروموسومية ٢ : ١ فى التهجين بين *S. acaule* والبطاطس الرباعية فإن الجنين يفشل فى إكمال نموه، بينما تنجح التهجينات بين *S. acaule* والأنواع الثنائية، وهى التلقيحات التى تكون فيها النسبة الكروموسومية ٤ : ١.

ولتفسير تلك النتائج المخالفة للنظرية التى كانت سائدة وضع Johnston فى عام ١٩٨٠ نظرية جديدة أطلق عليها نظرية رقم توازن الإندوسبرم endosperm balance number (اختصارًا EBN)؛ لأجل تحديد عامل واحد موحد يتحكم فى التكوين الطبيعى للإندوسبرم فى الهجن الصنفية التى تتضمن مستويات مختلفة من التضاعف، وكذلك فى الهجن النوعية.

وتبعًا لتلك النظرية .. فإن لكل نوع مستوى معين من التضاعف خاص بهيئته الكروموسومية، يعرف برقم التوازن الإندوسبرمى EBN هو الذى يحدد تطور تكوين الإندوسبرم فى التلقيحات مع الأنواع الأخرى. ولكى تكون التلقيحات ناجحة، فإن إندوسبرم الهجين يجب أن تكون فيه نسبة EBN ٢ من الأم: ١ من الأب. وإذا ما انحرفت نسبة الـ EBN عن ذلك فإن الإندوسبرم يتحلل أثناء تكونه.

وتجدر الإشارة إلى أن رقم توازن الإندوسبرم قد يختلف بين نوعين يتماثلان فى مستوى التضاعف. فمثلاً .. يتلقح *Solanum chacoense* الثنائى التضاعف (٢س) بسهولة مع النوع *S. acaule* الرباعى (٤س)؛ لينتج نسل ثلاثى التضاعف (٣س)، بينما لا يتلقح *S. chacoense* الثنائى التضاعف مع *S. tuberosum* الرباعى التضاعف؛ مما يدل على أن الأخير ليس له نفس رقم التوازن الإندوسبرمى الخاص بالنوع *S. chacoense*. وقد وجد أن مضاعفة عدد كروموسومات *S. chacoense*. ليصبح رباعى التضاعف (٤س)، تجعله يتلقح بسهولة تامة مع *S. tuberosum*. ويعنى ذلك أن عدد التوازن الإندوسبرمى فى *S. tuberosum* الرباعية التضاعف لابد وأن يكون أربعة.

وتبعًا لما سبق بيانه، وتأسيسًا على نظرية رقم توزان الإندوسبرم .. فإن التهجين بين *S. acaule* و *S. tuberosum* يجب ألا يعطى إندوسبرم طبيعى إلاّ عندما يكون بين *S. acaule* مضاعفة (٤س)، و *S. tuberosum* (٢س)، أو بين *S. acaule* ثمانية (٨س) مع *S. tuberosum* عادية (٤س)، وهذا ما ثبت بالفعل. ولقد تأكدت صحة هذه النظرية من خلال تلقيحات أخرى نوعية فى الأجناس *Solanum*، و *Impatiens*، و *Trifolium*، و *Avena*. وتفسر تلك النظرية – كذلك – الاختلافات المشاهدة بين الهجن النوعية فى اتجاه ما والهجن النوعية ذاتها فى الاتجاه الآخر؛ فعلى الرغم من أن التركيب الوراثى للجنين يكون متماثلاً فى الحالتين، إلاّ أن الإندوسبرم سوف يختلف فى نسبة الـ

EBN، فمثلاً يعطى التلقيح: (4EBN x 2EBN) نسبة EBN أمية: أبوية ٤ : ١، بينما تكون تلك النسبة فى التلقيح العكسى ١ : ١.

ويستفاد مما تقدم أن اشتراك النوعين فى نفس مستوى التضاعف ليس شرطًا لنجاح التهجين النوعى بينهما؛ فالعبرة هى فى أن تكون نسبة رقم التوازن الإندوسبرمى الأمى إلى الأبوى ٢ : ١؛ وفى المقابل .. يمكن الاستفادة من التضاعف فى توفير رقم التوازن الإندوسبرمى المناسب لتحقيق النسبة المطلوبة لنجاح التهجين.

وعندما تتوفر لدينا معلومات عن رقم توازن الإندوسبرم فى مجموعة من الأنواع التابعة لجنس ما فإنه يمكن التنبؤ بإمكان نجاح أى تهجين نوعى من عدمه، وبما يلزم إحداثه من تضاعف كروموسومى لتأمين نجاح التهجين.

وعلى الرغم من أن تحقيق نسبة رقم توازن الإندوسبرم الأمية إلى الأبوية يعد ضروريًا لنجاح التهجين النوعى، إلاّ أن التهجين قد يفشل لأسباب أخرى، مثل العوائق السابقة للإخصاب وعدم التوافق بين الهيئات الكروموسومية للأنواع المهجنة.

وقد أوضحت دراسات أخرى حديثة أن رقم توازن الإندوسبرم ليس خاصًا بكل البيئة الكروموسومية؛ ففى الداتورة *Datura strammonium* التى يوجد بها ١٢ كروموسومًا .. يتحدد رقم التوازن الإندوسبرمى بكروموسومين فقط؛ وفى التهجين بين *S. commersonii* كأم مع *S. chacoense* كأب وجد أن رقم التوازن الإندوسبرمى يتحكم فيه ثلاث جينات غير مرتبطة (عن Singh وآخرين ١٩٩٠).

ولمزيد من التفاصيل عن نظرية الـ EBN .. يراجع Liedl & Anderson (١٩٩٣).

الهجن النوعية الطبيعية وأهميتها فى نشأة الأنواع وتطورها

يعتقد أن أنواعًا كثيرة قد نشأت – طبيعيًا – من هجن نوعية بعيدة، وأن بعض هذه الهجن كان بين أجناس نباتية مختلفة. ومن بين النباتات التى يعتقد نشأتها بهذا الشكل السوسن، والأوركيد، والقنّا، والداليا، والجلاديولس، والورد، والبنفسج، والحور.

كما حدثت هجن نوعية كثيرة صاحبت نشأة عدد من الفواكه المهمة؛ مثل التفاح،