الفصل الثامن

الظواهر المستعملة فى إنتاج الهجن : العقم الذكرى وعدم التوافق

يستفيد المربى من عدد من الظواهر النباتية الطبيعية فى تسهيل إنتاج الهجن ، وإجراء التلقيحات . ومن هذه الظواهر انفصال الجنس ، والعقم الذكرى ، وعدم التوافق . وقد سبق تناول ظاهرة انفصال الجنس بالتفصيل فى الفصل الثانى ، وتتناول الظاهرتين الأخريين فى هذا الفصل قبل الدخول فى تفاصيل طرق إنتاج الأصناف الهجين فى الفصل العاشر .

العقم الذكرى

تنتشر ظاهرة العقم الذكرى Male Sterility انتشاراً واسعًا فى المملكة النباتية ، لدرجة أنها وجدت فى أى محصول بحث فيه عنها . كما تتكرر الظاهرة بأكثر من جين فى المحصول الواحد ؛ فيعرف – مثلا – ٢٤ زوجاً من الجينات غير الأليلة ، تتحكم فى طفرات مختلفة من العقم الذكرى فى الشعير ، ونحو ٢٤ زوجًا فى الذرة ، ونحو ٥٠ زوجًا فى الطماطم ، و ٩ أزواج فى البسلة (Myers & Gritton ١٩٨٨) .

مظاهر العقم الذكرى

تؤدى حالة العقم الذكرى إلى عدم قدرة النبات على أن يكون ملقحاً لأزهاره أو لأزهار

أية نباتات أخرى . ويأخذ العقم الذكرى أحد ثلاثة مظاهر ، هى :

١- عقم حبة اللقاح Pollen Sterility :

تخلو المتوك فى هذه الحالة من حبوب اللقاح ، أو تنتج بها حبوب لقاح ضامرة ، لاتصلح للتلقيح .

٢- عقم الأسدية Staminal Sterility :

تتحور أسدية الطلع فى هذه الحالة إلى تراكيب أخرى ، أو قد تختفى كلية ؛ ففى الجزر - مثلاً - توجد سلالات عقيمة الذكر ، تتحور فيها الأسدية إلى تراكيب بتلية مختلفة الأشكال ، ويطلق على الظاهرة فى هذه الحالة اسم Petaloidy (Eisa & Wallace ١٩٦٩) .

٣- عدم تفتح المتوك Positional sterility :

تفشل المتوك فى هذه الحالة فى التفتح ، رغم أنها تكون ممتلئة بحبوب لقاح خصبة ، قادرة على إحداث الإخصاب لو أنها استعملت فى التلقيح يدوياً .

ويُعنى بالعقم الذكرى -عادة- عقم حبة اللقاح ؛ لأنه أكثر مظاهر العقم شيوعاً . وأياً كان مظهر العقم .. فإنه قد يتحكم فيه عوامل وراثية فى النواة ، أو فى السيتوبلازم ، أو فى كليهما .

العقم الذكرى الوراثى

ينتشر العقم الذكرى الوراثى genetic male sterility فى جميع النباتات الثنائية المجموعة الكروموسومية ، سواء أكانت برية أم مزروعة . ويتحكم فى هذا النوع من العقم - عادة - عامل وراثى واحد مُتنَحٍ ، إلا أنه قد يتفاعل -أحياناً- عاملان وراثيان ، أو أكثر ؛ لإعطاء صفة العقم ، ويرمز إلى عامل العقم الذكرى بالرمز ms (وهما الحرفان الأولان لكلمتى male sterility) ، ويكون التركيب الوراثى ms ms عقيماً ، بينما يكون التركيبان الآخران (Ms Ms ، و Ms ms) ذوى خصوبة .

يمكن نقل صفة العقم الذكرى الوراثى بسهولة إلى أى صنف ، أو سلالة ، يراد

استعمالها كأم فى الهجن ؛ وذلك باتباع طريقة التهجين الرجعى (يراجع الفصل الثانى عشر للتفاصيل الخاصة بهذه الطريقة) . وتستعمل السلالة التى يُراد نقل صفة العقم الذكرى إليها كأب ؛ لتلقيح السلالة الحاملة لصفة العقم الذكرى ، ثم يُلقح الجيل الأول – ذاتيًا – لعزل النباتات الأصيلة فى صفة العقم ، وهذه تُلقح -بدورها رجعيًا- مرة أخرى بالصنف المراد نقل صفة العقم الذكرى إليه . وباستمرار التلقيحات الرجعية المتبوعة بالتلقيح الذاتى .. تحصل بعد ٦–٨ تلقيحات رجعية على سلالة جديدة ، تتشابه مع السلالة الأصلية فى جميع الصفات ، فيما عدا احتوائها على صفة العقم الذكرى .

وتتم المحافظة على السلالات العقيمة الذكر باتباع إحدى الطرق التالية :

١– بالتلقيح الذاتى اليدوى للحالات التى تنتج فيها الأزهار حبوب لقاح خصبة ، ولكن متوكها تكون غير قادرة على التفتح . وتتطلب هذه الطريقة جهداً خاصًا من المربى ؛ لإدامة السلالات العقيمة الذكر .

٢– بالاستفادة من ظاهرة الخصوبة الجزئية ، التى تظهر على النباتات العقيمة الذكر تحت ظروف معينة بإكثارها فى هذه الظروف ، بينما يمكن استعمالها فى إنتاج الهجن فى الظروف التى يكون فيها العقم تامًا . ومن أمثلة ذلك .. حالة عقم نكرى ظهرت فى القطن ، كانت فيها النباتات المتنحية الأصيلة خصبة جزئيًا ، تحت ظروف البيوت المحمية (الصوبات) بينما كانت عقيما تماماً تحت ظروف الحقل ، وظهرت حالة عقم أخرى فى الجزر ، كانت فيها النباتات خصبة – جزئيًا – فى ولاية وسكنس ، بينما كانت عقيمة تماما فى ولاية كاليفورنيا (Duvick ١٩٦٦) .

٣– بتلقيح السلالة العقيمة الذكر الأصيلة (ms ms) بسلالة أخرى ذات أصول وراثية مماثلة isogenic line ، تكون خصبة الذكر وخليطة (Ms ms) ، ويؤدى التلقيح بينهما إلى إنتاج نسل يتوفر فيه التركيبان الوراثيان ms ms ، و Ms ms لنفس السلالة ، بنسبة ١:١ ، ويمكن بتلقيحهما – معًا – الاستمرار فى المحافظة على السلالة العقيمة الذكر، كلما تطلب الأمر إكثارها .

هذا .. ويؤدى استعمال السلالات العقيمة الذكر وراثيا -كأم فى التهجينات- إلى إنتاج هجن تكون خليطة (Ms ms) وخصبة . وتقل الاستفادة من هذه الظاهرة فى إنتاج الهجن التجارية من المحاصيل الذاتية التلقيح ؛ نظراً للحاجة إلى وسيلة صناعية لنقل حبوب اللقح

من السلالة المستعملة كأب إلى السلالة العقيمة الذكر المستعملة كأم ، ولكنها – أى الظاهرة – تفيد – على الأقل – فى تجنب الحاجة إلى إجراء عملية خصى أزهار سلالات الأمهات . كما اقترح استعمال العقم الذكرى ؛ كوسيلة لتسهيل عملية الانتخاب المتكرر فى هذه الفئة من النباتات .

العقم الذكرى السيتوبلازمى

يحدث العقم الذكرى السيتوبلازمى Cytoplasmic Male Sterility عندما يوجد فى السيتوبلازم عامل خاص بالعقم ، يرمز له بالرمز S (من العقم Sterility) ؛ بينما يوجد العامل F (من الخصوبة Fertility) فى سيتوبلازم النباتات غير العقيمة .

ويمكن نقل صفة العقم الذكرى السيتوبلازمى – بسهولة – إلى أى صنف أو سلالة يراد استعمالها كأم فى الهجن ؛ وذلك باتباع طريقة التهجين الرجعى . وتستعمل السلالة التى يراد نقل صفة العقم الذكرى إليها كأب لتلقيح السلالة الحاملة لصفة العقم الذكرى السيتوبلازمى . وتكون نباتات الجيل الأول الناتجة عقيمة الذكر ، لأن السيتوبلازم ينتقل إليها من الأم العقيمة الذكر ، المحتوية على عامل العقم الذكرى . وتلقح نباتات الجيل الأول – رجعيًا – بالسلالة المراد نقل صفة العقم الذكرى إليها ؛ وباستمرار هذه العملية .. نحصل (بعد ٦–٨ تلقيحات رجعية) على سلالة جديدة ، تتشابه مع السلالة الأصلية فى جميع الصفات فيما عدا احتوائها على صفة العقم الذكرى .

وتتم المحافظة على السلالات الحاملة لعامل العقم الذكرى السيتوبلازمى بسهولة وإكثارها ؛ وذلك بتلقيحها بسلالة أخرى من نفس الصنف isogenic line تكون خصبة الذكر . وتكون النباتات الناتجة من هذا التلقيح عقيمة الذكر ؛ لأنها تتلقى السيتوبلازم من الأم العقيمة ، كما تكون مماثلة للسلالة التى يراد إكثارها ؛ إذ لايحدث بها أى تغير فى التركيب الوراثى لتشابه أبوى التلقيح وراثيًا . وتستمر المحافظة على السلالة بتكرار نفس التلقيح .

ويؤدى استعمال السلالات العقيمة سيتوبلازميًا كأم فى التهجينات إلى إنتاج هجن تكون عقيمة الذكر ؛ لذا .. فإن استعمال هذا النوع من العقم الذكرى لايصلح للمحاصيل التى تؤكل ثمارها أو بذورها (لأن نباتات الجيل الأول الهجين تكون عقيمة ، ولاتنتج

محصولاً من الثمار) ، ولكنه يناسب كلاً من نباتات الزينة والمحاصيل الإقتصادية ، التى تزرع من أجل أجزائها الخضرية ؛ كالبصل والبنجر . وتعد حالة العقم – فى نباتات الجيل الأول الهجين – أمراً مرغوباً فيه فى نباتات الزهور ، حيث تحتفظ الأزهار العقيمة بنضارتها لفترة أطول من الأزهار الخصبة ، التى تذبل – سريعاً – بعد التلقيح والإخصاب .

وكما سبق بيانه بالنسبة لحالة العقم الذكرى الوراثى .. فإن صفة العقم الذكرى السيتوبلازمى تقل الاستفادة بها فى إنتاج الهجن التجارية من المحاصيل الذاتية التلقيح ؛ كالفلفل ، والطماطم ؛ نظراً للحاجة إلى وسيلة صناعية لنقل حبوب اللقاح من السلالة المستعملة كأب إلى السلالة العقيمة الذكر المستعملة كأم .

العقم الذكرى الوراثى - السيتوبلازمى

يتشابه العقم الذكرى الوراثى – السيتوبلازمى Genetic-Cytoplasmic Male Sterility مع العقم الذكرى السيتوبلازمى فى كونه يرجع إلى وجود عامل خاص بالعقم فى السيتوبلازم ، يرمز إليه بالرمز S ، وعامل الخصوبة F فى سيتوبلازم النباتات غير العقيمة ؛ ولكنهما يختلفان فى وجود عامل وراثى آخر سائد فى النواة فى حالة العقم الذكرى –السيتوبلازمى ، ويطلق على هذا العامل اسم «جين الإرجاع Restorer Gene» لأن وجوده يؤدى إلى إرجاع النباتات التى تحمل عامل العقم S فى سيتوبلازم خلاياها إلى حالة الخصوبة . ولايكون هذا الجين مؤثراً عند وجوده فى الحالة المتنحية الأصيلة ، وعليه .. فإن التراكيب الوراثية الممكنة فى حالة العقم الذكرى الوراثى السيتوبلازمى تكون كما يلى :

السيتوبلازم	النواه	حالة النبات
S	RR	خصب
S	Rr	خصب
S	rr	عقيم
F	RR	خصب
F	Rr	خصب
F	rr	خصب

أى إنه لايوجد سوى تركيب وراثى واحد عقيم ، هو Srr .

تورث صفة العقم الذكرى الوراثى -السيتوبلازمى كأية صفة مندلية بسيطة ، مع ملاحظة أن السيتوبلازم يورث عن طريق الأم ؛ وعليه .. فإن نسل التلقيحات المختلفة يكون كما يلى :

التلقيح	الأم (عقيمة الذكر)	الأب (خصب الذكر)	النسل: التركيب الوراثى	النسل: الشكل الظاهرى
-١	Srr	Frr	Srr	عقيم
-٢	Srr	Srr	Srr	عقيم
-٣	Srr	FRR	SRr	خصب
-٤	Srr	SRr	Srr 1 : SRr 1	١ خصب : ١ عقيم
-٥	Srr	FRr	Srr 1 : SRr 1	١ خصب : ١ عقيم

ويمكن نقل صفة العقم الذكرى الوراثى -السيتوبلازمى بسهولة إلى أى صنف أو سلالة يراد استعمالها كأم فى الهجن ؛ وذلك باتباع طريقة التهجين الرجعى - كما سبق بيانه - بالنسبة لنقل صفة العقم الذكرى السيتوبلازمى . وتستعمل السلالة التى يراد نقل صفة العقم الذكرى إليها (التى يكون تركيبها الوراثى Frr) كأب لتلقيح السلالة الحاملة لصفة العقم الذكرى (التى يكون تركيبها الوراثى Srr) . وتكون نباتات الجيل الأول عقيمة الذكر؛ لأن السيتوبلازم ينتقل إليها من الأم العقيمة الذكر . وتلقح نباتات الجيل الأول - رجعيًا - بالسلالة المراد نقل صفة العقم الذكرى إليها ؛ وباستمرار ذلك .. نحصل بعد ٦-٨ تلقيحات رجعية على سلالة جديدة ، تتشابه مع السلالة الأصلية فى جميع الصفات ، فيما عدا احتوائها على صفة العقم الذكرى .

ويمكن إكثار السلالات الحاملة لصفة العقم الذكرى الوراثى - السيتوبلازمى (Srr) ، والمحافظة عليها ؛ وذلك بتلقيحها بسلالة أخرى من نفس الصنف isiogenic line تكون خصبة الذكر ، وذات تركيب وراثى Frr . وتكون النباتات الناتجة من هذا التلقيح عقيمة الذكر ؛ لأنها تتلقى السيتوبلازم من الأم العقيمة ، كما تكون مماثلة للسلالة التى يراد إكثارها ، إذا لم يحدث بها أى تغير فى التركيب الوراثى ؛ لتشابه أبوى التلقيح وراثيًا . وتستمر المحافظة على السلالة بتكرار نفس التلقيح . ولحسن الحظ .. فإن التركيب الوراثى

Frr شائع الوجود ؛ فهو قد وجد – مثلا– فى جميع الأصناف التجارية من البصل تقريبًا .

كان أول تطبيق لاستعمال العقم الذكرى الوراثى – السيتوبلازمى فى إنتاج الهجن فى محصول البصل بواسطة Jones & Davis فى عام ١٩٤٤ . ويلزم لإنتاج البذرة الهجين أن تكون السلالة المستعملة كأم ذات تركيب وراثى Srr ، أما ، سلالة الأب .. فيمكن أن تكون ذات تركيب وراثى FRR ، أو FRr ، أو Frr ، أو SRR ، أو SRr ، وجميعها تراكيب وراثية خصبة . ويتوقف التركيب المناسب على كون الهجين المنتج يزرع لأجل ثماره وبذوره ، أم لأجل أجزائه الخضرية .

الجينات المُعلِّمة

الجينات المُعلِّمة Marker genes هى جينات تتحكم فى صفات بسيطة فى وراثتها ، ويمكن تمييزها بسهولة ، ويفضل إمكان التعرف عليها فى طور البادرة ، ويستفاد منها فى أحد الأمرين التاليين ، وكلاهما يتعلق بظاهرة العقم الذكرى فى إنتاج الهجن :

١– إذا كان الجين المُعلِم شديد الارتباط بالجين الخاص بالعقم الذكرى ، أو إذا كان جين العقم الذكرى ذاته ذا تأثير واضح فى صفة أخرى يمكن تمييزها بسهولة (أى حينما يمكن اعتبار جين العقم الذكرى جيناً معلماً –أيضاً – ذا تأثير متعدد Pleotropic gene) .. فإنه يمكن تمييز النباتات العقيمة الذكر بسهولة عن النباتات الخصبة الذكر ، ويمكن – بالتالى – إزالة النباتات الخصبة الذكر من خطوط الأمهات عند إنتاج الهجن ؛ فعلى سبيل المثال .. يوجد فى البطيخ جين مُتنحٍ ، يجعل النبات عقيماً ، وذا أوراق ملساء ، كما يوجد فى الخس ثلاثة جينات متنحية (ms_1 ، و ms_2 ، و ms_3) ، يؤدى وجودها – مجتمعة بحالة أصيلة – إلى جعل النبات عقيم الذكر ، وذا أوراق ضيقة ، قمتها حادة ، ويمكن تمييزها . وفى كلتا الحالتين السابقتين .. تكون النباتات الخصبة الذكر ذات أوراق طبيعية، بحيث يمكن تمييزها بسهولة ، وإزالتها من خطوط الأمهات .

٢– إذا تحكم الجين المعلم فى صفة بسيطة ، وكان يوجد بحالة متنحية أصيلة فى سلالات الأمهات العقيمة الذكر ، وبحالة سائدة أصيلة فى سلالات الآباء الخصبة الذكر .. فإن الهجن الناتجة تكون حاملة للجين السائد (المُعلم) بحالة خليطة ؛ وبذا .. يمكن تمييز الهجن عن النباتات التى تنتج من التلقيح الذاتى لسلالات الأمهات .

العقم الذكرى المُحدَث صناعيًا

وُجِدَ أن بعض المركبات الكيميائية تحدث عقما ذكريًا فى النباتات التى تعامل بها ، وقد أطلقَ عليها اسم «مبيدات الجاميطات gametocides » . ويذكر Craig (١٩٦٨) أن استعمال مبيدات الجاميطات لقتل حبوب اللقاح قد يكون مرغوباً فى بعض الحالات ، إلا أن المتوفر منها حاليًا لايمكن الاعتماد عليه . ومن أمثلة ذلك إحداث العقم الذكرى فى القمح ؛ برش النباتات بالإيثيفون Ethephon بتركيز ١٠٠٠-٢٠٠٠ جزء فى المليون ، وفى البصل .. بالرش مرتين بمحلول الجبريللين بتركيز ٢٪ فى بداية مرحلة نمو الشماريخ الزهرية . وقد كان التأثير فى الحالة الأخيرة مؤقتا ، وظهر فى بداية مرحلة الإزهار فقط (Van der Meer & Van der Bennekom ١٩٧٣) .

ولمركب المندوكس Mendox (أو FW450) القدرة على منع أزهار القرعيات من التفتح برغم اكتمال تكوينها . وهو لا يعد من مبيدات الجاميطات ؛ لأن حبوب اللقاح والبويضات تتكون بصورة طبيعية . وقد اقترحت المعاملة به كبديل لعملية غلق الأزهار أو تكييسها قبل إجراء التلقيحات ، وهى العملية الضرورية لمنع وصول حبوب اللقاح غير المرغوبة إليها عن طريق الحشرات .

وتتميز مبيدات الجاميطات – التى تُحدِثُ عقماً ذكريًا – بإمكان استخدامها فى إحداث العقم الذكرى فى سلالة يرغب فى استخدامها كأم فى الهجن ، وتفيد فى تجنب ضرورة الاعتماد على تركيب وراثى معين ؛ كمصدر للعقم الذكرى السيتوبلازمى ، ومايصاحب ذلك من أخطار الاعتماد على مصدر واحد للسيتوبلازم ، وهو الذى أدى فى محصول مثل الذرة إلى سرعة انتشار مرض لفحة الأوراق بحالة وبائية فى الولايات المتحدة الأمريكية .

وتنبغى أن تتوفر فى مبيدات الجاميطات المثالية الشروط التالية :

١- أن تحدث عقماً ذكريًا ، ولاتحدث عقماً أنثويًا .
٢- أن تثبط تكوين حبوب اللقاح بصورة تامة .
٣- ألا يتأثر فعلها بالعوامل البيئية .
٤- ألا يتأثر فعلها باختلاف التركيب الوراثى للنبات .
٥- أن تكون فعالة فى المراحل المختلفة للنمو النباتى .

٦- ألا يكون لها تأثيرات ضارة فى النبات ، أو البيئة .
٧- أن يكون استعمالها اقتصاديًا .

هذا .. ولايتوفر - إلى الآن - مبيد جاميطات واحد ، تتوفر فيه كل الشروط السابقة ، أو معظمها . ويعتبر الماليك هيدرازيد ، وحامض الجبريلليك ، والإيثيفون ، والمنوكس أكثرها استعمالاً فى الوقت الحاضر . ولمزيد من التفاصيل عن مبيدات الجاميطات .. يراجع Duvick (١٩٦٦) ، و Pearson (١٩٨١) ، و Nickell (١٩٨٢) .

عدم التوافق

تنتشر ظاهرة عدم التوافق Incompatibility فى المملكة النباتية ؛ حيث إنها وجدت فى أكثر من ٣٠٠٠ نوع نباتى ، تمثل عدداً كبيراً من العائلات النباتية . وينتج النبات عديم التوافق حبوب لقاح خصبة وطبيعية إلا أنه لايمكن تلقيحه ذاتيا ، كما لايمكن تلقيحه مع أى نبات آخر ، يحمل نفس عوامل عدم التوافق . ويطلق على الظاهرة - فى الحالة الأولى- اسم عدم التوافق الذاتى Self Incompatibility بينما تعرف فى الحالة الثانية باسم Cross Incompatibility .

يستفاد من ظاهرة عدم التوافق فى إنتاج الهجن التجارية ؛ حيث تنقل للسلالات المستخدمة فى إنتاج الهجن أليلات مختلفة لعدم التوافق ؛ وبذا .. تُصبح كل سلالة غير متوافقة ذاتيًا ، ولكنها متوافقة - خلطيًا - مع السلالة الأخرى . وتؤدى زراعتهما فى خطوط متبادلة إلى أن يُلقح كل منهما الآخر ؛ لاستحالة حدوث التلقيح الذاتى فى أى منهما . وتكون البذور التى تنتجها كلتا السلالتين - فى هذه الحالة - بذور هجين .

وعلى خلاف ظاهرة العقم الذكرى .. فإن ظاهرة عدم التوافق يمكن الاستفادة منها فى إنتاج هجن النباتات الذاتية التلقيح ، التى قد تزورها الحشرات لجمع حبوب اللقاح ؛ ذلك لأن النباتات غير المتوافقة - ذاتيًا - تنتج حبوب اللقاح بصورة طبيعية . ويحدث ذلك فى الطماطم التى قد تزورها الحشرات -أحياناً- لجمع حبوب اللقاح -وليس الرحيق- لذا .. لاتفيد معها ظاهرة العقم الذكرى ، بينما قد تفيد ظاهرة عدم التوافق (Sneep & Hendriksen ١٩٧٩) .

تأثير حالة عدم التوافق على إنبات حبوب اللقاح

يختلف تأثير حالة عدم التوافق على إنبات حبوب اللقاح باختلاف الأنواع النباتية كما يلى :

١- يقل إنبات حبوب اللقاح - كثيراً - فى بعض الأنواع - كما فى البروكولى - حيث يحدث التفاعل بين حبوب اللقاح وأنسجة الميسم . ويؤدى - أحياناً - قطع الميسم أو هرسه إلى التخلص من حالة عدم التوافق .

٢- تنبت حبوب اللقاح بصورة طبيعية ، ثم يتوقف نمو أنابيب اللقاح فى الميسم فى نباتات أخرى كما فى الجنس *Nicotiana* . وتختلف المسافة التى تقطعها الأنابيب اللقاحية فى الميسم باختلاف الأنواع النباتية .

٣- قد تنبت حبوب اللقاح بشكل طبيعى ، وتصل إلى البويضة وتخصبها ، ولكن البذور لاتتكون لحدوث تدهور للبويضة المخصبة . وتلك حالة نادرة ، وتوجد فى الكاكاو ، وجنس *Gasteria* (Elliott ١٩٥٨ ، و Briggs & Knowles ١٩٦٧) .

أنواع عدم التوافق

جرى العرف على تقسيم حالات عدم التوافق على النحو التالى :

١- حالات يختلف فيها الوضع النسبى لكل من ميسم الزهرة ومتوكها ؛ بسبب اختلاف طول كل من القلم وخيوط الأسدية ، وتعرف باسم Heteromorphic Incompatibility .

٢- حالات يكون فيها ميسم الزهرة ومتوكها فى مستوى واحد تقريبًا ، وتعرف باسم Homomorphic Incompatibility ، وهى تقسم بدورها إلى طرازين ، هما :

(أ) عدم التوافق الجاميطى Gametophytic Incompatibility .

(ب) عدم التوافق الاسبوروفيتى Sporophytic Incompatibility .

وجدير بالذكر .. أن جميع حالات عدم التوافق لاتعتمد على الوضع النسبى لكل من ميسم الزهرة ومتوكها ؛ بل إن عدم التوافق الـ heteromorphic (الذى يختلف فيه الوضع النسبى لكل من الميسم والمتوك) هو - فى حد ذاته - نوع من عدم التوافق الاسبوروفيتى ، كما سيأتى بيانه .

حالات اختلاف الوضع النسبى لميسم الزهرة ومتوكها

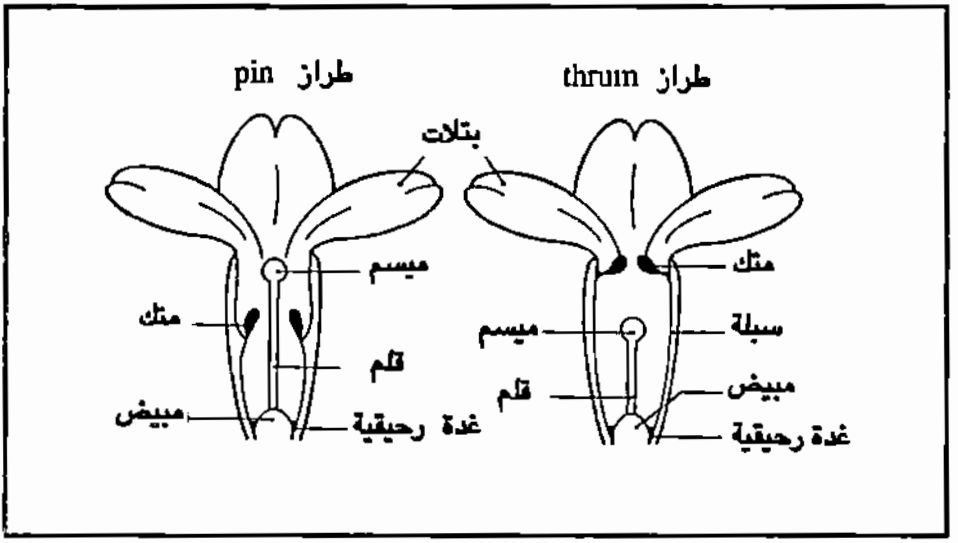
كان دارون Darwin أول من اكتشف هذه الظاهرة ، وذكر وجودها فى ٣٨ جنساً نباتيًا ، وشرحها بالتفصيل فى نبات *Primula sinensis* . ويوجد فى هذا النبات طرزان من الأزهار ، هما :

١- طراز الدبوس Pin Type :

يتميز هذا الطراز ، بطول قلم الزهرة ، وقصر الأسدية ؛ وبذا .. يكون الميسم فى مستوى أعلى من مستوى المتوك .

٢- طراز «ثرم» Thrum Type :

يتميز هذا الطراز بقصر قلم الزهرة وطول الأسدية ؛ وبذا .. يكون الميسم فى مستوى أدنى من مستوى المتوك (شكل ٨-١) .



شكل (٨ - ١) : طرازا الأزهار pin ، و thrum فى نبات *Primula sinensis* (عن Birkett ١٩٧٩) .

يتحكم فى الشكل المظهرى لهذين الطرازين سلسلة من الجينات الشديدة الارتباط ، ونادرا ما يحدث بينها عبور ، وتعامل كجين واحد يطلق عليه اسم الجين الفائق super gene ، ويرمز له بالرمز S . ويتحكم الاليل السائد S فى طراز الثرم thrum ، بينما يتحكم الأليل المتنحى s فى طراز الدبوس pin . ولاترجع حالة عدم التوافق – فى هذه النباتات – إلى اختلاف الوضع النسبى للميسم والمتوك ، وإنما ترجع إلى حالة من عدم التوافق الاسبوروفيتى ؛ إذ إن النبات المنتج لحبوب اللقاح هو الذى يحدد إن كانت حبوب اللقاح قادرة على الإنبات على ميسم معين ، أم غير قادرة .

وفى الأنواع التى يوجد فيها الطرازان السابقان للأزهار (pin ، و thrum) – التى تعرف باسم ذى القلمين distyly (نسبة إلى وجود طولين مختلفين لقلم المتاع) – يكون التلقيح pin x pin (ss x ss) غير متوافق ، ولايوجد تركيب وراثى أصيل سائد SS ؛ لأن التلقيح thrum x thrum غير متوافق أيضاً . وتكون جميع الأفراد الـ thrum ذات تركيب وراثى Ss ؛ لأنها تنتج من التلقيح الوحيد المتوافق ، وهو : pin (ss) x thrum (Ss)، الذى يكون النسل فيه من طرازى pin (ss) ، و thrum (Ss) بنسبة ١:١ سواء أكان التلقيح فى الاتجاه المبين ، أم فى الاتجاه العكسى (أى سواء أكان طراز pin – مثلا – مستعملاً كأم ، أم كأب فى التلقيح) .

وتوجد أنواع يوجد بها ثلاثة أطوال لقلم الزهرة (tristyly) ، هى : الطويل ، والمتوسط ، والقصير ، وتكون التلقيحات غير المتوافقة فيها هى : طويل × طويل ، ومتوسط × متوسط ، وقصير × قصير . ويتحكم فى هذا النوع من عدم التوافق عاملان وراثيان ، هما : S ، و M ، لكل منهما أليلان ، أحدهما سائد ، والآخر متنحٍ . وتكون النباتات ذات الأقلام الطويلة متنحية أصيلة فى العاملين الوراثيين ؛ أى ss mm ، وتكون النباتات ذات الأقلام المتوسطة الطول إما ss Mm وإما SS MM . ويؤدى وجود الأليل السائد S إلى جعل قلم الزهرة قصيراً ، أيًا كان التركيب الوراثى فى الموقع M ؛ وعليه .. فإن النباتات ذات الأقلام القصيرة .. يكون تركيبها الوراثى إما S-M- ، وإما S-mm .

ورغم أن حالة عدم التوافق وحالة الوضع النسبى لميسم الزهرة ومتوكها يتلازمان – بشدة – فى الطبيعة إلا أنه توجد أدلة على أن الصفتين محكومتان بجينات مختلفة . وقد اقتُرِحَ أن حالة الـ tristyly الأخيرة يتحكم فيها جين مركب ؛ يتكون من خمس وحدات

شديدة الارتباط ، تختص اثنتان منها بحالة عدم التوافق الاسبوروفيتى ، والثالثة بطول القلم ، والرابعة بارتفاع المتوك ، والخامسة بحجم حبوب اللقاح .

عدم التوافق الجاميطى

اكتشف East & Mangelsdorf ظاهرة عدم التوافق الجاميطى Gametophytic Incompatibility فى نبات *Nicotiana sanderae* فى عام ١٩٢٥ . تنتشر الظاهرة – خاصة – فى العائلات الباذنجانية ، والوردية ، والعليقية . وتبعا لهذه الظاهرة .. فإن عاملا وراثيًا واحداً يرمز إليه بالرمز S (نسبة إلى حالة العقم sterility التى يحدثها) هو الذى يتحكم فى إنبات حبوب اللقاح على مياسم أزهار معينة دون غيرها . وتوجد سلسلة طويلة من أليلات هذا الجين تأخذ الرموز S_1 ، و S_2 ، و S_3 ... إلخ ، ولكن النبات الثنائى العادى لايحتوى إلا على أليل واحد إن كان أصيلا ، أو على أليلين إن كان خليطاً . وبينما لايمكن أن يحدث التلقيح الذاتى لهذه النباتات – سواء أكانت أصيلة ، أم خليطة – فإن حبة اللقاح يمكنها النمو على أى ميسم ، لايوجد به أليل عدم التوافق ، الذى يوجد بحبة اللقاح ؛ لذا .. يعرف هذا النوع من عدم التوافق بعدم التوافق الجاميطى . ويعرف أليل آخر من هذه السلسلة لأليلات عدم التوافق – يرمز إليه بالرمز S_1 – ويؤدى وجوده فى النبات بحالة أصيلة أو خليطة .. إلى جعله متوافقاً ذاتيًا ، ومتوافقاً مع أى تركيب وراثى آخر . وقد أمكن الحصول عليه بسهولة –كطفرة– فى الجنس *Prunus* بمعاملة حبوب اللقاح بأشعة X ، وأمكن التعرف على الطفرة – بسهولة – بنجاح التلقيح الذاتى .

وفيما يلى .. أمثلة لبعض حالات التلقيحات المتوافقة ، وغير المتوافقة فى النظام الجاميطى :

الأب		الأم	حبوب اللقاح القادرة على الإنبات	النسل
S_1S_1	x	S_1S_1	لاتوجد	–
S_1S_2	x	S_1S_1	S_2	S_1S_2
S_1S_2	x	S_2S_3	S_1	S_1S_2 ، S_1S_3
S_1S_2	x	S_3S_4	S_1 ، S_2	S_1S_3 ، S_1S_4 ، S_2S_3 ، S_2S_4
S_1S_f	x	S_1S_2	S_f	S_1S_f ، S_2S_f
S_1S_2	x	S_1S_f	S_1 ، S_2	S_1S_1 ، S_1S_2 ، S_1S_f ، S_2S_f

عدم التوافق الإسبوروفيتى

اكتشفت ظاهرة عدم التوافق الاسبوروفيتى Sporophytic Incompatibility عام ١٩٥٠ ؛ بواسطة Hughes & Babcock فى نبات *Crepis foetida* ، وبواسطة Gerstol فى نبات الجوايال guayule (*Parthenium argentatum*) . توجد هذه الظاهرة فى بعض العائلات ؛ مثل الصليبية ، والمركبة ، ولكنها أقل انتشاراً من ظاهرة عدم التوافق الجاميطى . وتبعاً لهذه الظاهرة .. فإن التركيب الوراثى للنبات الذى ينتج حبة اللقاح هو الذى يحدد إن كانت حبة اللقاح يمكنها الإنبات على ميسم معين ، أم لايمكنها ؛ ذلك لأن الجدار الخارجى لحبة اللقاح exine – وهو أُمّى المنشأ– هو الذى يتفاعل مع مياسم الأزهار ؛ أى إن التركيب الوراثى لحبة اللقاح ذاتها لايحدد سلوكها على مياسم الأزهار المختلفة ؛ لأن هذا السلوك قد تحدد – سلفاً– بالنبات الذى أنتجها . كما أن جميع حبوب اللقاح التى ينتجها النبات الواحد تسلك مسلكاً واحداً ، حتى لو كانت مختلفة وراثيًا عن بعضها البعض .

ويتضح من ذلك .. أن الطور الاسبوروفيتى هو الذى يتحكم فى هذا النظام لعدم التوافق ؛ ونظرًا لأن المواد المسئولة عن سلوك حبة اللقاح تنتج قبل الانقسام الاختزالى للخلايا الوالدة للجراثيم الصغيرة microspore mother cells .. فإن معاملة المتوك بالعوامل المطفرة لايؤثر على سلوك حبوب اللقاح المنتجة ، حتى لو حدثت بها طفرات . وكما فى عدم التوافق الجاميطى .. فإن سلسلة طويلة من آليلات العامل S تتحكم كذلك فى نظام عدم التوافق الإسبوروفيتى . وتأخذ الآليلات الرموز S_1 ، و S_2 ، و S_3 .. إلخ ، ويصل العدد فى بعض الأنواع إلى خمسين آليلاً .

وتوجد – فى هذا النظام لعدم التوافق– ثلاثة أنواع من التفاعلات الآليلية ، هى التى تتحكم فى سلوك حبوب اللقاح ، وقدرتها على الإنبات على مياسم الأزهار (عن Wallace & Nasrallah ١٩٦٨ و Dickson & Wallace ١٩٨٦) ، وهى كما يلى :

١– تفاعل السيادة Dominance :

يسود أحد الآليلين – فى النبات الثنائى– على الآخر ، وتسلك جميع حبوب اللقاح التى ينتجها النبات مسلك الآليل السائد ، أيًا كان الآليل الذى يوجد بها . كما يتحدد الشكل

الظاهرى للميسم بالأليل السائد أيضاً . ويرمز إلى حالة السيادة بين أليلين بالعلامة (>)؛ فلوكان التركيب الوراثى للنبات هو S_1S_2 وكان الأليل S_1 سائداً على S_2 .. يكتب التركيب الوراثى هكذا : $S_1 > S_2$.

٢- تفاعل السيادة المشتركة Co-dominance :

يظهر تأثير الأليلين -معًا- فى الفرد ؛ فتسلك جميع حبوب اللقاح التى ينتجها النبات (الثنائى) ، كما لو كانت تحمل الأليلين الموجودين فى النبات (الطور الاسبوروفيتى) ، برغم أنها - أى حبوب اللقاح - تكون أحادية ، ولاتحمل سوى أليل واحد منهما . كما يتحدد الشكل المظهرى للميسم بالأليلين معًا أيضاً . ويرمز لحالة السيادة المشتركة بين أليلين بالعلامة (=) ؛ فلوكان التركيب الوراثى للنبات هو S_2S_3 ، وكانت بينهما سيادة مشتركة .. فإن التركيب الوراثى يكتب هكذا : $S_2 = S_3$.

٣- تفاعل الإضعاف المتبادل Mutual Weekening :

يُضعِف كل أليل تأثير الأليل الآخر فى النبات (الثنائى) ؛ وتكون نتيجة ذلك أن يصبح النبات متوافقا ذاتيًا ، ومتوافقًا - كذلك - مع أى نبات آخر ؛ ذلك لأن جميع حبوب اللقاح التى ينتجها نبات كهذا تبدو فى سلوكها ، كما لوكانت خالية من عوامل عدم التوافق ، رغم أنها تحمل أحد الأليلين فى تركيبها الوراثى ، كما يسمح ميسم النبات بإنبات حبوب اللقاح التى تصل إليه ، أيًا كان تركيبها الوراثى . ويرمز إلى حالة الإضعاف المتبادل بالعلامة (x) ؛ فلو كان التركيب الوراثى للنبات هو S_3S_4 ، وكان بين الأليلين إضعاف متبادل فإن التركيب الوراثى يكتب هكذا : $S_3 \times S_4$.

ومن خصائص التفاعلات الأليلية التى سبق بيانها .. مايلى :

١- قد يختلف نوع التفاعل فى متوك الزهرة عنه فى مياسم النبات نفسه ؛ فمثلا .. قد يكون النبات ذا تركيب وراثى S_4S_5 ، وفيه S_4 سائد على S_5 فى الميسم $S_4 > S_5$ ، بينما قد توجد بين الأليلين سيادة مشتركة $(S_4 = S_5)$ ، أو إضعاف متبادل $(S_4 \times S_5)$ فى حبوب اللقاح . وعندما يكون أحد الأليلين سائداً على الأليل الآخر فى الميسم ، بينما تكون السيادة عكسية فى حبوب اللقاح .. فإن النبات يصبح متوافقاً ذاتياً ، ويطلق على هذه الحالة اسم السيادة العكسية Reciprocal Dominace .

٢- لكل أليلين تفاعل خاص بهما ؛ فبينما قد يكون الأليل S_1 سائداً على S_2 $(S_1 > S_2)$ .. فإنه قد يكون ذا سيادة مشتركة مع S_6 $(S_1 = S_6)$ ، وقد يكون ذا إضعاف متبادل مع S_7 $(S_1 \times S_7)$ ؛ فمثلا .. نجد فى الكيل أنه توجد سيادة مشتركة بين الأليلين S_1 ، و S_6 $(S_1 = S_6)$ وبين الأليلين S_6 ،و S_{24} $(S_6 = S_{24})$ ، بينما يسود الأليل على S_{24} على الأليل S_1 $(S_1 < S_{24})$.

٣- تختلف درجة السيادة بين الأليلات المختلفة ؛ فلو كانت درجة السيادة تتناقص - تدريجيا - فى الأليلات الخمسة : S_7 ، و S_{35} ، و S_1 ، و S_{20} ، و S_4 .. فإن علاقة السيادة بينها تكتب هكذا : $S_7 > S_{35} > S_1 > S_{20} > S_4$ حيث يكون S_7 - فى هذه السلسلة - أشدها سيادة ، بينما يكون S_4 أضعفها .

وفى محاولة لتعليل هذه التفاعلات الأليلية .. نفترض وجود ثلاثة أليلات فى S_1 ، وS_2 ، وS_3 ، وأن كلا منها يعد مسئولا عن إنتاج أحد المركبات التى تحدث حالة عدم التوافق بسرعة ، وبكمية معينة . ونفترض - كذلك - أن إنتاج S_1 للمادة المسئولة عن عدم التوافق يكون أسرع قليلاً من S_2 ، وأن إنتاج S_2 أسرع قليلا من S_3 ؛ وعليه تظهر سيادة مشتركة بين الأليلين S_1 ، و S_2 ، وبين S_2 ، و S_3 ؛ لأن كل أليل فى الفرد الخليط قد ينتج كمية من المركب المسئول عن عدم التوافق ، تكفى لإظهار تأثيره . ولكن قد يظهر S1 سائداً على S_3 فى الفرد الخليط ؛ لأن S1 ربما يكون قادراً على إنتاج المركب المسئول عن عدم التوافق بسرعة ، تصل - بتركيزه - إلى الحد الحرج ، قبل أن ينتج الأليل المتنحى S_3 المركب الخاص به (عن Ryder ١٩٧٩) .

ومما يزيد من تعقيد حالة عدم التوافق الاسبوروفيتى تأثرها بالجينات المحورة ، التى يصعب فصل تأثيرها عن أليلات العامل S ، والتى يعتقد أنها ذات تأثير كمى . كما اكتشف عامل آخر غير العامل S ، يؤثر على الأخير ، ويوقف نشاط بعض أليلاته . وربما يفسر ذلك التدرجات الملحوظة لتأثير أليلات عدم التوافق ، التى تتراوح من صفر - ١٠٠٪ (Dickson & Wallace ١٩٨٦) . كما تختلف شدة حالة عدم التوافق من محصول إلى آخر ؛ فنجد فى الصليبيات - مثلاً - أن عدم التوافق يكون ضعيفاً فى القنبيط ، وقويًا فى الكيل (عن Riggs ١٩٨٨) .

وفيما يلى .. أمثلة لبعض حالات التلقيحات المتوافقة وغير المتوافقة فى النظام الإسبوروفيتى :

الأب		الأم		
التركيب الوراثى	الشكل الظاهرى	التركيب الوراثى	الشكل الظاهرى	النسل
$S_1 > S_2$	S_1	$S_1 > S_2$	S_1	غير متوافق
$S_1 > S_2$	S_1	$S_1 = S_2$	S_2 و S_1	غير متوافق
$S_1 > S_2$	S_1	$S_1 < S_2$	S_2	S_1S_1 و S_1S_2 و S_2S_2
$S_1 > S_2$	S_1	$S_2 > S_3$	S_2	S_1S_2 و S_1S_3 و S_2S_2 و S_2S_3
$S_1 > S_2$	S_1	$S_1 \times S_4$	—	S_1S_1 و S_1S_4 و S_1S_2 و S_2S_4
$S_1 = S_2$	S_2 و S_1	$S_1 > S_2$	S_1	غير متوافق
$S_2 = S_3$	S_3 و S_2	$S_3 < S_4$	S_4	S_2S_3 و S_2S_4 و S_3S_3 و S_3S_4

فسيولوجيا عدم التوافق

اقترح Ferrari & Wallace عام ١٩٧٧ نظرية لتفسير حالات عدم التوافق فى الصليبيات (عن Ryder ١٩٧٩) ، وبيان هذه النظرية كما يلى :

١- يتحكم أحد أليلات الجين S فى إنتاج مادة فى الميسم ، هى الجزئ المؤثر effector molecule .

٢- يتحكم نفس الأليل فى إنتاج مادة مقابلة فى حبوب اللقاح ، هى الجزئ المستقبل receptor molecule .

٣- توجد مجموعة متكاملة من الإنزيمات ، يتوقف عليها إنبات حبوب اللقاح ، خاصة فى المراحل الأولى من عملية الإنبات .

٤- توجد مادة تمنع إنبات حبوب اللقاح germination inhibitor .

٥- توجد مادة أخرى تنشط إنبات حبوب اللقاح germination activator .

وتبعًا لهذه النظرية .. فإنه إذا لامست حبة لقاح ميسماً ، وكان أليل الجين S المؤثر فى

كليهما (أى فى حبوب اللقاح والميسم) واحداً .. فإنه تحدث سلسلة من التفاعلات ، تؤدى إلى وقف إنبات حبة اللقاح؛ فيتفاعل الجزئ المستقبل الموجود فى حبة اللقاح مع الجزئ المؤثر الموجود فى الميسم ؛ ويؤدى ذلك إلى إنتاج المادة المانعة لإنبات حبوب اللقاح ، ووقف إنتاج المادة المنشطة للإنبات ، ثم تؤدى المادة المانعة للإنبات إلى وقف إنتاج الإنزيمات الضرورية لنمو الأنابيب اللقاحية واستطالتها .

وفى المقابل .. فإنه إذا لامست حبة لقاح ميسماً ، وكانا (أى حبة اللقاح والميسم) مختلفين فى أليل الجين المؤثر فى حالة عدم التوافق فيهما .. فإنه لايحدث تفاعل بين الجزئ المستقبل الموجود فى حبة اللقاح ، والجزئ المؤثر الموجود فى الميسم لعدم وجود علاقة بينهما ؛ مما يسمح بتكوين المادة المنشطة لإنبات حبوب اللقاح ، وهى التى تمنع بدورها تكوين المادة المثبطة للإنبات . ويسمح ذلك بتكوين الإنزيمات اللازمة لنمو الأنابيب اللقاحية واستطالتها . وتفترض هذه النظرية أن المادة المثبطة لإنبات حبوب اللقاح تتكون فى البداية ، إلا أن نمو الأنابيب اللقاحية يتوقف على تكون المادة المنشطة للإنبات من عدمه .

ويبدو أن عدم التوافق يتحدد بنوع من التفاعل بين أنتيجينات antigens ، توجد فى مياسم الأزهار ، وأجسام مضادة antibodies توجد فى حبوب اللقاح ؛ فقد وجدت ثلاثة أنتيجينات مختلفة فى مياسم ثلاثة تراكيب وراثية من الكرنب ، هى S_1S_1 ، وS_2S_2 ، وS_3S_3 ، كما وجدت الأنتيجينات الأبوية فى الهجن S_1S_2 ، وS_1S_3 ، وS_2S_3 ، وأمكن تقسيم نباتات الجيل الثانى إلى نباتات ، تحتوى على أنتيجين الأب فقط ، وأخرى تحتوى على أنتيجين الأم فقط ، وثالثة تحتوى على أنتيجينى الأب والأم معاً . هذا .. بينما لم يمكن تمييز هذه الأنتيجينات فى حبوب اللقاح ، أو فى الأنسجة الأخرى للنبات (عن Wallece & Nasrallah ١٩٦٨) . ومن المعروف أن الجليكوبروتينات glycoprotems تؤدى دوراً مهما فى نظام عدم التوافق الاسبوروفيتى ، وأن زيادة معدل تمثيل الجليكوبروتينات الخاصة بكل أليل S فى الميسم يتلازم مع حدوث تفاعل عدم التوافق (عن Riggs ١٩٨٨) .

طرق التعرف على عوامل عدم التوافق

توجد أربع طرق رئيسية للتعرف على عوامل عدم التوافق فى النباتات ، هى :

١- إجراء كل التلقيحات الممكنة بين مجموعة من السلالات التى يعرف التركيب الوراثى لبعضها ، ثم تحسب عدد البذور التى تنتج من كل تلقيح ؛ حيث تعطى التلقيحات المتوافقة عدداً كبيراً ، بينما تكون البذور قليلة جداً -أو معدومة- فى التلقيحات غير المتوافقة . ويستدل من ذلك .. على درجة القرابة الوراثية (من حيث أليلات S) بين السلالات المختلفة . كما يستدل من السلالات المعلومة التركيب الوراثى على التركيب الوراثى للسلالات المجهولة ، ويعاب على هذه الطريقة .. أنها تتطلب فترة زمنية طويلة لإجرائها .

٢- إجراء كل التلقيحات الممكنة - كما فى الطريقة السابقة - ، ثم عمل قطاعات فى أجزاء مختلفة من أقلام الأزهار الملقحة ، بعد يوم -أو يومين- من إجراء التلقيحات ؛ حيث تُرى أعداد كبيرة من الأنابيب اللقاحية فى أقلام أزهار التلقيحات المتوافقة ، بينما تكون الأنابيب اللقاحية قليلة جدا - أو معدومة - فى التلقيحات غير المتوافقة . ويستدل من ذلك على التركيب الوراثى للسلالات المجهولة التركيب ، كما فى الطريقة السابقة . وبرغم أن هذه الطريقة سريعة .. إلا أنها تتطلب جهداً كبيراً فى عمل القطاعات وفحصها (Frey ١٩٧٢) .

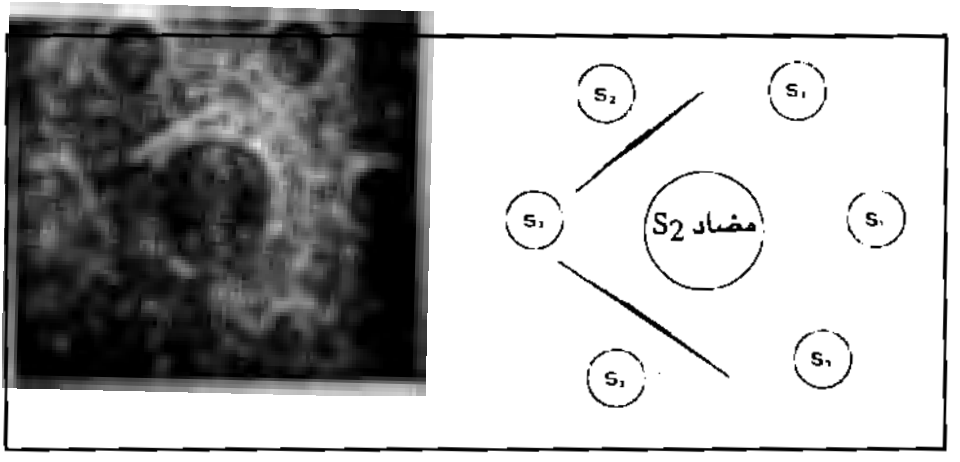
٣- الطريقة السيرولوجية Serological Method :

تجرى الطريقة السيرولوجية بجمع ١٠٠٠-٢٠٠٠ ميسم من كل من السلالات التى يراد دراسة القرابة الوراثية بينها ، ويفضل أن يكون بعضها معلوم التركيب الوراثى . تهرس مياسم كل سلالة فى محلول ملحى (٠,٨٪ كلوريد صوديوم) ، ثم تجرى عملية استخلاص للأنتيجينات الموجودة بها . ويحقن مستخلص الأنتيجينات فى أرانب التجارب على مراحل، على أن يخصص أرنب لكل سلالة . ينزف جزء من دم الأرنب بعد أربعة أسابيع من بداية الحقن ، ثم يحصل منه على مضاد السيرم antiserum ، وهو الذى يحتوى على الأجسام المضادة antibodies ، التى أفرزها الأرنب كإجراء وقائى ضد الأجسام الغريبة (الأنتيجينات) التى أدخلت فى دمه .

ولدراسة العلاقة بين أى تركيب وراثى معلوم وآخر مجهول .. يُجْرَى اختبار سيرولوجى

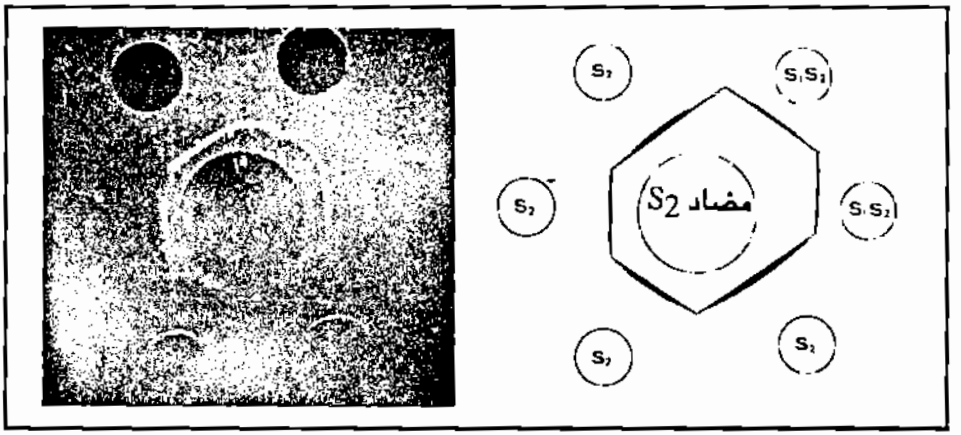
فى طبق بترى ، توجد به طبقة رقيقة من آجار نقى nobel agar ؛ بتركيز ١٪ . وتُصنَع فى الآجار حفرة وسطية ، كبيرة فى وسط الطبق ، وست حفر جانبية صغيرة حولها ؛ بواسطة ثاقبات فلين ، أو بواسطة ثاقبات خاصة لهذا الغرض . ويوضع ٠,١٥ مل من مضاد السيرم المعلوم فى الحفرة الوسطية ، ويوضع ٠,٠٢ مل من كل من مستخلصات الأنتيجينات المجهولة فى الحفر الجانبية . ويكفى ١٠ مياسم – فقط – لتحضير كل من هذه المستخلصات المجهولة التركيب الوراثى .

تحفظ الأطباق – بعد ذلك – فى حضان على درجة حرارة ثابتة (حوالى ٣٧م) . ؛ حيث يلاحظ – بعد ساعات قليلة – ظهور خط ترسيب percipitation band بين بعض الحفر الجانبية والحفرة الوسطية ، ويكون ذلك دليلاً على اشتراكهما فى نفس أليلات عدم التوافق (شكل ٨-٢) . ويكون عدم ظهور خط الترسيب بين إحدى الحفر الجانبية والحفرة الوسطية دليلاً على عدم وجود أية قرابة وراثية بينهما فى أليلات عدم التوافق ، وبذا .. يمكن الاستدلال على التركيب الوراثى المجهول من التركيب الوراثى المعلوم ، ودراسة القرابة الوراثية بينها .



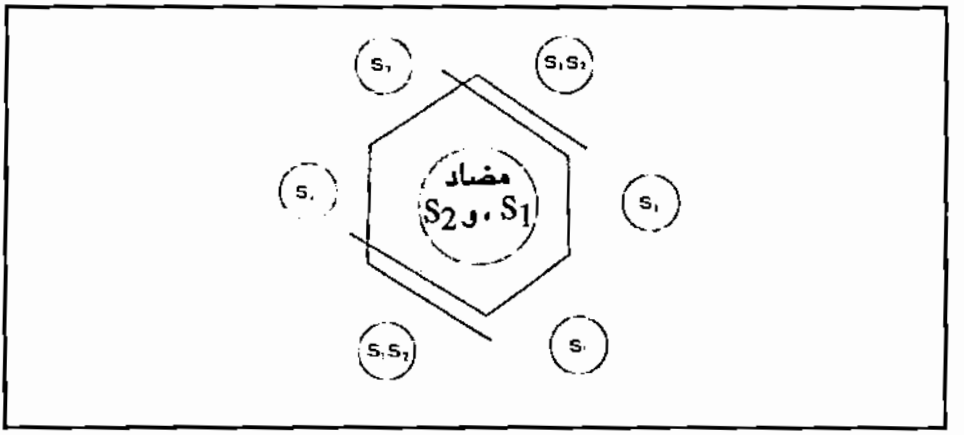
شكل (٨ – ٢) : اختبار سيرولوجى تظهر فيه خطوط ترسيب بين الحفرة الوسطية التى تحتوى على مضاد السيرم S_2 والحفر الجانبية التى تحتوى على مستخلص أنيتجينات نفس العامل S_2 ، أما الحفر الجانبية التى تحتوى على مستخلص الأنتيجينات S_1 أو S_3 فلا تظهر خطوط ترسيب بينها وبين الحفرة الوسطية (عن Wallace & Nasrallah ١٩٦٨) .

هذا .. وتختلف خطوط الترسيب فى موقعها بين الحفر الجانبية والحفرة الوسطية باختلاف أليلات عدم التوافق ، وباختلاف تركيز كل من مستخلص الأنتيجين ، ومضاد السيرم (شكل ٨-٣) . وعندما تلتحم نهايات خطوط الترسيب التى تتكون بين الحفرة الوسطية وحفر جانبية متجاورة .. فإن ذلك يعد دليلاً على اشتراك الحفر الجانبية فى نفس أليل - أو أليلات - عدم التوافق (شكل ٨-٤) .



شكل (٨ - ٣) : اختبار سيرولوجى يختلف فيه موقع خطوط الترسيب بين الحفرة الوسطية والحفر الجانبية بسبب اختلاف تركيز الأنتيجين S_2 فى الحفر الجانبية ، حيث يكون التركيز أعلى فى التركيب الوراثى الأصيل عما فى التركيب الخليط S_1S_2 . ينتج التركيب الأخير كلا الأنتجينين S_1 ، و S_2 . ينتشر أنتيجين S_2 فى الآجار من الحفر الجانبية التى تحتوى على تركيز مرتفع بسرعة أكبر ، فيتقابل مع مضاد S_2 فى موقع أقرب إلى الحفرة الوسطية ، مما يحدث مقابل الحفر الجانبية التى تحتوى على تركيز منخفض من الأنتيجين S_2 (التى يوجد بها تركيب وراثى خليط) .

ويلاحظ أن جميع مياسم النوع النباتى الواحد تشترك فيما بينها فى عدد من الأنتيجينات الأخرى ، غير تلك التى تنتجها أليلات عدم التوافق ؛ وعليه فإن مستخلص أنتيجينات أية سلالة ، يعطى خط ترسيب سميكاً مع مضاد سيرم أية سلالة أخرى ، وإن لم يكونا مشتركين فى أليلات عدم التوافق . ويظهر خط الترسيب السميك هذا -الخاص بالأنتيجنات العامة المشتركة بين جميع مياسم النوع الواحد- كدائرة بين الحفرة الوسطية والحفر الجانبية (شكل ٨-٥) . ويؤدى التخلص من الأجسام المضادة لهذه الأنيتجينات من



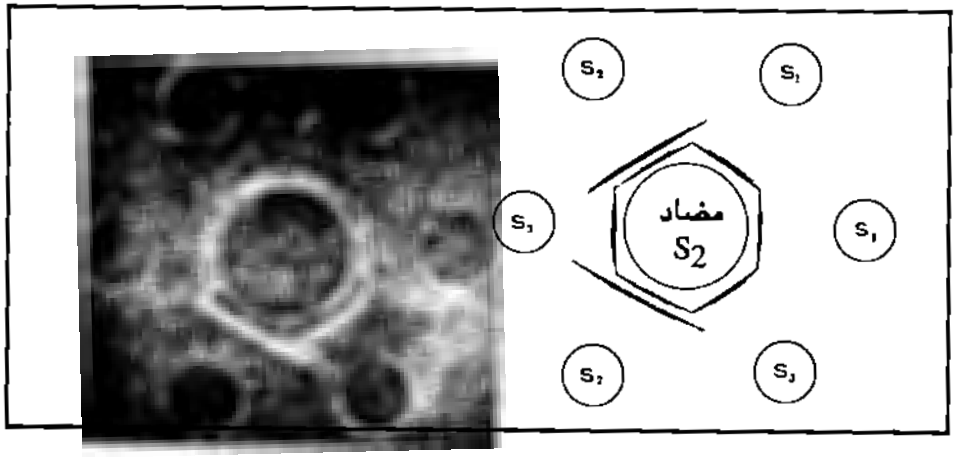
شكل (٨ – ٤) : اختبار سيرولوجى تلتحم فيه نهايات خطوط الترسيب التى تشترك فى نفس عوامل عدم الترافق .

مضاد السيرم ، الذى توجد به .. إلى اختفاء هذه الحلقة السميكة ، التى تظهر فى الاختبار السيرولوجى . ولاتبقى – حينئذ – إلا خطوط الترسيب الخاصة بآليلات S المشتركة (شكل ٨–٢) ، وهو ما يجعل الاختبار أكثر وضوحا . ويتم التخلص من الأجسام المضادة للأنتيجينات العامة فى جميع المياسم ؛ وذلك بخلط مضاد سيرم سلالة ما مع ضعف حجمه من مستخلص أنتيجينات مياسم سلالة أخرى ، لاتشترك معها فى آليلات عدم التوافق فى أنبوبة اختبار ، لمدة ساعة على درجة ٣٧م ، ثم يخزن المخلوط لمدة يوم فى الثلاجة ، وبعدها .. يُرشَّح ، ويستعمل الراشح كمضاد سيرم معامل (يسمى مضاد سيرم ممتصاً absorbed antiserum) . ولمزيد من التفاصيل عن الاختبارات السيرولوجية – للتعرف على عوامل عدم التوافق – يراجع Wallace & Nasrallah (١٩٦٨) .

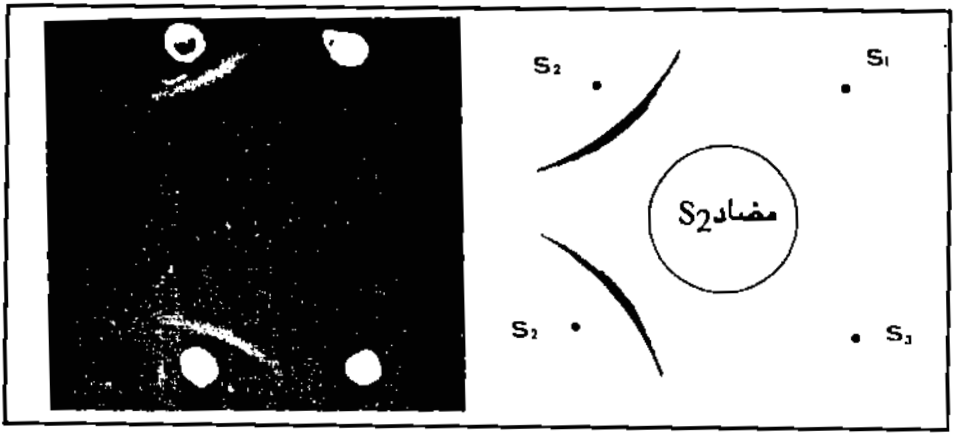
هذا .. ويمكن استعمال مياسم الأزهار مباشرة ؛ كبديل لمستخلص الأنتيجينات . ويجرى الاختبار بوضع ١–٣ مياسم فى الحفر الجانبية . وتكون خطوط الترسيب فى هذه الحالة مقوسة كما فى شكل (٨–٦) .

٤– طريقة الصبغ اللاصف (الفلورى) Fluorescent Staining :

تعتمد طريقة الصبغ الفلورى على إجراء كل التلقيحات الممكنة بين مجموعة من



شكل (٨ – ٥) : اختبار سيرولوجى استعمل فيه مضاد سيرم غير ممتص ، ترى فيه دائرة ترسيب حول الحفرة الوسطية ، تمثل التفاعل بين الأنتيجينات العامة المشتركة بين جميع المياسم وأجسامها المضادة ، أما خطا الترسيب الآخران الظاهران بالشكل .. فهما نتيجة للتفاعل بين الأنتيجين S_2 ومضاده .



شكل (٨ – ٦) : خطوط الترسيب المقوسة التى تظهر فى الاختبارات السيرولوجية التى يستعمل فيها مياسم الأزهار مباشرة بدلاً من مستخلص الأنتيجنيات .

السلالات التى يعرف التركيب الوراثى لبعضها ، ثم تقطف الأزهار بعد يوم – أو يومين – من التلقيح ، ويفصل القلم والميسم عن بقية الزهرة ، ويصبغان بصبغة أزرق الأنيلين aniline blue . ويهرس القلم والميسم – بعد ذلك – تحت غطاء شريحة الفحص الميكرسكوبى ، ويفحصان مباشرة فى ميكرسكوب ، تعتمد الرؤية فيه على الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet Microscope ؛ حيث يحدث استشعاع لصبغة أزرق الأنيلين ، التى تتجمع فى حبوب اللقاح والأنابيب اللقاحية ؛ وعليه .. فإن حبوب اللقاح والأنابيب اللقاحية تبدو واضحة ، بينما تكون بقية أنسجة الميسم والقلم مظلمة . وكما فى الطريقة الثانية .. فإنه تُرى أعداد كبيرة من الأنابيب اللقاحية فى أقلام أزهار التلقيحات المتوافقة ، بينما تكون الأنابيب اللقاحية قليلة جداً –أو معدومة – فى التلقيحات غير المتوافقة . ويستدل من ذلك .. على التركيب الوراثى للسلالات المجهولة والعلاقة بين مختلف السلالات . استعمل Crehu (١٩٦٨) هذه الطريقة فى دراسة عوامل عدم التوافق فى كل من الكيل ، والكرنب ، والقنبيط . وقد استعملها Hal & Verhoeven (١٩٦٨) كذلك فى دراسة العلاقة بين ٦٠ سلالة مرباة تربية داخلية inbred lines من كرنب بروكسل ، وتمكنا خلال موسم واحد من دراسة العلاقة بين ١٥ أليلاً للعامل S ، وتحديد علاقة السيادة بينها ، والتعرف على التركيب الوراثى لكل سلالة . هذا .. وتعتبر تلك هى أبسط الطرق لدراسة عوامل عدم التوافق . ولمزيد من التفاصيل عنها .. يراجع Dickson & Wallace (١٩٨٦) .

طرق إكثار السلالات غير المتوافقة ذاتيًا

إن الفائدة الوحيدة للسلالات غير المتوافقة ذاتيا هى استعمالها كآباء عند إنتاج الهجن التجارية ؛ حيث تؤدى زراعة خطوط متجاورة من سلالتى الأبوين ، إلى أن تلقح كل منهما الأخرى ؛ لأن التلقيح الذاتى لأى منهما غير ممكن ؛ وبذا .. فإن البذور التى تحصد من أية سلالة من سلالتى الآباء .. تكون بذوراً هجيناً . ونظراً لأن محاولة تلقيح هذه السلالات – ذاتيًا – بصورة طبيعية لإكثارها لايُجْدى (لأنها لاتتلقح ذاتيًا) ؛ لذا .. اتجه التفكير نحو طرق أخرى لتحقيق ذلك ؛ حتى يمكن المحافظة عليها . وتعتمد جميع هذه الطرق على محاولة إجراء التلقيح الذاتى بطريقة تسمح بتفادى المواد الموجودة فى الميسم ، والتى تمنع إنبات حبوب اللقاح علما بأن مايصلح منها لمحصول ما ربما لايصلح لمحاصيل أخرى .

ومن هذه الطرق .. ما يلى :

١- التلقيح البرعمى Bud Pollination :

يؤدى إجراء التلقيح فى الطور البرعمى إلى إفلات حبوب اللقاح من المواد المانعة (الجليكوبروتينات) ، التى تتكون فى الميسم ، والتى يصل تركيزها إلى الذروة فى الوقت المناسب للتلقيح الطبيعى . كما يسمح التلقيح فى هذا الطور بنمو الأنابيب اللقاحية ، ووصولها إلى البويضة فى الوقت المناسب . ويجرى التلقيح البرعمى فى الكرنب للبراعم التى يبلغ طولها حوالى ٤ مم ، ويتم بإزالة الجزء العلوى من السبلات والبتلات المحيطة بالقلم ؛ حتى يظهر الميسم الذى يُلقح بحبوب لقاح زهرة حديثة التفتح من النبات نفسه ، والتى تكون قد سبقت حمايتها من التلوث بحبوب لقاح غريبة ؛ بوضع كيس عليها قبل تفتحها . ويكرر ذلك على مجموعة من البراعم المتجاورة ، ثم تُزال البراعم المجاورة ، وتكيّس النورة لمدة أسبوع ؛ لأن مياسم الأزهار تكون مستعدة لاستقبال حبوب اللقاح لمدة ٤-٥ أيام (عبد العال ١٩٦٤) .

٢- يفيد هرس المياسم أو إزالتها - أحياناً - فى نجاح التلقيح الذاتى فى محاصيل قليلة، ويؤدى هذا الإجراء إلى التخلص من المواد المانعة لإنبات حبوب اللقاح ، التى توجد فى الميسم .

٣- الاستفادة من ظاهرة التوافق الكاذب Pseudo Incompatibility

تحدث نسبة قليلة جداً من الإخصاب الذاتى فى معظم حالات عدم التوافق - خاصة الجاميطى منها - ويعرف ذلك بالإخصاب الكاذب . ويمكن الاستفادة من هذه الظاهرة بإجراء التلقيح الذاتى المطلوب - يدوياً - مع نقل كمية كبيرة من حبوب اللقاح ، ولاتحدث هذه الظاهرة فى الظروف الطبيعية ؛ لأن ميسم الزهرة الواحدة تصل إليه حبوب لقاح متوافقة ، وأخرى غير متوافقة ؛ فيحدث الإخصاب - سريعًا - بالحبوب المتوافقة التى تنبت فى وقت قصير ، بينما لاتستطيع حبوب اللقاح غير المتوافقة منافستها فى ذلك (Williams ١٩٦٤) .

٤- خفض درجة الحرارة خلال فترة التلقيح والإخصاب :

ربما تؤدي هذه المعاملة إلى إبطاء تكوين المواد المانعة ، بدرجة تسمح بنمو الأنبوبة اللقاحية ، ووصولها إلى المبيض .

٥- تمكن Roggen & Van Dijk (١٩٧٢) من كسر حالة عدم التوافق في كرنب بروكسل ؛ بتجريح الميسم خلال التلقيح بفرشاة ، استبدل فيها الشعر بأسلاك من الصلب ، يبلغ قطرها ٠,١ مم ، وطولها ٤ مم . وقد أعطت هذه الطريقة نتائج قريبة من نتائج التلقيح البرعمي ؛ فبينما أعطى كل تلقيح برعمي من ١-٣ بذور .. فإن هذه الطريقة أعطت ١,١ - ٢,٦ بذرة من كل تلقيح . وتتميز هذه الطريقة عن طريقة التلقيح البرعمي بإمكان تلقيح جميع الأزهار ؛ وبذا .. يمكن الحصول على كمية أكبر من البذور من كل نبات .

٦- تمكن Roggen وآخرون (١٩٧٢) من كسر حالة عدم التوافق في كرنب بروكسل ؛ بتوليد جهد كهربائي قدره ١٠٠ فولت بين حبوب اللقاح والميسم في أثناء عملية التلقيح . وقد اختلفت نتائج هذه الطريقة باختلاف شدة حالة عدم التوافق في سلالات كرنب بروكسل ، كما يلي :

(أ) لم يكن للمعاملة أي تأثير في متوسط عدد البذور من كل تلقيح في سلالة متوافقة ذاتيًا .

(ب) تضاعف عدد البذور من كل تلقيح في سلالة ضعيفة في حالة عدم التوافق .

(جـ) تضاعف عدد البذور من كل تلقيح إلى ٣٠ مثلاً في سلالة قوية في حالة عدم التوافق .

(د) تضاعف عدد البذور من كل تلقيح إلى ١٣١ مثلاً في سلالة عديمة التوافق .

كما استعمل Roggen & Van Dijk (١٩٧٣) هذه الطريقة بنجاح في إجراء التلقيح الذاتي لعدد من سلالات الكرنب ، وأعطت نتائج قريبة لنتائج التلقيح البرعمي .

٧- معاملة الأزهار بغاز ثاني أكسيد الكربون :

درس تأثير المعاملة بغاز ثاني أكسيد الكربون ، في خمسة أصناف من الكرنب الصيني

فى معهد بحوث وتنمية الخضر الآسيوى (AVRDC ١٩٨٧) ، وكانت النتائج كما يلى :

(أ) أعْطَتْ المعاملةُ بالغاز - بتركيز ٢٪- عدداً من البذور من الأزهار المتفتحة ، مماثلاً للعدد الذى أمكن الحصول عليه من التلقيح البرعمى فى بعض السلالات ، وكان تركيز ٣٪ لازماً فى سلالات أخرى ، ولم يكن الغاز مؤثراً فى مجموعة ثالثة من السلالات .

(ب) كانت الفترة المناسبة للمعاملة بالغاز لإحداث التأثير المطلوب من ٢-٣ ساعات فى السلالات الحساسة .

(جـ) كان أقوى تأثير للمعاملة بالغاز عند إجرائها بعد التلقيح مباشرة ، ثم قلت الحساسية للغاز - تدريجيًا - بعد ذلك .

(د) ازداد عدد الأنابيب اللقاحية التى أمكن عدّها بعد التلقيح الذاتى للأزهار المتفتحة ، عند المعاملة بالغاز .

٨- معاملة الأزهار بمحلول كلوريد الصوديوم :

أمكن التخلص من حالة عدم التوافق فى الكرنب الصينى ؛ برش الأزهار بمحلول كلوريد الصوديوم ، بتركيز ٣٪ بعد نصف ساعة إلى ساعة من التلقيح الذاتى . وقد وجد Monteiro وآخرون (١٩٨٨) أن معاملة مياسم نباتات الكرنب الصينى غير المتوافقة ذاتيًا بمحلول كلوريد الصوديوم ، أدت إلى التخلص من حالة عدم التوافق ، وكان أفضل تركيز هو ٠,١٥٪ مع إجراء المعاملة قبل التلقيح بنحو ١٠-١٥ دقيقة ، إما باستعمال ماصة صغيرة (حيث أعطى التلقيح ٨,٢ بذرة/ثمرة) ، وإما بواسطة قطعة قطن مبللة بالمحلول (حيث أعطى التلقيح ٧,٢ بذرة/ثمرة) . وقد أدت المعاملة بكلوريد الصوديوم إلى زيادة تثبيت حبوب اللقاح على الميسم ، وزيادة إنباتها ، وتقليل تكوين الكالوز callose على نتوءات الميسم .

وقد قارن Wilkins & Beyer (١٩٨٨) تأثير طريقتى المعاملة بغاز ثانى أكسيد الكربون ، والمعاملة بكلوريد الصوديوم فى ظاهرة عدم التوافق الذاتى فى سلالة من

البروكولى ، وكانت النتائج كما يلى :

طريقة التلقيح	عدد البنور/١٠ثمار
المقارنة (التلقيح الذاتى)	صفر
إضافة Nacl للميسم بتركيز ٠,١٥٪ بحقنة صغيرة قبل التلقيح بـ ١٥ دقيقة	١,٤٠
إضافة Nacl للميسم بتركيز ٠,١٥٪ بقطعة قطن قبل التلقيح بـ ١٥ دقيقة	١,٠٧
المعاملة بثانى أكسيد الكربون بتركيز ٥٪ لمدة ٢٤ ساعة تبدأ بعد التلقيح	٣,٨٠
التلقيح البرعمى	٠,٤٠

العوامل المؤثرة على شدة حالة عدم التوافق

تتأثر حالة عدم التوافق فى النباتات بعدة عوامل ؛ بعضها وراثى ، وبعضها بيئى ، وأهمها ما يلى :

١- التضاعف :

لايؤثر التضاعف -كثيراً- على حالة عدم التوافق الاسبوروفيتى ؛ لأن هذا النظام لعدم التوافق لايتوقف على التركيب الوراثى لحبة اللقاح ، وإنما على التركيب الوراثى للنبات الذى أنتج حبة اللقاح (الطور الاسبوروفيتى) ؛ ولاتغير مضاعفة عدد الكروموسومات من طبيعة العلاقة بين أليلات عدم التوافق ؛ فلو كان التركيب الوراثى للنبات الثنائى هو $S_1 > S_2$ .. فإن مضاعفة عدد الكروسومات يغيره إلى$S_1S_1S_2S_2$، ويبقى الأليل S_1 سائداً على S_2 سواء أكان ذلك فى حبوب اللقاح ، أم فى الميسم . ولكن تتعقد العلاقة - كثيراً - بين أليلات عدم التوافق ، إن كان النبات الرباعى خليطاً فى جميع أليلات S ؛ كأن يكون تركيبه الوراثى $S_1S_2S_3S_4$.

وفى المقابل .. فإن التضاعف يضعف حالة عدم التوافق الجاميطى ؛ لأن النبات المتضاعف من S_1S_1 إلى $S_1S_1\ S_2S_2$ ينتج ثلاثة أنواع من حبوب اللقاح الثنائية هى S_1S_1 ، و S_1S_2 ، وS_2S_2، وتكون حبوب اللقاح الخليطة (S_1S_2) قادرة على النمو على أى ميسم ؛ لأن كل أليل منهما يضعف تأثير الأليل الآخر . أما حبوب اللقاح الثنائية الأصيلة .. فإنها تبقى كما هى ، غير قادرة على الإنبات على مياسم الأزهار ، التى تحمل

نفس آليلات عدم التوافق .

٢- الجينات المحورة :

تؤثر الجنيات المحورة على التفاعلات الأليلية ، وعلى شدة حالة عدم التوافق .

٣- عمر الزهـرة :

تضعف حالة عدم التوافق فى البراعم الصغيرة ، كما سبق بيانه ، تحت موضوع التلقيح البرعمى . وتزيد حدة حالة عدم التوافق -تدريجيًا- إلى أن تصل إلى أعلى مستوى فى الوقت المناسب للتلقيح .

٤- مرحلة الإزهـار :

وجد Johnson (١٩٧١) أن حالة عدم التوافق الذاتى فى كرنب بروكسل ، تكون فى أعلى مستوياتها خلال الفترة من وسط مرحلة الإزهار إلى نهايتها .

٥- درجة الحرارة السائدة :

سبق أن أوضحنا أن خفض درجة حرارة الإزهار عند التلقيح يساعد - أحياناً - على إجراء التلقيح الذاتى للنباتات غير المتوافقة . كما وجد Johnson (١٩٧١) كذلك أن رفع درجة الحرارة فى مرحلة متأخرة من الإزهار يؤدى إلى زيادة معدل التوافق الذاتى فى كرنب بروكسل ؛ حيث صاحب ذلك زيادة فى عدد الأنابيب اللقاحية النابتة فى القلم ، بعد ٢٤ ساعة من التلقيح .