الفصل السابع

مزارع النباتات الأحادية المجموعة الكروموسومية

تمهيد

إن الهدف الرئيسى من إنتاج مزارع النباتات الأحادية المجموعة الكروموسومية haploids هو الاستفادة من تلك النباتات فى برامج التربية، وذلك بعد مضاعفتها والحصول منها على نباتات أحادية مضاعفة double haploids.

وعلى الرغم من أن نظام إنتاج النباتات الأحادية المضاعفة قد وصف لنحو ٢٠٠ نوع نباتى .. إلاّ أن النظام الذى يتبع بنجاح بصورة روتينية لا يوجد سوى فى عدد قليل نسبيًا من الأنواع النباتية، مثل:

Asparagus officinalis	*Hordeum vulgare*
Brassica napus	*Brassica oleracea*
Datura innoxia	*Gerbera jamesonii*
Zea mays	*Nicotiana* spp.
Solanum tuberosum	*Lolium perenne*
Oryza sativa	*Beta vulgaris*
Triticale	*Triticum aestivum*

هذا .. وتعد زراعة المتوك وحبوب اللقاح هى أكثر التقنيات استعمالاً فى إنتاج النباتات الأحادية المضاعفة فى معظم الأنواع النباتية، حيث تشكل أكثر من ٥٠٪ من الحالات التى دُرست.

وللتدليل على مدى انتشار مزارع المتوك وحبوب اللقاح التى تستخدم فى الحصول على نباتات أحادية (التوالد الذكرى) قُدِّر أنه — حتى عام ٢٠٠٢ — كان قد نشر أكثر من ٢٠٠٠ بحث فى الموضوع تناولت بالدراسة أكثر من ٢٥٠ نوعًا نباتيًا، كانت الباذنجانيات والأسبرجس من أهمها (عن McCown ٢٠٠٣).

إن المبدأ الأساسى فى ظاهرة التوالد الذكرى androgenesis هو وقف تطور خلية حبة اللقاح – التى تنتهى بتكوين جاميطة مذكرة – ودفعها نحو النمو المباشر لتكوين نبات كامل منها وهذا النمو غير الطبيعى لحبة اللقاح يمكن تحقيقه إذا ما أخذت خلية حبة اللقاح بعيدًا عن بيئتها الطبيعية فى النبات، ووضعت فى ظروف أخرى خاصة

كذلك لجأ الباحثون إلى مزارع المبايض ومزارع البويضات (التوالد الأنثوى gynogensis) لأجل إنتاج النباتات الأحادية المضاعفة فى عدد من الأنواع النباتية، مثل

Beta vulgaris	*Gerbera jamesonii*
Cucmis sativus	*Cucumis melo*
Allium cepa	*Helianthus annuus*

وقد اتبعت طريقة التهجينات الجنسية أو النوعية – التى تعقبها عملية استبعاد تلقائى للكروموسومات chromosome elemination فى الأجنة النامية – اتبعت فى إنتاج نباتات أحادية فى كل من الشعير، والقمح، والبطاطس، والقطن.

وحديثًا أصبحت مزارع الخلايا الجرثومية الصغيرة المعزولة isolated microspore culture أفضل وأكفا وسيلة لإنتاج نباتات أحادية مضاعفة من كل من الشعير، ولفت الزيت، ونباتات صليبية أخرى (عن Maluszynski وآخرين ١٩٩٦، و McCown ٢٠٠٣)

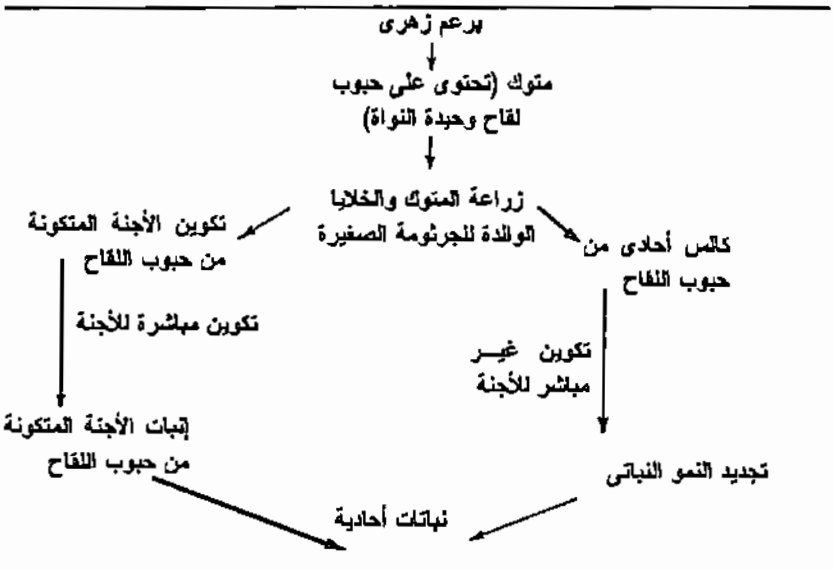
مزارع المتوك، وحبوب اللقاح، والخلايا الوالدة للجراثيم الصغيرة

خطوات تكوين النباتات الأحادية

أولاً: مزارع المتوك وحبوب اللقاح

تعد مزارع المتوك Anther culture من أكثر الطرق شيوعًا لإنتاج النباتات الأحادية ولقد تم تطوير هذه التقنية – لأول مرة – على نبات الداتورة بواسطة كل من Guha & Maheshwari فى عام ١٩٦٤. وفى هذه الطريقة .. يتم أولا جمع البراعم الزهرية وهى فى مرحلة مناسبة من التكوين من نباتات جيدة النمو. توضع البراعم فى أكياس

بلاستيكية على ٤°م لمدة ٧–١٠ أيام، فيما يعرف بمعاملة البرودة. يلى ذلك تعقيم البراعم الزهرية سطحيًا باستعمال ٠.١٪ كلوريد زئبق HgCl لمدة ٩–١٠ دقائق، ثم تفصل المتوك تشريحيًا بعناية من البراعم وتنقل إلى بيئة الزراعة، وتحضن على ٢٥ ± ١°م تحت إضاءة غير مباشرة. نجد غالبًا أن المتوك المزروعة تنتج كالس بعد ٢–٦ أسابيع، وبعد نحو شهر من تكوين الكالس فإنه يُحفَّز إلى تجديد النمو (شكل ٧–١).



شكل (٧–١): رسم تخطيطى يوضح عملية إنتاج النباتات الأحادية من خلال المتوك وما تحتويه من حبوب اللقاح وخلايا والدة للجراثيم الصغيرة microspores.

ويوضح شكل (٧–٢) مزيدًا من التفاصيل عن كيفية إنتاج النباتات الأحادية من حبوب اللقاح .. إما من خلال تكوين الأجنة pollen embryogensis، وإما من خلال كالس حبوب اللقاح pollen callusing (عن Bhojwani & Razdan ١٩٨٣).

ثانيًا: مزارع الخلايا الجرثومية لحبوب اللقاح

تعتبر زراعة الخلايا الجرثومية – المفصولة – لحبوب اللقاح isolated microspores (الخلايا الجرثومية الصغيرة) أفضل من زراعة المتوك الكاملة. لأنها لا تعطى أى فرصة

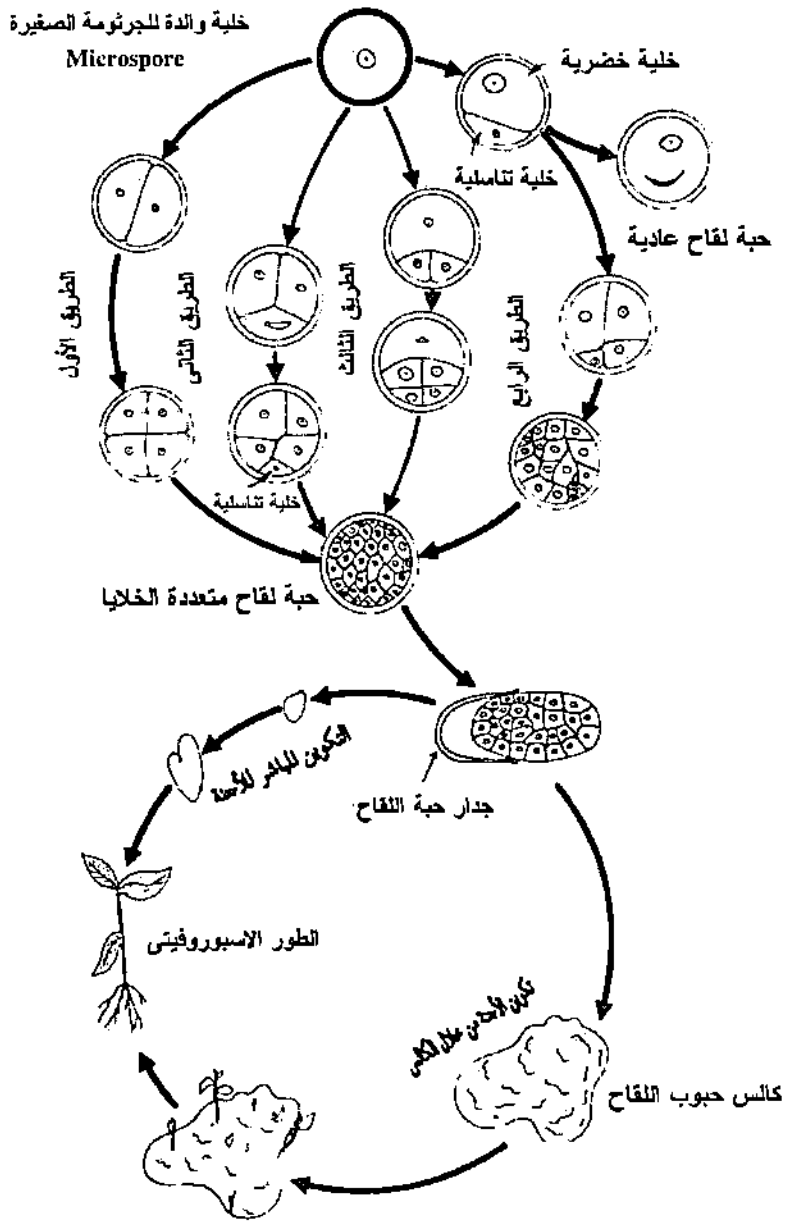
لظهور نباتات ثنائية العدد الكروموسومى، وهى التى قد تنشأ من خلايا جدر المتوك والأنسجة الرابطة بها وتنفصل الخلايا الجرثومية إما بصورة طبيعية بعد زراعة المتوك، وإما ميكانيكيًا بالضغط على المتوك حتى تبرز منها الخلايا الجرثومية

تمر الخلايا الجرثومية microspores – بعد زراعتها – بأشكال محتلفة من تجديد النمو – ذكريًا androgenesis – تقود إلى تكوين الأفراد الأحادية إما بصورة مباشرة، وإما بصورة غير مباشرة من خلال تكوين الكالس، علما بأن الطريق الأول بعد أفضل من لثانى بالنسبة للمربى

وعلى الرغم من أن تجديد النمو ذكريًا يمكن أن يحدث فى المزارع فى مرحلة الخلايا الأحادية الرابوع tetrad، أو فى مرحلة حبة اللقاح ذات النواتين (الذكرية والخضرية) فإن الخلايا الجرثومية الصغيرة microspores – فى مرحلة ما قبل الانقسام الميوزى الأول مباشرة أو عنده – هى الأفضل لتجديد النمو.

فى حالة تجديد النمو ذكريًا بصورة مباشرة تتطور الخلايا الجرثومية الصغيرة كما لو كانت زيجوتًا، حيث تمر بشتى مراحل تكوين الجنين كتلك التى تحدث بعد التلقيح والإخصاب وبعد وصول الأجنة إلى المرحلة الكروية globular stage فإنها تنطلق غالبا – من الجدار الخارجى لحبة اللقاح exine لتكمل نموها خارجيًا ويلى ذلك امتداد الفلقتين وبروز النبت الصغير من المتوك فى خلال ٤–٨ أسابيع

أما فى حالة تجديد النمو غير المباشر فإن الخلايا الجرثومية الصغيرة تنقسم عدة مرات لتكون كالس يندفع خارجًا من جدار المتك ويعقب ذلك إما تميز الكالس لتكوين أجنة أو جذور ونموات خضرية فى البيئه ذاتها، وإما أن ينقل إلى بيئة أخرى ليحدث التميز وغالبا ما تحتوى النباتات المتحصل عليها من الكالس على تباينات وراثية، وخاصة تلك التى يكون مردها إلى التعدد الكروموسونى، ولذا . فإنها لا يكون مرغوبا فيها (عن Bajaj ١٩٩٠).



شكل (٧-٢): تخطيط يبين نشأة النباتات الأحادية من حبوب اللقاح فى مزارع المتوك. يمكن أن تسلك الخلية الوالدة للجرثومة الصغيرة، أيا من الطرق الأربعة المبينة فى الشكل لتكوين حبة لقاح متعددة الخلايا، وهى التى يمكن أن تنتج بدورها جنينًا مباشرة، أو تنتج الطور الأسبورفيتى من خلال النمو الكالوسى.

العوامل المؤثرة فى عملية التوالد الذكرى

تتأثر عملية التوالد الذكرى androgensis بالعوامل التالية :

١ — التركيب الوراثى للنبات الذى تؤخذ منه المتوك المستعملة فى الزراعة

تظهر تباينات وراثية كبيرة بين الأجناس والأنواع، وحتى بين أصناف النوع الواحد فى استجابتها لزراعة المتوك، ولقد اقترح أن تلك الصفة يتحكم فيها جينات يمكن نقلها إلى التراكيب الوراثية التى تستجيب لزراعة المتوك

وللتدليل على مدى تأثر القدرة على تجديد النمو ذكريًا بالتركيب الوراثى داخل النوع النباتى الواحد وجد عندما استعمل ٤٣ صنفًا من الطماطم، و ١٨ سلالة من *Arabidopsis thaliana* أنه لم تنتج نباتات أحادية سوى من ثلاثة تراكيب وراثية من كل نوع. وقد حصل على نتائج متقاربة لتلك النتائج مع كل من أجناس محاصيل التبغ، والبطاطس، والراى (الجاودار) rye وفى القمح *Triticum aesativum* لم يُحصل على أنسجة أحادية إلاّ من ١٠ أصناف من بين ٢١ صنفًا استعملت فى الدراسة، ولم تختلف النتائج كثيرًا عما تقدم بيانه فى جنس محصول الأرز، وإن تباينات الأنواع فى هذا الشأن

ويبدو أن أحد الأسباب التى تكمن وراء فشل البعض فى الحصول على نباتات أحادية من مزارع المتوك أن الباحثين يقصرون عملهم على صنف واحد، ويتوقفون عن متابعة المحاولة إن لم ينجح هذا الصنف معهم. وإنه لمن المهم عمل حصر يتضمن عديدا من الأصناف، مع استخدام بيئات بسيطة؛ لأن البيئات المركبة الغنية فى منظمات النمو قد تحفز نمو خلايا جسمية من أنسجة المتوك.

هذا ومن المعلوم أن تجديد النمو ذكريًا صفة وراثية، ولا يوجد ما يمنع اختلاف أصناف النوع الواحد فى محتواها من الجين أو الجينات المسئولة عن تلك الخاصية ويمكن نقل تلك القدرة على تجديد النمو من التراكيب الوراثية الأكثر استجابة إلى التراكيب الأقل استجابة، وهو أمر تحقق بالفعل فى كل من البطاطس، والقمح (عن Bajaj ١٩٩٠)

٢ — الحالة الفسيولوجية للنبات الذى تؤخذ منه المتوك المستعملة فى الزراعة

تكون الأزهار الأولى فى التكوين أكثر نجاحًا فى مزارع المتوك، فضلا عن تأثر نجاح

الزراعة بعديد من العوامل التى تؤثر فسيولوجيًا على النبات الذى تؤخذ منه المتوك المستعملة فى الزراعة مثل عمره، والفترة الضوئية، وشدة الإضاءة، ودرجة الحرارة، والفترة من السنة، وحالة التغذية .. إلخ.

٣ — مرحلة تكوين الخلايا الأمية لحبوب اللقاح:

تعتبر المرحلة التى تتكون فيها الخلايا الأمية لحبوب اللقاح microspores — عند زراعة المتوك — من أهم العوامل التى تتحكم فى نجاح زراعة المتوك، وهى مرحلة تختلف باختلاف الأنواع النباتية، لكن تعتبر المرحلة المناسبة فى عديد من الأنواع هى عندما تحتوى المتوك على حبوب لقاح فى وقت مبكر إلى متوسط من مرحلة النواة المفردة (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢). وبعبارة أخرى .. يجب أن يكون المتك فى مرحلة يحتوى فيها على خلايا جرثومية تتباين من مرحلة التكوين الرباعى tetrad إلى مرحلة اللقاح الثنائى النواة binucleate، علمًا بأنه بمجرد بدء ترسيب النشا فى الخلية الجرثومية فإنها لا تتطور أبدًا إلى نمو نباتى أحادى (عن Chawla ٢٠٠٠).

٤ — معاملات المتوك السابقة لزراعتها (الصدمات الحرارية والمعاملات الكيميائية):

تجرى معاملات للمتوك بهدف وقف التطور الطبيعى لحبوب اللقاح إلى جاميطة مذكرة، مثل:

أ — المعاملة بالحرارة المنخفضة، والتى تتراوح عادة بين ٣، و ٦°م لمدة ٣–١٥ يومًا

ب — المعاملة بالحرارة العالية، مثل ٣٥°م لمدة ٢٤ ساعة، أو ٤٠°م لمدة ساعة واحدة.

جـ – المعاملة ببعض المركبات الكيميائية، مثل الإثريل بتركيز ٤٠٠٠ جزء فى المليون

تعرف معاملات الحرارة المنخفضة والمرتفعة باسم الصدمات الحرارية.

من أمثلة الصدمات الحرارية المعاملة بالبرودة (٤–١٠°م لمدة أسبوع) أو الحرارة (٣٥°م لمدة ٥–١٥ دقيقة)؛ حيث تؤدى تلك المعاملات إلى وقف عمل الجينات المسئولة عن التكوين الطبيعى للطور الجاميطى.

لقد تمكن العلماء منذ عام ١٩٢٢ من الحصول على نباتات أحادية العدد

الكروموسومى من الداتورة بتعريض النباتات لحرارة منخفضة وقت إخصاب الأزهار، كما أمكن الحصول على نباتات أحادية من التبغ فى عام ١٩٣٧ بتعريض النباتات لأى من الحرارة العالية أو المنخفضة وأعقب ذلك فى عام ١٩٣٩ الحصول على نباتات أحادية من الشوفان بتعريضها لحرارة ٣°م وفى كل هذه الحالات كانت نشأة النباتات الأحادية من البويضات

وأمكن الاستفادة من تأثير الصدمة الحرارية بتطبيقها فى مزارع المتوك على كل من الطماطم، والتبغ، حيث أسفرت عن تحفيز تجديد النمو ذكريًا من كل من المتوك وحبوب اللقاح المعزولة. ويبدو أن تأثير الحرارة المنخفضة (٣-٥°م) هو تأثير غير مباشر حيث إنها تبقى على حيوية حبوب اللقاح لفترة أطول، مما يؤخر شيخوختها، ويمنع إجهاضها، ومن ثم يزداد عدد حبوب اللقاح التى يمكن أن تكوّن أجنة (عن Bajaj ١٩٩٠)

كذلك يوقف التعريض للحرارة المنخفضة العمليات الأيضية بحبة اللقاح، وإذا ما استمرت المعاملة لفترة كافية، فإن ذلك يجعل حبة اللقاح تغير من أيضها العادى إذا ما وضعت بعد المعاملة فى بيئة خاصة، حيث تعطى فى أول انقسام لها — حينئذ — نواتين متماثلتين بدلا من تكوين نواة خضرية وأخرى تناسلية تختلف المدة التى تلزم للتعريض للحرارة المنخفضة باختلاف الأنواع النباتية (عن Taji وآخرين ٢٠٠٢، جدول ٧-١)

٥ — تركيب بيئة الزراعة:

قد يؤثر تركيب بيئة الزراعة على استجابة المتوك للزراعة، ومن أهم البيئات الأساسية المستعملة لهذا الغرض: N_6، و MS، و B_5، و Nitsch & Nitsch

تعد بيئة موراشيج وسكوج مناسبة لزراعة حبوب اللقاح وعلى الرغم من عدم أهمية العناصر والفيتامينات فى حث عملية التوالد الذكرى، فإن لها أهمية كبيرة فى تطور تكوين الجنين بعد ذلك، وللحديد المخلبى — خاصة — أهمية كبيرة فى تميز الأجنة فى مرحلة النمو الكروى وحتى طور النمو القلبى أما منظمات النمو فيتعين تجنب تواجدها فى مزارع المتوك وحبوب اللقاح

جدول (٧-١): معاملات الحرارة المنخفضة التي أخضعت لها المتوك أو البراعم الزهرية – قبل استخدامها فى مزارع المتوك – لأجل زيادة معدل التولد الذكرى androgensis – من المتوك المزروعة – فى أنواع نباتية مختلفة (عن Mantell وآخرين ١٩٨٥).

النوع النباتى	المعاملة السابقة للزراعة
Brassica campestris (اللفت)	٣ أيام على ٣٥م
B. napus (لفت الزيت)	١٤ يومًا على ٣٠م
Datura innoxia	٤ أيام على ٤م
D. metel	يومان على صفر م
Festuca arundinacea (العكرش)	٢٥ يومًا على ٥م
Hordeum vulgare (الشعير)	يومان على ٣م
Nicotiana tabacum (التبغ)	١٢ يومًا على ٧-٨م
Oryza sativa (الأرز)	١٠ أيام على ١٣م
Petunia hybrida (البيتونيا)	يومان على ٦م
Secale cereale (الراى)	٦-١٠ أيام على ٦م
Triticum aestivum (القمح)	٢-٨ أيام على ٣-٥م
T. aestivium x *T. cereale* (الترتيكيل)	٧ أيام على ٤م
Vitis sp. (العنب)	٣ أيام على ٤م
Zea mays (الذرة)	١٤ يومًا على ٨م وكذلك ٧ أيام على ٤م ثم ٧ أيام على ٨م

هذا .. وتعد البيئات السائلة أكثر مناسبة لمزارع المتوك وحبوب اللقاح، حيث يتحفز تكوين الأجنة فيها (عن Taji وآخرين ٢٠٠٢).

٦ – الضوء:

بينما يحفز الظلام والضوء الأزرق عملية التوالد الذكرى، فإن الضوء الأبيض يعد مثبطًا لها. هذا بينما يقلل الضوء الأحمر الوقت الذى يلزم لإنتاج نباتات من حبوب اللقاح بنحو ٢٠٪ (عن Chahal ٢٠٠٢).

٧ – مستوى التضاعف فى النباتات الناتجة من مزارع المتوك:

قد يحدث تضاعف ذاتى للكروموسومات أثناء النمو الكالوسى للخلايا الأمية لحبوب اللقاح، مما يؤدى إلى إنتاج نباتات أحادية متضاعفة بصورة مباشرة، وهو أمر يتفاوت معدل حدوثه بين الأنواع النباتية، وحسب ظروف الزراعة. كذلك قد تنمو من الكالس

نباتات ثنائية عادية (ليست أحادية متضاعفة) عندما تتكون بعض خلايا الكالس من خلايا جدر المتوك الثنائية (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢)

بيئات الزراعة

استخدمت فى مزارع المتوك البيئات الأساسية لكل White، وموراشيج سكوج Murashuge and Skoog، و Nitsch & Nitsch مع تحويرات طفيفة وإضافات لمنظمات النمو، علمًا بأن المدى الطبيعى للسكروز يتراوح فى هذه البيئات بين ٢٪، و ٤٪ (جدول ٧-٢) كذلك يبين جدول (٧-٣) تركيبًا لبيئة استخدمها Nitsch لزراعة الخلايا الأمية لجرائيم التبغ الصغيرة.

يلعب الحديد فى البيئة دورًا هامًا جدًّا ولا غنى عنه وعلى الرغم من أن تجديد النمو ذكريًا يمكن أن يبدأ فى مزارع التبغ فى غير وجود الحديد، إلا أن مبادئ الأجنة proembryos المتكونة لا تتطور لأكثر من الطور الكروى. ويعد الحديد المخلوب، مثل FeEDTA، و FeEDDHA أكثر كفاءة -- كمصدر للحديد — عن سترات الحديد

وتعد الاحتياجات الغذائية للمتوك المفصولة والمزروعة أكثر بساطة من تلك التى تلزم الخلايا الجرثومية الصغيرة المعزولة، نظرًا لغياب كثير من العوامل التى تستحث تجديد النمو فى تلك الخلايا، بينما نجد أنها قد تتوفر فى المتوك، والتى يدخل ضمنه محتوى المتوك الطبيعى من كل من الأوكسين والسيتوكينين.

هذا وتتباين الأنواع النباتية فى احتياجاتها الدقيقة من مختلف مكونات البيئة، كما تتباين متطلبات تجديد النمو المباشر عن تلك التى يحدث فيها تجديد النمو غير المباشر ويعد السكر جزءًا أساسيًا من مكونات البيئة، حيث لا يشكل فقط مصدرا للكربون، ولكنه يفيد — كذلك — فى عملية التنظيم الأسموزى؛ فعلى الرغم من أن المدى الطبيعى لمحتوى السكر فى البيئة يجب أن يتراوح بين ٢٪، و ٤٪، فإن زيادة نسبة السكر فى البيئة إلى ٦٪ حتى ١٢٪ أعطى نتائج أفضل فى كل من القمح، والشعير، والأرز، والبطاطس، ويبدو أن تلك الاستجابة كان مردها إلى تأثير المحتوى العالى للسكر على الضغط الأسموزى، وليس بسبب أى حاجة إلى مستوى عال من المواد الكربوهيدراتية فى البيئة

جدول (٧-٢): مكونات بعض البيئات الأساسية فى مزارع المنوك (مجم/لتر).

N_6	Nitsch and Nitsch	Murashige and Skoog	White	
				العناصر الكبرى
—	—	—	٢٨٨	$Ca(NO_3)_2.4H_2O$
٢٨٣٠	٩٥٠	١٩٠٠	٨٠	KNO_3
—	٧٢٠	١٦٥٠	—	NH_4NO_3
—	—	—	٦٥	KCl
٤٠٠	٦٨	١٧٠	—	KH_2PO_4
—	—	—	١٩	$NaH_2PO_4.4H_2O$
١٦٦	١٦٦	٤٤٠	—	$CaCl_2.2H_2O$
١٨٥	١٨٥	٣٧٠	٧٣٧	$MgSO_4.7H_2O$
—	—	—	٢٠٠	Na_2SO_4
٤٦٣	—	—	—	$(NH_4)_2SO_4$
				العناصر الصغرى
—	—	—	٢,٥	$Fe_2(SO)_3$
٢٧,٨	٢٧,٨	٢٧,٨	—	$FeSO_4.7H_2O$
٣٧,٣	٣٧,٣	٣٧,٣	—	$Na_2.EDTA$
٤,٤	٢٥	٢٢,٣	٦,٧	$MnSO_4.4H_2O$
١,٦	١٠	٦,٢	١,٥	H_3BO_3
١,٥	١٠	٨,٦	٢,٢	$ZnSO_4.4H_2O$
٠,٨	—	٠,٨٣	٠,٧٥	Kl
—	٠,٢٥	٠,٢٥	—	$Na_2MoO_4.2H_2O$
—	٠,٠٢٥	٠,٠٢٥	—	$CuSO_4.5H_2O$
—	—	٠,٠٢٥	—	$CoCl_2.6H_2O$
				مركبات عضوية
—	٠,٠٥	—	—	Biotin
٢	٢	٢,٠	٣,٠	Glycine
—	١٠٠	١٠٠	—	Inositol
٠,٥	٥	٠,٥	٠,٥	Nicotinic acid
٠,٥	٠,٥	٠,٥	٠,١	Pyridoxine-HCl
٠,٥	٠,٥	٠,١	٠,١	Thiamine-HCl
—	٥	—	—	Folic acid
٥٠٠٠٠	٢٠٠٠٠	٣٠٠٠٠	٢٠٠٠٠	Sucrose

جدول (٧-٣): تركيب بيئة استخدمها Nitch فى زراعة الخلايا الأمية للأبواغ الدقيقة فى التبغ (عن Bhojwani & Razdan ١٩٨٣)

المكونات	التركيز (جم/لتر)
KNO_3	٩٥٠
NH_4NO_3	٧٢٥
$MgSO_4.7H_2O$	١٨٥
KH_2PO_4	٦٨
$CaCl\ 2H_2O$	١٦٦
Fe EDTA	٥ مل
جلوتامين Glutamine	٧٣٠
سيرين Serine	١٠٥
إينوريتول Inositol	٤٥٠٥
سكروز	٢٠٠٠٠
رقم الحموضة (pH)	٥,٨

كذلك أدت إضافة الفحم النباتى إلى البيئة إلى تحفيز النمو ذكريًا فى مزارع متوك التبغ، والبطاطس، والشوفان، والجزر وعلى الأقل فى التبغ كان مرد التأثير المحفز للفحم النباتى فى مزارع التبغ إلى امتصاص الفحم للمركب 5-hydroxymethyfurfural الذى يتكون أثناء تعقيم السكروز فى الأوتوكليف. وهو مركب له تأثير ضار؛ أى إن الفحم النباتى يمتص المركبات المثبطة، ومن ثم يقلل أعداد الأجنة الأحادية التى كانت عرضة للإجهاض فى وجود تلك المركبات (عن Bajaj ١٩٩٠) هذا فضلاً عن امتصاص الفحم للمركبات السامة التى تنتج عن تحلل التوك، ومثبطات النمو — مثل حامض الأبسيسك — التى تتواجد بتركيزات عالية فى المتوك وتمنع عملية التوالد الذكرى (عن Taji وآخرين ٢٠٠٢)

خطوات الزراعة

يجب أن تؤخذ المتوك المستعملة فى الزراعة من نباتات حديثة الإزهار، ويكون ذلك فى مرحلة معينة من تكوين حبوب اللقاح قبل تفتح الزهرة، لذا .. فإنه تفضل دائمًا زراعة النباتات التى تؤخذ منها المتوك فى ظروف بيئية متحكم فيها، ليمكن الربط — إلى حد ما — بين المظهر الخارجى للبرعم الزهرى، والمرحلة المناسبة لتكوين حبوب اللقاح

تعد البراعم الزهرية المغلقة المتحصل عليها فى بداية مرحلة الإزهار — والتى توجد بها المتوك فى مرحلة الخلايا الجرثومية الوحيدة النواة — هى الأفضل للاستخدام فى مزارع المتوك وحبوب اللقاح. تقطع تلك البراعم الزهرية، وتعقم سطحيًا — وهى فى مجموعات تضم كل منها ٢٥ برعمًا — وذلك باستعمال محلول ٥٪ من الكلوراكس أو ١٪ هيبوكلوريت الكالسيوم لمدة ١٠ دقائق، ثم تغسل مرتين باستعمال ماء معقم ومقطر.

فى البداية .. يتم عمل شق على أحد جوانب البرعم الزهرى، وتسحب الأسدية خارجيًا باستعمال ملقط ذات أطراف مدببة، وتجمع فى طبق بترى معقم. ويلى ذلك إزالة الخيوط بحرص من الأسدية، وتنقل كل خمسة متوك معًا إلى وعاء بيئة الزراعة، وذلك بعد اختبار مرحلة تكوينها بسحق أحد المتوك فى صبغة أسيتوكارمن .. ويراعى أثناء فصل المتوك عدم الإضرار بها إطلاقًا؛ حيث يتعين استبعاد جميع المتوك المضارة، نظرًا لأنها تعطى غالبًا نسيج كالس من أجزاء غير حبوب اللقاح — مثل جدر المتوك — وهى خلايا ثنائية.

تزرع المتوك على بيئة آجار فى أنابيب زجاجية، أو فى أطباق بترى صغيرة، كما يمكن — كذلك — زراعتها فى بيئة سائلة فى دوارق مخروطية مع وضعها فى هزاز دائرى بطئ الحركة. كذلك يمكن اتباع تقنية خاصة توضع فيها حبوب اللقاح على قطعة من ورقة ترشيح تستند على متك كامل يستند — بدوره — على بيئة الزراعة؛ فيما يعرف بالمزرعة الحاضنة nurse culture، التى توفر فيها المتوك بعض المركبات الأساسية التى تلزم لنمو حبوب اللقاح (شكل ٧-٣).

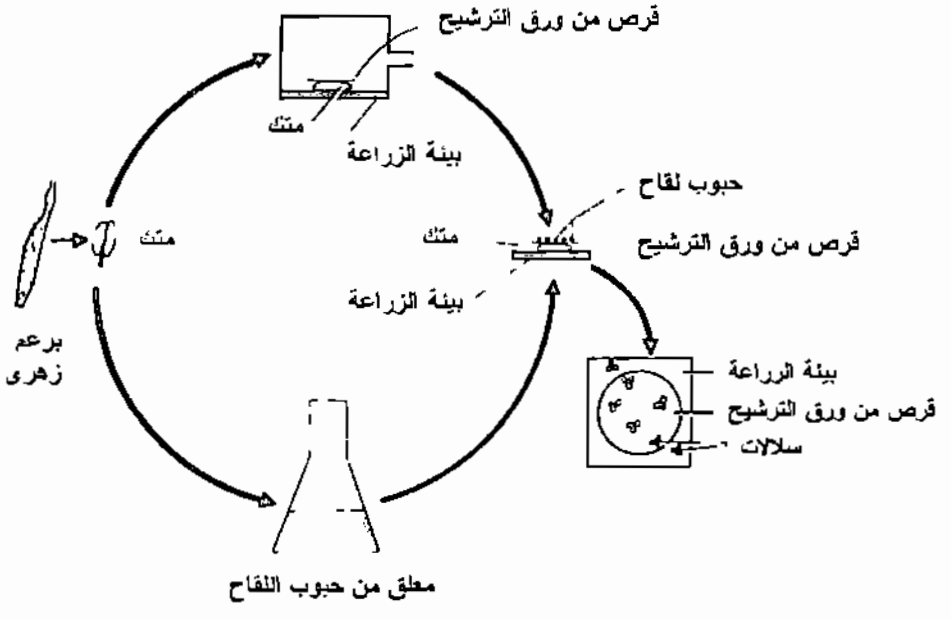
تحضن مزارع المتوك غالبًا فى الضوء (٥٠٠٠-١٠٠٠٠ لكس lux/م^{٢}) لمدة ١٢-١٨ ساعة على حرارة ٢٨°م بالتبادل مع فترة إظلام، مدتها ٦-١٢ ساعة على حرارة ٢٢°م.

تتحول جدر المتوك — تدريجيًا — إلى اللون البنى، ثم تتفتح فى خلال ٣-٨ أسابيع؛ بسبب الضغط الداخلى للكالس المتكون من حبوب اللقاح، أو بسبب النباتات الصغيرة Plantlets التى تنمو منها.

تفصل النباتات المفردة أو النموات الخضرية عن الكالس، بعد أن يصل طولها إلى نحو

٣-٥ سم، وتنقل إلى بيئة مناسبة للنمو الجذرى، ويلى ذلك نقل النباتات التى تكونت جذورها إلى أصص صغيرة معقمة وتحتوى على تربة معقمة ولتقليل الصدمات ومنع الجفاف يفضل تنكيس كأس زجاجى فوق كل نبات، مع وضع الأصص فى صوبة رطبة وجيدة الإضاءة

ترفع الكؤوس من على النباتات بعد حوالى أسبوع من الزراعة، ثم بعد نحو أسبوعين آخرين يتم نقلها مرة أخرى إلى أصص أكبر حجمًا، حيث تبقى فيها إلى حين اكتمال نموها وإزهارها (عن Bajaj ١٩٩٠)



شكل (٧-٣) تقنية المزارع الحاضنة nurse culture technique لإنتاج سلالات أحادية من مزارع حبوب اللقاح (عن Bhojwani & Razdan ١٩٨٣).

قوائم بالأنواع النباتية التى أمكن إكثارها

أولا: مزارع المتوك وحبوب اللقاح:

نستعرض — فيما يلى — قوائم ببعض الأنواع النباتية التى أمكن إكثار نباتات أحادية منها من خلال مزارع المتوك وحبوب اللقاح.

● قائمة Chu (١٩٨٢)، و Bhojwani & Razdan (١٩٨٣):

العائلة والنوع النباتي	طريقة التكوين[أ]
Caricaceae	؟
Carica papaya	؟
Chenopodiaceae	
Beta vulgaris	؟
Compositae	
Gerbera jamesonii	C
Cruciferae	
Arabidopsis thaliana	C
Brassica campestris	E
B. chinensis	؟
B. oleracea	C
B. oleracea x *B. alboglabra* (F_1)	C
B. napus	E
B. pekinensis	؟
Euphorbiaceae	
Hevea brasiliensis	؟
Geraniaceae	
Pelargonium hortorum	C
Gesneriaceae	
Saintpaulia ionantha	E
Gramineae	
Aegilops caudata x *A. umbellata*	C
Bromus inermis	C
Coix lacryma	؟
Hordeum vulgare	C
Lolium multiflorum	C
L. multiflorum x *Festuca arundinaceae*	C
Oryza sativa	C, E
O. perennis	C
Secale cereale	C, E
Setaria italica	C
Triticale	C

العائلة والنوع النباتى	طريقة التكوين[أ]
Triticum aestivum	C, E
T. durum	؟
T. vulgare x *Agropyron glaucum*	C
Zea mays	C, E
Hippocastanaceae	
Aesculus hippocastanum	E
Leguminosae	
Trifolium alexandrium	C
Liliaceae	
Asparagus officinalis	C
Lilium longiflorum	C
Ranunculaceae	
Paeonia hybrida	E
Rutaceae	
Poncirus trifoliata	E
Salicaceae	
Populus nigra	C
P. assuriensis	C
P. simonni x *P. nigra*	C
Scrophulariaceae	
Digitalis purpurea	C
Solanaceae	
Atropa belladonna	E
Capsicum annum	C, E
Datura innoxia	E
D. metel	C, E
D. meteloides	E
D. muricata	E
D. Stramonium	E
D. wrightii	E
Hyoscyamus albus	E
H. niger	E, C

العائلة والنوع النباتى	طريقة التكوين[أ]
H. pusillus	E
Lycium halimifolium	E
Lycopersicon esculentum	C
Nicotiana alata	E
N. attenuata	E
N. clevelandii	E
N. glutinosa	E
N. knightiana	E
N. langsdorffii	E
N. otophora	E
N. paniculata	E
N. raimondii	E
N. rustica	E
N. sanderae	E
N. sylvestris	E
N. tabacum	E
Petunia axillaris	E
P. hybrida	C
P. axillaris x *P. hybrida*	C
Scopolia carniolica	E
S. lurida	E
S. physaloides	E
Solanum bulbocastanum	C, E
S. demissum	C, E
S. dulcamara	C, E
S. fendleri	C, E
S. hjertingii	E
S. melongena	C
S. nigrum	C
S. phureja	E
S. polytrichon	C, E

العائلة والنوع النباتى	طريقة التكوين[أ]
S. stenotomum	E
S. stoloniferum	E
S. surattense	C
S. tuberosum	C, E
S. verrucosum	C, E
S. verrucosum x *S. chacoense*	E
S. verrucosum x *S uberosum*	E

أ — E تكوين النباتات الأحادية من خلال التكوين الجنينى من حبوب اللقاح pollen embryogenesis، و C تكوين النباتات الأحادية من خلال النمو الكالوسى لحبوب اللقاح pollen callusing، و ؟ طريقة التكوين غير واضحة

● قائمة Bajaj (١٩٩٠)

قدمت قائمة Bajaj حصرًا بالأنواع النباتية التى أمكن الحصول منها على كالس أحادى المجموعة الكروموسومية، أو أجنة أو نباتات أحادية عن طريق مزارع المتوك أو حبوب اللقاح ومن بين الأنواع النباتية الهامة التى ورد ذكرها، ما يلى:

Arachis spp.	*Asparagus officinalis*
Beta vulgaris	*Brassica* spp
Capsicum spp.	*Cicer arietinum*
Coffea arabica	*Daucus carota*
Fragaria spp.	*Freesia* spp.
Gladiolus spp.	*Gossypium* spp.
Helianthus annuum	*Hordeum vulgare*
Jacaranda acutifolia	*Lycopersicon* spp.
Malus domestica	*Medicago sativa*
Oryza sativa	*Phaseolus aureus*
Pisum sativum	*Populus* spp
Psophocarpus tetragonolobus	*Secale cereale*
Solanum spp.	*Triticum* spp.
Triticale	*Vigna mungo*
Vitis vinifera	*Zea mays*

● قائمة Kalloo (١٩٨٨):

من بين محاصيل الخضر – والأنواع القريبة منها – التى أمكن الحصول فيها على أنسجة أو أجنة أو كالس أو نباتات كاتملة أحادية المجموعة الكروموسومية بالاستعانة بزراعة المتوك أو حبوب اللقاح، ما يلى:

Solanum tuberosum
S. verrucosum
S. melongena
Lycopersicon esculentum
Capsicum annuum
Asparagus officinalis
Pisum stivum
Phaseolus vulgaris
P. aureus
Vicia faba
Vigna unguiculata
Glycine max
Cucumis melo
Brassica oleracea var. *italica*
Brassica oleracea var. *gemmifera*

ثانيًا: مزارع الخلايا الوالدة للجراثيم الدقيقة:

من بين الأنواع النباتية التى أنتجت فيها أجنة (E) embryos أو نباتات كاملة plants (P) باستخدام مزارع الخلايا الوالدة للجراثيم (أو الأبواغ) الدقيقة microspore culture (مزارع الخلايا الجرثومية الصغيرة)، ما يلى (عن Dunwell ١٩٩٦):

Asparagus officinalis (P)
Brassica campestris (P)
Brassica carinata (P)
Brassica napus (P)
Brassica oleracea (P)
Camellia japonica (E)

Datura innoxia (P)
Ginkgo biloba (E)
Hordeum vulgare (P)
Lupinus albus (E)
Medicago sativa (E)
Nicotiana tabacum (P)
Oryza sativa (P)
Triticum aesativum (P)
Zea mays (P)

مزارع المبايض والبويضات

يُعرف إنتاج النباتات الأحادية من الخلايا الجرثومية الكبيرة megaspores باسم التوالد الأنثوى gynogensis؛ الأمر الذى يتم عن طريق مزارع المبايض ovary culture. وهى التى أجريت بداية على الذرة والباذنجان، ثم طبقت على محاصيل أخرى مثل الأرز والشعير ولقد وجدت تباينات وراثية فى تكوين الكالوس الـ gynogenic. ويتوقف نجاح الزراعة — كذلك — بصورة أساسية على مرحلة تكوين المبيض التى تتباين المرحلة المناسبة منها باختلاف الأنواع فيما بين مرحلة البويضة الأحادية النواة إلى مرحلة الكيس الجنينى المكتمل التكوين ويعد توفر منظمات النمو التى تحفز التوالد الأنثوى وسبط بضاعف الأنسجة الأمية أمرا حيويًا لنجاح زراعة المبايض، ومن أهم منظمات النمو المؤثرة فى ذلك الاتجاه 2-methyl, 4-chlorophenoxyacetic acid (اختصارًا MCPA)

وتعد مزارع المبايض أقل كفاءة فى إنتاج النباتات الأحادية من مزارع المتوك؛ نظرًا لوجود كيس جينيى واحد بكل مبيض، مقارنة بآلاف الخلايا الجرثومية لحبوب اللقاح التى قد تتواجد فى المتك الواحد

هذا . ويمكن أن تزرع المبايض ملقحة أو غير ملقحة (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢)

ولقد نجحت مزارع المبايض غير الملقحة والبويضات فى كثير من الأنواع النباتية.

مثل *Beta vulgaris*، و *Allium cepa*، و *Gerbera jamesonii*، وهى أنواع يصعب فيها التوالد البكرى الذكرى androgensis، ولا تُعرف لها وسيلة أخرى لإنتاج النباتات الأحادية ويبين جدول (٧-٤) نسبة النباتات الأحادية — من بين تلك التى يتجدد نموها — من كل من مزارع المبايض ومزارع البويضات لعدد من الأنواع النباتية.

تتشابه طريقتا زراعة المبايض والبويضات، لكن زراعة المبايض تكون أبسط، حيث لا يتطلب الأمر فصل البويضات كما فى حالة مزارع البويضات، كما تقل احتمالات الإضرار بالبويضات فى حالة المبايض. كذلك فإن مرحلة نمو وتكوين العضو المزروع تكون أقل أهمية فى مزارع المبايض. هذا .. إلاّ أن مزارع البويضات قد تكون هى الأفضل فى حالة الأنواع النباتية التى تكثر البويضات فى مبايض أزهارها (عن Keller & Korzun ١٩٩٦)

جدول (٧-٤): نسبة النباتات الأحادية بين النباتات التى يتجدد نموها من مزارع البويضات ومزارع المبايض فى ستة أنواع نباتية (عن Keller & Korzun ١٩٩٦).

النوع النباتى	نوع المزرعة	النسبة المئوية للنباتات الأحادية من بين تلك التى تجدد نموها[أ]
Allium cepa	مبايض	٨٨,٣
	مبايض وبويضات	٦٢,٢
	مبايض	٧٠
Beta vulgaris	بويضات	٣٦,٩
	بويضات	٩٠,٧
	بويضات	٨١
Helianthus annuus	مبايض	٥٤
Gerbera jamesonii	بويضات	٤٢
	بويضات	٧٦
Lilium davidii	مبايض	٦٥,٧
Oryza sativa	مبايض	٧٧,٥

أ — أخذت النتائج نقلا عن دراسات مختلفة.

وأمكن عن طريق مزارع المبايض ovary culture الحصول على نباتات أحادية فى عديد من الأنواع النباتية، من أمثلتها ما يلى (عن Bajaj ١٩٩٠):

Beta vulgaris	*Gerbera jaesonii*
Helianthus annuus	*Hordeum vulgare*
Nicotiana tabacum	*Oryza sativa*
Triticum aestivum	*Zea mays*

ويعد الأرز من أهم المحاصيل الزراعية التى تمت الاستفادة فيه من مزارع المبايض فى إنتاج النباتات الأحادية.

عزل الأجنة الأحادية فى التهجينات البعيدة

تعتمد خاصية تكوين الأجنة الأحادية فى التهجينات البعيدة على الاستبعاد التلقائى للهيئة الكروموسومية الكاملة لأحد النوعين المهجنين خلال مرحلة تكوين الجنين فى البيئات الصناعية.

ومن أشهر الأمثلة على ذلك الحصول على نباتات أحادية من الشعير *Hordeum vulgare* بعد تهجينه مع النوع البرى *H. bulbosum*، فيما يعرف باسم الـ bulbosum method (شكل ٧-٤) نجد أن كروموسومات النوع الأخير تُستبعد سريعا خلال المراحل المبكرة لتكوين الجنين، ولكن يتدهور تكوين الإندوسبرم – كذلك – بعد ٢-٥ أيام من نمو الجنين؛ الأمر الذى يتطلب عزل الجنين وزراعته فى بيئة صناعية لإكمال نموه وبهذه الطريقة يمكن الحصول على نباتات أحادية من الشعير

وقد نجحت هذه الطريقة – كذلك – فى الحصول على نباتات أحادية من القمح *Triticum aesativum* لدى تلقيح الصنف Chinese Spring بلقاح من النوع *H bulbosum*، ولكن نجاح تلك الطريقة فى القمح قاصر على أصناف القمح التى تحتوى على الجين kr المسئول عن استبعاد كروموسومات *H bulbosum* (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

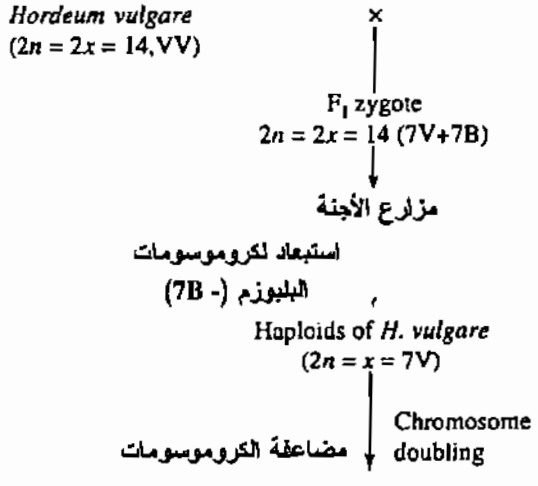
الحصول على الأجنة الأحادية بمعاملة الطور الجاميطى بالإشعاع

تؤدى معاملة حبوب اللقاح بجرعات عالية نسبيًا من الإشعاع – تكفى لقتلها – إلى إنتاج أجنة أحادية -- بالتوالد البكرى – عند استعمال تلك اللقاح فى تلقيح النباتات،

وكانت تلك من أوائل الطرق التى استخدمت فى إنتاج نباتات أحادية، وقد طبقت بنجاح فى عديد من الأنواع النباتية، مثل:

Petunia hybrida	*Cucumis melo*
Tradescantia paludosa	*Lilium speciosum*
Populus trichocarpa	*Pseudostuga menziesi*
Nicotiana tabacum	*Pyrus communis*
Theobroma cacao	*Allium cepa*
Malus domestica	*Rosa hybrida*

(عن Maluszynski وآخرين ١٩٩٦)



شكل (٧-٤): طريقة البلبوزم **bulbosum method** لإنتاج نباتات أحادية مضاعفة من الشعير.

وقد استخدمت أشعة إكس بنجاح فى كل من الأنواع التالية:

Capsicum frutescens	*Nicotiana rustica*
Triticum aestivum	*Triticum durum*
Triticum monococcum	

واستخدمت أشعة جاما فى كل من الأنواع التالية:

Allium cepa	*Cucumis melo*
Hordeum vulgare	*Malus domestica*
Petunia hybrida	*Rosa hybrida*

كما استخدمت النظائر المشعة P^{32}، و P^{35} فى النوع *Triticum aesativum* (عن Sestili & Ficcadenti ١٩٩٦).

ويحد من اتباع تلك الطريقة فى إنتاج النباتات الأحادية ارتفاع نسبة الأجنة التى لا تكمل نموها ولا يمكنها الإنبات، الأمر الذى يمكن التغلب عليه باللجوء إلى مزارع البويضات ومزارع الأجنة.

كذلك تؤدى معاملة الطور الجاميطى الأنثوى female gametophyte (الكيس الجنينى) بالإشعاع قبل التلقيح بحبوب لقاح غير معاملة بالإشعاع إلى إنتاج نباتات أحادية من حبوب اللقاح. حدث ذلك فى عدد من الأنواع النباتية، مثل:

Crepis tectorum	*Antirrhinum majus*
Petunia spp.	

(عن Maluszynski وآخرين ١٩٩٦).

إنتاج النباتات الأحادية المضاعفة

نجد عند المستوى الأحادى (١ ن) أن كل جين يكون ممثلاً مرة واحدة hemizygous وبعد مضاعفة الكروموسومات يصبح — نظريًا — كل جين ممثلاً مرتين، أى يصبح كل جين homozygous. وبذا يكون النبات الأحادى المضاعف أصيلاً تمامًا.

هذا .. ويشار أحيانًا إلى النباتات الأحادية المضاعفة doubled haploids بأنها أحادية ثنائية dihaploids، إلاّ أن التعريف الكلاسيكى للنباتات الأحادية الثنائية أنها النباتات الأحادية (١ ن = ٢س) للنباتات الرباعية التضاعف (٢ن = ٤س). ولذا يوصى بعدم استخدام مصطلح الـ dihaploids فى وصف النباتات الـ double haploids (عن Khush & Virmani ١٩٩٦)

وتتم مضاعفة النباتات الأحادية — لإعادتها إلى الحالة الثنائية العدد الكروموسومى — إما بمعاملتها بالكولشيسين، وإما عن طريق مزارع الكالس للنباتات الأحادية.

وتجرى المعاملة بالكولشيسين بأى من الطرق التالية:

١ — بمعاملة النباتات الصغيرة الناتجة من مزارع المتوك — وهى مازالت متصلة بالمتوك — بالكولشيسين بتركيز ٠,٥٪ لمدة ٢٤–٤٨ ساعة، ثم غسلها جيدًا وإعادة زراعتها.

٢ — زراعة المتوك — مباشرة — على بيئة تحتوى على كولشيسين لمدة أسبوع — أى لحين بدء الانقسام الخلوى الأول — ثم نقلها إلى بيئة لا تحتوى على أى كولشيسين (شكل ٧–٥).

٣ — معاملة البراعم الإبطية (محاور الأوراق) فى النباتات الأحادية بعجينة من اللانولين المحتوى على الكولشيسين بتركيز ٠,٤٪.

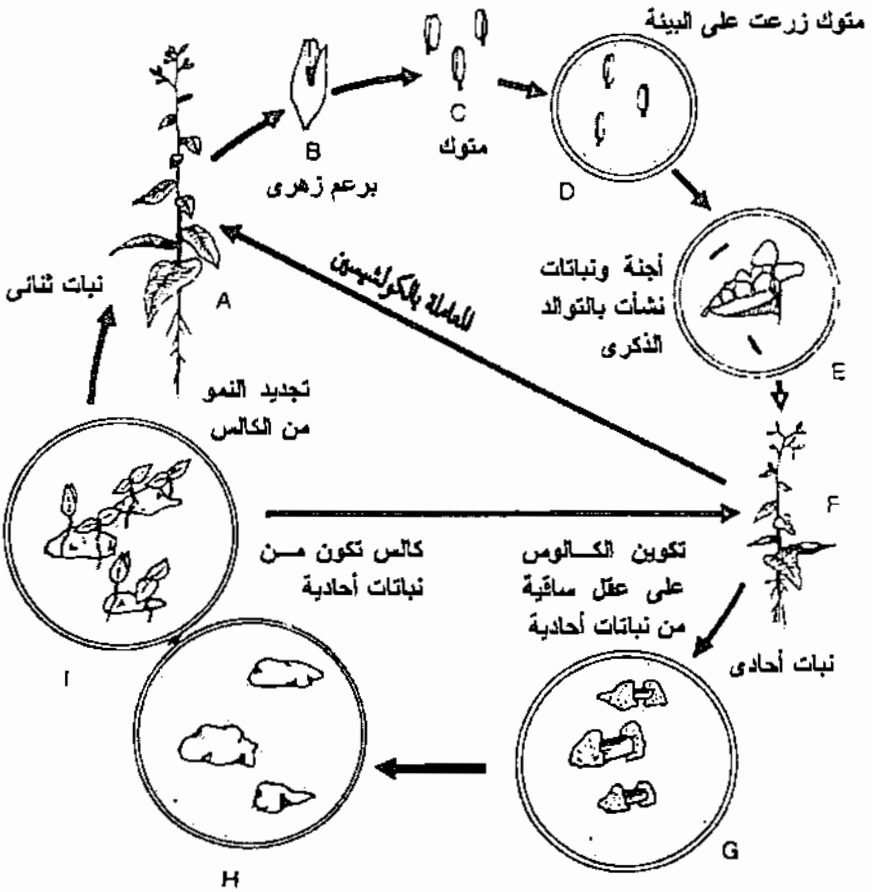
٤ — تكرار معاملة البراعم الإبطية للنباتات الأحادية بالقطن المبلل بالكولشيسين لمدة ١٠–١٤ يومًا (عن Chawla ٢٠٠٠).

ويبين جدول (٧–٥) معاملات الكولشيسين التى تجرى بهدف إحداث التضاعف فى مختلف أنواع مزارع الأنسجة.

أما مزارع الكالس الأحادى المجموعة الكروموسومية فيمكن الحصول عليها بزراعة عقل ساقية لنباتات أحادية فى بيئة تحفز إنتاج الكالس (شكل ٧–٥). ومن المعروف أن مزارع الكالس الأحادى المجموعة الكروموسومية كثيرًا ما تمر خلاياها بانقسامات ميتوزية للنواة فقط (endomitosis)، الأمر الذى يمكن استغلاله فى الحصول على نباتات ثنائية أصيلة. وفى تلك الحالات تزرع قطعة صغيرة من ساق النبات الأحادى فى بيئة تحتوى على أوكسين وسيتوكينين لحث تكوين الكالس (عن Bajaj ١٩٩٠).

جدول (٧–٥) معاملات الكولشيسين بهدف إحداث التضاعف فى نباتات مزارع الأنسجة (عن Rao & Suprasanna ١٩٩٦)

النوع النباتى	المزرعة	تركيز الكولشيسين (جم/لتر)	مدة المعاملة	التأثير
Atropa belladona	مزارع خلايا أحادية	١,٠	٢٤ ساعة	مضاعفة ٧٠٪ من الخلايا
Brassica napus	جذور نباتات المزارع	٠,٠٥	٤–٨ أيام	مضاعفة ٥٠٪ من الخلايا
	مزارع الأبواغ الدقيقة	٠,١–٠,٠٢٥	٦–٧٢ ساعة	استجابة إيجابية على تكوين الأجنة فى ٦٩٪ من الحالات
Nicotiana tabacum	نباتات صغيرة فى المزارع	٤,٠	٤ ساعات	تضاعف بنسبة ٦٠٪
Oryza sativa	مزارع المتوك	٠,٥–٠,٢٥	٢٤–٤٨ ساعة	٣١–٦٥٪ نباتات أحادية مضاعفة
Saccharum officinarum	مزارع خلايا الأوراق	٠,٥–٠,٠٥	٤ أيام	٥٣,٥٪ نباتات أحادية مضاعفة
Solanum verrucosum	مزارع القمة الميرستيمية	٠,٥	٤٨ ساعة	نسبة عالية من التضاعف
Triticum aesativum	مزارع المتوك	٠,٢٥–٠,١٢٥	٤٨–٧٢ ساعة	تضاعف بنسبة ٨٩٪ ، مع تأثير ضار على النباتات
	مزارع الأبواغ الدقيقة	٠,٤–٠,١	٧٢ ساعة	نسبة عالية من النباتات الخصية
	مزارع المتوك	٠,٢–٠,١	٣ أيام	٧٢٪ تضاعف
Zea mays	كالس جنينى أحادى	٠,٥–٠,٢٥	٢٤–٧٢ ساعة	٥٠٪ تضاعف



شكل (٧-٥): طرق إنتاج نباتات ثنائية أصيلة من نباتات أحادية حُصِل عليها من مزارع المتوك (عن Bhojwani & Razdan ١٩٨٣).

هذا .. ولكى تكون عملية مضاعفة النباتات الأحادية ناجحة، فإنه يجب أن تتوفر فيها الشروط التى تجعل اتباعها اقتصاديًا مقارنة بالطرق الأخرى، وهى كما يلى:

١ — أن تكون سهلة وتعطى بانتظام أعدادًا كبيرة من النباتات الأحادية المضاعفة من كل التراكيب الوراثية فى برنامج التربية.

٢ — يجب أن تكون النباتات الأحادية المضاعفة طبيعية وثابتة وراثيًا.

٣ – يجب أن تمثل النباتات الأحادية المضاعفة عينة عشوائية من جاميطات الآباء (عن Khush & Virmani ١٩٩٦).

مزارع النباتات الأحادية كمصدر للتباينات الوراثية

الأساس الوارثى للتباينات

تظهر فى مزارع النباتات الأحادية العدد الكروموسومى تباينات وراثية لا حصر لها، يكون مرد بعضها إلى حالات التضاعف الكروموسومى غير التام aneuploidy، وبعضها الآخر إلى حالات من التضاعف الكروموسومى التام euploidy. والنوع الأخير هو الأكثر شيوعًا؛ ربما بسبب التأثيرات الضارة لعدم التوازن الجينى الذى يحدث فى حالات التضاعف الكروموسومى غير التام (جدول ٧–٦)

جدول (٧–٦): بيانات عن بعض الأنواع النباتية ذات القدرة العالية على إنتاج نباتات غير أحادية فى مزارع المتوك (عن Bhojwani & Razdan ١٩٨٣).

النوع (وعدد الكروموسومات الجسمى)	وسيلة تكوين النموات الجديدة	عدد كروموسومات النباتات المنتجة
Atropa belladonna (٧٢)	الأجنة	٣٦، ٧٢، ١٠٨
Datura innoxia (٢٤)	الأجنة	١٢، ٢٤، ٣٦، ٤٨، ٧٢
D. metel (٢٤)	الأجنة	١٢، ٢٤، ٣٦
D. meteloides (٢٤)	الأجنة	١٢، ٢٤
Hordeum vulgare (١٤)	كالس	٧، ١٤، ٢٨
Lotus corniculatus (٢٤)	كالس	٢٤، ٢٨
Oryza sativa (٢٤)	كالس	١٢، ٢٤، ٣٦، ٤٨، ٦٠
Petunia hybrida (١٤)	كالس جنينى	٧، ١٤، ٢١، ٢٨
Solanum nigrum (٧٢)	كالس	٣٦، ٧٢، ١٠٨، وتضاعفات غير تامة للمجموعة الكروموسومية aneuploids

وإلى جانب التغيرات فى أعداد الكروموسومات، فإن التباينات الوراثية التى قد تحدث فى مزارع المتوك يمكن أن تتضمن – كذلك – تغيرات على المستوى الجزيئى

(مستوى الدنا)، يمكن أن تؤدى إلى وقف فعل جينات كانت فى الأصل ذات تأثير ظاهر، أو ظهور تأثيرات لجينات كان تأثيرها مُثبطًا على الرغم من وجودها.

كذلك يمكن أن تظهر فى مزارع المتوك تباينات تنتج عن تغيرات وراثية سيتوبلازمية، والتى من أكثرها حدوثًا الفقد الجزئى أو الكلى لدنا البلاستيدات (عن Ziauddın & Kasha ١٩٩٠).

مصادر التباينات الوراثية

إن من أهم مصادر التباينات الوراثية التى تظهر فى مزارع النباتات الأحادية، ما يلى:

١ – التباينات الموجودة أصلاً:

تتواجد العديد من الخلايا المتضاعفة كروموسوميًا فى الجزء النباتى المزروع explant منذ البداية، ولعمر النسيج النباتى المستخدم ونوعه أهمية كبيرة فى هذا الشأن، حيث تزداد حالات التباينات تلك بزيادة عمر النسيج، وفى نسيج النخاع عما فى الأنسجة الميرستيمية بالقمة النامية.

وعندما يستخدم نسيج جسمى ثنائى لأجل إنتاج نباتات أحادية، فإن أحد مصادر التباينات قد تكون الطفرات.

٢ – التباينات التى تستحث للظهور فى أنسجة الكالس:

يعد ظهور الكالس بمثابة عكس لعملية التميز dedifferentiation، وفيها تُستحث عملية التضاعف الكروموسومى دون انقسام للخلايا endoreduplication، وتتشرذم الكروموسومات فى الخلايا المنقسمة، مما يؤدى إلى حالات التضاعف الكروموسومى غير التام.

٣ – طول مدة البقاء فى المزارع:

تؤدى كثرة دورات مزارع الأنسجة، أو طول فترة بقاء المزارع إلى زيادة معدل ظهور التباينات الوراثية (عن Ziauddin & Kasha ١٩٩٠).

وسائل التحكم فى ظهور التباينات الوراثية

يمكن التحكم فى ظهور التباينات الوراثية فى مزارع النباتات الأحادية بمراعاة ما يلى

١ -- اختيار الجزء النباتى المستعمل فى الزراعة (الـ explant) من نسيج ميرستيمى

٢ — اختيار بيئة مناسبة للزراعة، فمثلاً .. وجد أن الـ parafluorophenylalanine كان مفيدا فى المحافظة على مزارع الخلايا الأحادية ثابتة وراثيًا

٣ — اختيار الوقت المناسب لإعادة الزراعة:

من المعروف أن مزارع البيئات السائلة تعاد زراعتها كل ٧ أيام، بينما تعاد زراعة مزارع البيئات الصلبة كل أربعة أسابيع. وتؤدى إعادة الزراعة subculturing قريبا من قمة الدليل الميتوزى peak mitotic effect (وهو يحسب بقسمة عدد الأنوية التى تمر بانقسام ميتوزى على العدد الكلى للأنوية الملاحظ) إلى تأكيد تكوّن أعداد كبيرة من الخلايا الميرستيمية

٤ — المحافظة على المزارع فى ظروف مناسبة

تعد الظروف المناسبة هى التى تبطء نمو المزارع، مثل

أ — خفض درجة الحرارة إلى ما بين ٤، و ١٢م.

ب — زيادة الضغط الأسموزى لبيئة الزراعة.

جـ - إضافة بعض مثبطات النمو مثل حامض الأبسيسك، والسيكوسيل.

د — التخزين فى ظروف الحرارة شديدة الانخفاض فى النيتروجين السائل على -١٩٦م (عن Ziauddin & Kasha ١٩٩٠).

استخدامات النباتات الأحادية فى مجال تربية

إن من أهم المزايا التى حققتها النباتات الأحادية، والنباتات الثنائية التى حُصل عليها بمضاعفة الأحادية، ما يلى

١ — تحقيق الأصالة الوراثية للجينات التى يصعب الوصول إليها بحالة أصيلة، كما فى آليلات عدم التوافق فى الراى (الجاوْدار) rye.

٢ — التخلص من ظاهرة عدم التوافق الذاتى فى عديد من محاصيل الفاكهة.

٣ — استخدام النباتات الأحادية كوسيلة لانتخاب الجاميطات، وللحصول على نباتات ثنائية أصيلة فى جيل واحد بدلاً من التربية الداخلية لستة أو ثمانية أجيال — كما حدث فى الشعير على سبيل المثال — ويستفاد من تلك السلالات فى إنتاج الهجن

٤ — التأكد من سلامة الانتخاب لأى صفة تم الانتخاب لها؛ إذ إن جميع الجينات تكون فى حالة أصيلة، ولا يمكن أن تحدث فيها أى انعزالات وراثية فى الأجيال التالية للجيل الانتخابى الأول.

٥ — نقل السيتوبلازم من سلالة لأخرى فى خطوة واحدة، ولذلك أهميته الكبيرة عند الرغبة فى نقل صفة العقم الذكرى السيتوبلازمى إلى إحدى السلالات لاستخدامها كآباء للهجن

٦ — إجراء الدراسات الوراثية فى البطاطس على مستوى النباتات الثنائية العدد الكروموسومى.

٧ — إنتاج أصناف الأسبرجس المذكرة (كما سيأتى تفصيله فى نهاية هذا الفصل).

٨ — إنتاج الكثير من التباينات الوراثية (يراجع الموضوع السابق).

٩ — الاستفادة منها فى الدراسات السيتولوجية.

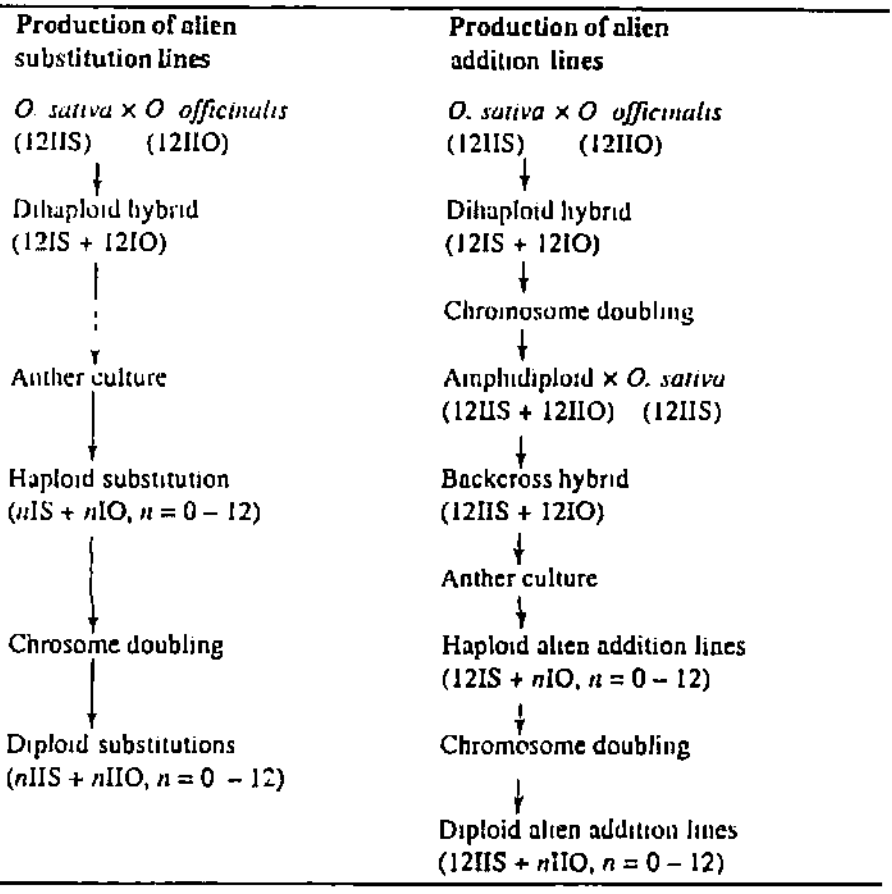
١٠ — الإنتاج المبكر للأصناف التجارية (يراجع الموضوع الأخير من هذا الفصل).

١١ — تشكل النباتات الأحادية مصدرًا مثاليًا للجيرمبلازم فى عمليات دمج البروتوبلاست.

١٢ — تستعمل مزارع المتوك فى الحصول على كل من alien substitution lines، و alien addition lines، كما يتبين من شكل (٧-٦) الذى استخدم فيه الأرز كمثال.

١٣ — تستعمل النباتات الأحادية المضاعفة — كذلك — فى التطوير السريع للعشائر نظرًا لسهولة إخضاعها للـ quantitative trait loci mapping، وعمل خرائط ارتباطية للصفات الهامة بها (عن Chawla ٢٠٠٠، و Chahal & Gosal ٢٠٠٢، و Taji وآخرين ٢٠٠٢)

١٤ — إنتاج مختلف حالات التعدد الكروموسومى غير التامة aneuploids (يراجع لذلك الموضوع السابق).



شكل (٧-٦): تخطيط لإنتاج كلاً من الـــ alien substitution lines(أ)، و الـــ alien addition lines (ب) من خلال مزارع المتوك فى الأرز.

١٥ — تعد النباتات الأحادية وسيلة سهلة لإنتاج النباتات ذات الأصول الوراثية المتشابهة isogenic lines (عن Bhojwani & Razdan ١٩٨٣)

١٦ — إنتاج سلالات أحادية مضاعفة مماثلة فى قوة نموها وسلوكها لنباتات الجيل الأول: يتطلب تحقيق ذلك، ما يلى:

أ — إنتاج طفرات ثابتة من صنف قياسى تنتشر زراعته.

ب — تقييم تلقيحات الجيل الأول بين طفرات من هذا الصنف، أو بين الطفرات والصنف الأصلى، لأجل تحديد الهجن التى تتفوق فى محصولها على الصنف الأصلى

جـ – إنتاج أعداد كبيرة من السلالات الأحادية المضاعفة من هجن الجيل الأول التى تظهر بها قوة الهجين.

د – تقييم السلالات الأحادية المضاعفة المنتجة، لأجل انتخاب ما يتماثل منها فى قوة الهجين مع الجيل الأول.

هـ – التقييم الحقلى للسلالات الأحادية المضاعفة المنتجة.

وأهم ما يميز تلك السلالات التى تظهر بها قوة نمو مماثلة لقوة هجين الجيل الأول أنها تكثر بالتلقيح الذاتى. ولقد اتبعت هذه الطريقة – بالفعل – فى إنتاج أصناف جديدة محسنة من الشعير (عن Maluszynski وآخرين ١٩٩٦).

١٧ – سهولة وجدوى الانتخاب على مستوى النباتات الأحادية:

من المفضل أن يجرى الانتخاب للصفات المرغوب فيها فى النباتات الأحادية ذاتها قبل مضاعفتها، وذلك توفيراً للجهد المبذول فى مضاعفة نباتات أحادية بغير ذى فائدة، علمًا بأن نتيجة الانتخاب تكون واحدة – تقريبًا – فى كل من النباتات الأحادية والأحادية المضاعفة، ففى إحدى الدراسات على الذرة .. أظهرت ٧٢٪ من الجينات التى تناولتها الدراسة صفاتها فى كل من حبة اللقاح والطور الاسبوروفيتى، بينما أظهرت ٢٢٪ من الجينات صفاتها فى الطور الاسبوروفيتى فقط، وأظهرت ٦٪ من الجينات صفاتها فى حبة اللقاح فقط. كما حُصل على نتائج مشابهة لتلك فى الطماطم

ولقد أظهر الانتخاب عند المستوى الأحادى جدواه – فى مزارع المتوك – لتحمل الملوحة فى الشعير، وفى مزارع الكالس لمقاومة الأمراض وزيادة كفاءة عملية البناء الضوئى فى التبغ (عن Khush & Virmani ١٩٩٦).

كذلك نجد فى طرق التربية التقليدية أن التباينات بين أفراد العشائر الانعزالية الأولى تتضمن تأثيرات إضافية وأخرى غير إضافية للجينات، بينما ترجع التباينات التى تظهر فى السلالات الأحادية المضاعفة double haploids – أساسًا – إلى تأثيرات إضافية للجينات وتفوق من النوع الإضافى × الإضافى الذى يسهل تثبيته فى دورة واحدة من الانتخاب ويؤدى التخلص من تأثير السيادة، مع توفر كميات كافية من البذور من كل سلالة أحادية مضاعفة – تسمح بإجراء الاختبارات بمكررات – يؤدى ذلك إلى زيادة

درجة التوريث للصفات فى تلك العشائر. ولذا . فإنه بالمقارنة بأحجام العشائر الكبيرة نسبيًا التى تلزم زراعتها وتقييمها فى طرق التربية التقليدية، فإن عدد السلالات الأحادية المضاعفة التى يلزم زراعتها بهدف انتخاب الانعزالات المرغوب فيها يكون أقل فمثلاً . يكفى فى الأرز زراعة ١٥٠ سلالة أحادية مضاعفة بدلاً من ٤٠٠٠-٥٠٠٠ نبات جيل ثانى لأجل انتخاب التراكيب الوراثية المرغوب فيها (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢)

١٨ — زيادة فرص تحقيق التقدم عند التربية بالطفرات

إن من أهم مميزات النباتات الأحادية المضاعفة بالنسبة للمربى — كما أسلفنا — سرعة الوصول إلى الأصالة الوراثية، وسهولة الانتخاب للصفات المرغوب فيها نظرًا لانعدام الانعزالات الوراثية فى نسل تلك النباتات. وإذا ما اقترنت التربية بالطفرات مع إنتاج النباتات الأحادية المضاعفة، فإن ذلك قد يؤدى إلى عزل الطفرات المتنحية بكفاءة عالية فى كل من المزارع والنباتات التى يتجدد نموها منها؛ مما يؤدى إلى سرعة تثبيت الطفرات فى صورة أصيلة كذلك فإن غياب الكيميرا فى الطفرات المنتجة يزيد من أهمية تلك الوسيلة فى التربية بالطفرات.

وتستخدم فى إنتاج الطفرات فى مزارع الأنسجة أى من العوامل المطفرة التى تستخدم فى إنتاج الطفرات فى النباتات، مثل: أشعة إكس، وأشعة جاما، والمركبات EMS (أو ethyl methanesulphonate)، و BMS (أو n-butyl methanesulphonate)، و MNH (أو N-methyl-N-nitroso urea)

كذلك يمكن معاملة مزارع البروتوبلاست الأحادى بالعوامل المطفرة، مثل الأشعة فوق البنفسجية، وأشعة إكس، وأشعة جاما، و ENH (أو N-ethyl-N-nitroso urea)، و MNNG (أو N-methyl-N'-nitro-N-nitroso guanidine)، وهى معاملات نجحت فى إنتاج طفرات فى عدد من الأنواع النباتية، منها:

Datura innoxia	*Hyoscyamus muticans*
Nicotiana tabacum	*Nicotiana sylvestris*

إن تقنيات النباتات الأحادية المضاعفة يمكن أن تكون مفيدة — ليس فقط فى سرعة

التوصل إلى طفرات بحالة أصيلة – وإنما كذلك فى التوصل إلى تراكيب وراثية مرغوب فيها من تلقيحات بين الطفرات، فمن الحقائق المعروفة ظهور قوة هجين فى الجيل الأول الناتج من التلقيح بين طفرتين مختلفتين، حيث تأكد ذلك فى عديد من الأنواع المحصولية، منها الشعير، والذرة، ولفت الزيت، والأرز، والسمسم، والبرسيم، والطماطم ويمكن لقوة الهجين تلك أن تظهر فى تلقيحات بين طفرات من نفس الصنف، أو تلقيحات بين الطفرات والصنف الأصلى غير المطفر. ولقد ظهرت قوة هجين جوهرية إحصائيًا فى صفات مثل المحصول ومكوناته، وارتفاع النبات، ومساحة الأوراق، وحجم الأزهار، وتكوين الخلفات، ومحتوى البذور البروتينى، والكفاءة التمثيلية، وتراوحت قوة الهجين فى بعض الصفات الهامة من ٣٠٪ إلى أكثر من ١٠٠٪ بالزيادة عن الصنف الأصلى وحتى الطفرات التى تبدو غير جيدة من الناحية الزراعية فإنها يمكن أن تعطى هجنًا متميزة. تتفوق فى محصولها على الصنف الأصلى

وتوفر النباتات الأحادية المضاعفة وسيلة فعالة لتثبيت قوة الهجين حينما تعتمد تلك الخاصية على الفعل المكمل أو الإضافى للجينات المطفرة. حيث يمكن – حينئذ – انتخاب نباتات أحادية مضاعفة أفضل من أى من أبويها، أو مماثلة للجيل الأول الهجين فى قوة الهجين (عن Maluszynski وآخرين ١٩٩٦)

١٩ – سهولة إجراء الدراسات الوراثية على النباتات الأحادية المضاعفة:

يفضل استخدام العشائر الأحادية المضاعفة فى الدراسات الوراثية لسبب رئيسى. وهو انخفاض عدد التراكيب الوراثية فيها عما يكون عليه الحال فى عشائر الجيل الثانى أو الجيل الرجعى، مما يعنى نسب أبسط من الأشكال المظهرية والتراكيب الوراثية، وهى التى يمكن تمييزها بقدر أكبر من التأكد (جدول ٧–٧) كذلك فإن وجود عدد أقل من فئات التراكيب الوراثية فى عشائر النباتات الأحادية المضاعفة عما فى عشائر الجيل الثانى يعنى إمكان عزل التراكيب الوراثية النادرة والتعرف عليها باستعمال عشائر نباتية أصغر حجمًا (جدول ٧–٨) ولذا . يتوقع – مستقبلا – استخداما أوسع للسلالات الأحادية المضاعفة فى الدراسات الوراثية، خاصة بالنسبة للصفات التى يتحكم فيها عديد من الجينات المتنحية (عن Pauls ١٩٩٦)

جدول (٧-٧) نسب الأشكال المظهرية فى الجيل الثانى والعشائر الأحادية المضاعفة لصفة يتحكم فيها عدد (ن) من الجينات ذات التأثير التراكمى، مع افتراض أن كل آليل سائد يضيف قدرًا ثابتًا وإضافيًا إلى الصفة (عن Paulus ١٩٩٦).

عدد الجينات (ن)	الجيل الثانى	العشيرة الأحادية المضاعفة
١	١:٢:١	١:١
٢	١:٤:٦:٤:١	١ ٢ ١
٣	١:٦:١٥:٢٠:١٥:٦:١	١ ٣ ٣ ١
٤	١:٨:٢٨:٥٦:٧٠:٥٦:٢٨:٨:١	١ ٤ ٦ ٤ ١
عدد الأشكال المظهرية	$٣^{ن}$	ن + ١

جدول (٧-٨) نسبة التراكيب الوراثية الأصيلة المتحية فى عشيرة الجيل الثانى مقابل النسبة فى حالة النباتات الأحادية المضاعفة فى حالة عدد (ن) من الجينات التى تعزل انعزالاً حرًا (عن Paulus ١٩٩٦)

عدد الجينات المستعملة فى انعزالها (ن)	الأحادية المضاعفة	عشيرة الجيل الثانى
١	$^{١}/_{٢}$	$^{١}/_{٤}$
٢	$^{١}/_{٤}$	$^{١}/_{١٦}$
٣	$^{١}/_{٨}$	$^{١}/_{٦٤}$
٤	$^{١}/_{١٦}$	$^{١}/_{٢٥٦}$
٥	$^{١}/_{٣٢}$	$^{١}/_{١٠٢٤}$
٦	$^{١}/_{٦٤}$	$^{١}/_{٤٠٩٦}$
٧	$^{١}/_{١٢٨}$	$^{١}/_{١٦٣٨٤}$
٨	$^{١}/_{٢٥٦}$	$^{١}/_{٦٥٥٣٦}$
٩	$^{١}/_{٥١٢}$	$^{١}/_{٢٦٢١٤٤}$
١٠	$^{١}/_{١٠٢٤}$	$^{١}/_{١٠٤٨٥٧٦}$
ن	$^{١}/_{٢^{ن}}$	$^{١}/_{٣^{ن}٢}$

أصناف المحاصيل الزراعية التى طُوِّرت من خلال تربية النباتات الأحادية

● تتضمن قائمة المحاصيل الزراعية التى حدث فيها تقدم كبير فى مجال تقنيات زراعة المتوك وحبوب اللقاح، والتى أنتجت منها بالفعل أصنافًا جديدة محسنة بتلك التقنيات، ما يلى:

الأسبرجس	لفت الزيت *Brassica napus*
الكرنبيات *Brassica oleracea*	الفلفل
الشعير	التبغ
الأرز	الشوفان *Secale cereale*
البطاطس	القمح
الذرة	

● وتتضمن قائمة الأصناف الجديدة التى طورت من خلال مزارع المتوك، ما يلى (عن Bajaj ١٩٩٠، و Veilleux ١٩٩٤).

المحصول	الصنف	الدولة	سنة الإنتاج
الأسبرجس	Andreas	فرنسا	١٩٩٠
الذرة	Huayu 1	الصين	١٩٨٦
الأرز	Hua Yu I	الصين	١٩٧٦
	Hua Yu II	الصين	١٩٧٦
	Xin Xiu	الصين	١٩٧٦
	Late Keng 959	الصين	١٩٧٨
	Tung Hua 1,2, and 3	الصين	١٩٧٨
	Zhonghua 8 and 9	الصين	١٩٨١
	Hua Han Zao	الصين	١٩٨٢
	Huajian 7902	الصين	١٩٨٣
	Nanhua 5	الصين	١٩٨٣
	Noll	الصين	١٩٨٣
	Hua 03	الصين	١٩٨٩
	Guan 18	الصين	١٩٩٠
التبغ	Tan Yuh 1, 2, and 3	الصين	١٩٧٤
	NC 744	الولايات المتحدة	١٩٨٠
	KDH 926, 959, and 960	الولايات المتحدة	١٩٨٩
	NCBMR 42 and 90	الولايات المتحدة	١٩٩٠
القمح	Jinghua I	الصين	١٩٨٦
	Florin	فرنسا	١٩٨٧
	Anther Culture 28	الصين	١٩٩٠

● ونقدم – فيما يلى – أمثلة على أصناف محصولية محسنة أنتجت بمضاعفة نباتات أحادية حُصل عليها بطرق مختلفة (عن Khush & Virmani ١٩٩٦):

أولاً أصناف الشعير

Mingo	Rodeo
Craig	Gwylan
Etienne	Winthrop
TBR 579-5	TBC 555-1

ثانيًا. أصناف أنتجت بتقنية مزارع المتوك:

١ – أصناف الأرز:

Huai Uii I	Huai Uii II
Xin Xiu-1	Tan Feng No. 1
Ou – Hwa No. 1	Qu – Hwa No. 2
Huayu-1	Huayu-2
Zhong Hua 8	Zong Hua 9
Huajian 7902	Huahanzhao
Nanhua 5	Nanhua 11
Qianhua No. 1	Yingyou No. 2
Hwaseongbyeo	Huayu 15
Zhe Keng 66	Hwajinbyeo
Suweon	Hwacheongbyeo
Shan Hua 369	Aya
Shirayukihime	Hwayeongbyeo
Hirohikari	Hirohonami

٢ – أصناف التبغ

Tan Yuh No. 1	F 211
Tanyu – 2	Tanyu – 3

Lynd	Hai Hua - 19
Hai Hua – 29	Hai Hua - 30
Hai Hua – 31	

٣ – أصناف القمح:

Jinghua No. 1	Florin
Huapei – 1	Lunghua – 1
Delibab	GK Ambitus
Jingdan 2288	Zing Hua 1
Zing Hua 3	Zing Hua 5

● تلعب مزارع المتوك وحبوب اللقاح – حاليًا – دورًا كبيرًا فى إنتاج أصناف الأسبرجس المذكرة (التى تكون جميع نباتاتها مذكرة)؛ فبسبب حالة انفصال الجنس فى هذا المحصول .. يستحيل إجراء التلقيح الذاتى سوى فى النباتات الـ andromonoecious (التى تحمل أزهارًا مذكرة وأزهارًا كاملة) التى تظهر أحيانًا بنسبة منخفضة جدًّا. ويعتقد بأن حالة الجنس فى الأسبرجس قد يتحكم فيها جين واحد أو مجموعة مركبة من الجينات التى تُحمل على كروموسوم واحد، مع كون النباتات المؤنثة متماثلة homomorphic والنباتات المذكرة غير متماثلة heteromorphic فى هذا الكروموسوم. وعلى الرغم من توفر النباتات الأحادية التى تنتج بكريًّا بصورة طبيعية منذ سنوات كثيرة، فإنها كانت غالبًا نباتات مؤنثة. ولقد سمحت مزارع حبوب اللقاح بإنتاج نباتات مذكرة فائقة أصيلة يمكن أن تعطى نسلاً مذكرًا فقط عند تلقيحها مع النباتات المؤنثة. ولقد طورت فى فرنسا عديد من السلالات من خلال التكوين البكرى، ومزارع المتوك وقيمت الهجن بينها لعدة سنوات فى برنامج للتربية أفرز صنفًا جديدًا مذكرًا أطلق عليه اسم Andreas، وهو الذى استخدم فى إنتاجه سلالة مؤنثة أصيلة نتجت من مضاعفة كروموسومات سلالة أحادية نشأت بكريًّا، وسلالة مذكرة أصيلة (فائقة الذكورة) نتجت من مضاعفة كروموسومات سلالة أحادية نشأت من مزارع المتوك (عن Veilleux ١٩٩٤).

مصادر إضافية

الموضوع	المرجع
مزارع حبوب اللقاح.	Nitsch (١٩٧٥)
مزارع المتوك وحبوب اللقاح.	Sink & Padmanabham (١٩٧٧)
مزارع حبوب اللقاح.	Sunderland (١٩٨٠)
استعمال النباتات الأحادية فى تربية النبات.	Chu (١٩٨٢)
مزارع الخلايا الأحادية.	Dunwell (١٩٨٥)
استخدامات النباتات الأحادية فى تربية النبات.	Khush & Virmani (١٩٩٦)
أهمية النباتات الأحادية فى التربية بالطفرات.	Maluszynski وآخرون (١٩٩٦)
إنتاج النباتات الأحادية بشتى الطرق.	Jain وآخرون (١٩٩٦)
تقنية مزارع الخلايا الجرثومية الصغيرة أو الأبواغ الدقيقة.	Dunwell (١٩٩٦)
تقنية إنتاج النباتات الأحادية بمعاملة حبوب اللقاح بالإشعاع قبل استخدامها فى التلقيح.	Estili & Ficcadenti (١٩٩٦)
تقنية مزارع المبايض والبويضات والعوامل المؤثرة فيها	Keller & Korzum (١٩٩٦)
تقنية تلقيح مبايض الأزهار والإخصاب فى المزارع.	Bhojwani & Raste (١٩٩٦)
تقنية مزارع المتوك والعوامل المؤثرة فيها	Sopory & Munshi (١٩٩٦)
المزارع الأحادية بصورة عامة	Read (٢٠٠٥)