الفصل الثانى عشر

التضاعف الذاتى وأهميته

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

أحادية المجموعة الكروموسومية

تعريف الحالات الأحادية المجموعة الكروموسومية

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

خصائص النباتات الأحادية

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

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

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

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

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

طرق إنتاج النباتات الأحادية المجموعة الكروموسومية

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

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

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

معاملات خاصة لحبوب اللقاح

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

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

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

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

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

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

إنتاج نباتات أحادية من مزارع حبوب اللقاح والبويضات

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

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

استبعاد كروموسومات أحد النوعين فى الهجن النوعية

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

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

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

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

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

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

أوجه الاستفادة من النباتات الأحادية

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

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

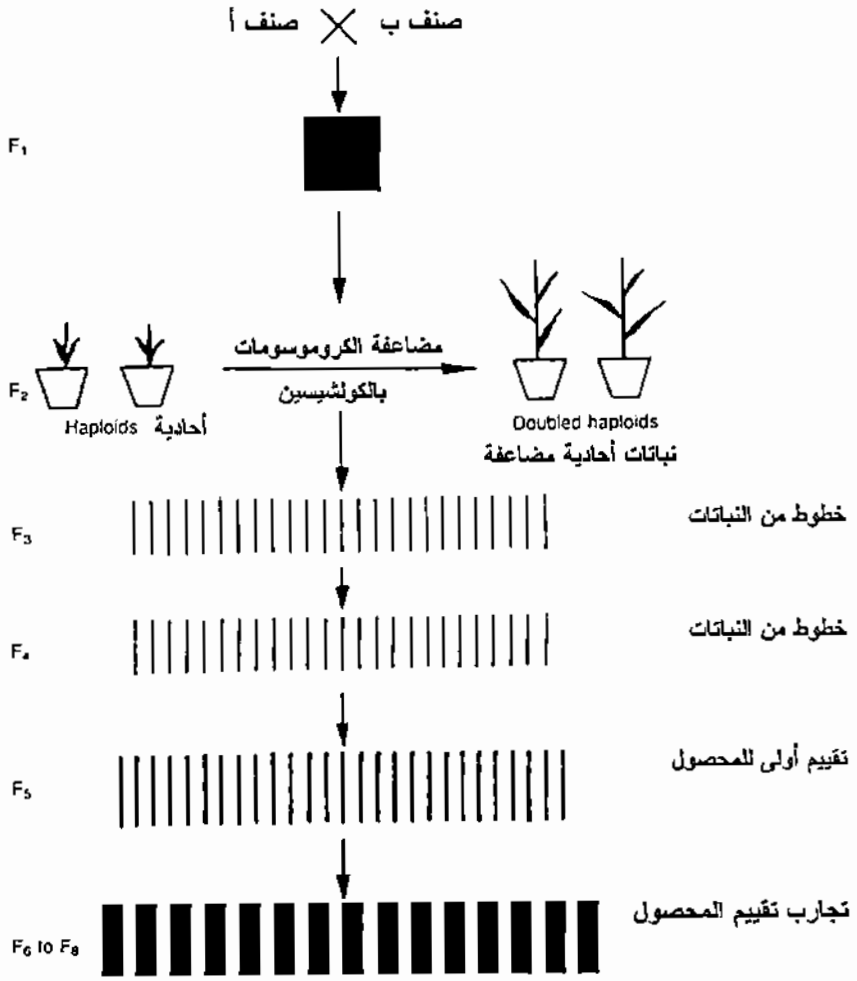
تؤدى مضاعفة النباتات الأحادية بالكولشيسين إلى إنتاج نباتات ثنائية أصيلة، قد يمكن الاستفادة منها فى إنتاج الهجن الفردية والزوجية، دونما حاجة لعمليات التربية الداخلية، التى تستغرق عدة سنوات، وقد تستعمل كأصناف جديدة محسنة، كبعض أصناف الشعير، و التبغ، والأرز، والقمح، التى أنتجت بمضاعفة نباتات أحادية.

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

متعددة المجموعة الكروموسومية ذاتيًا

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

وتأخذ الدرجات المختلفة من التضاعف أسماء مختلفة كما يلى:

عدد مضاعفات الهيئة الكروموسومية (س)	الاسم	
٣س	ثلاثية المجموعة الكروموسومية	Triploids
٤س	رباعية المجموعة الكروموسومية	Tetraploids
٥س	خماسية المجموعة الكروموسومية	Pentaploids
٦س	سداسية المجموعة الكروموسومية	Hexaploids
٧س	سباعية المجموعة الكروموسومية	Heptaploids
٨س	ثمانية المجموعة الكروموسومية	Octaploids

انتشار ظاهرة التضاعف الذاتى

توجد حالات التضاعف الذاتى فى كثير من النباتات، خاصة تلك التى تتكاثر خضريًا، لأنها غالبًا ما تكون على درجة عالية من العقم.

ومن بين النباتات الاقتصادية الهامة المتضاعفة ذاتيًا كل من: البطاطس، والبن، والبرسيم الحجازى، والفول السودانى وجميعها رباعية التضاعف، والبطاطا وهى سداسية التضاعف.

ويقدر أن نحو ٣/١ إلى ٢/١ أنواع النباتات مغطاة البذور متضاعفة، وتختلف نسبة تلك الأنواع باختلاف العائلات النباتية، وهى تصل إلى نحو ٢٣٪ فى البقوليات، وحوالى ٧٠٪ فى الأنواع البرية من النجيليات؛ إلا أن معظم النباتات المتضاعفة طبيعيًا تعد هجينية التضاعف (عن Poehlman & Sleper ١٩٩٥).

ميكانيكية ظهور النباتات المتضاعفة ذاتيًا فى الطبيعة

غالبًا ما تتكون النباتات المتضاعفة ذاتيًا فى الطبيعة باتحاد جاميطات غير مختزلة؛ وهى التى تتكون - طبيعيًا - بنسب منخفضة.

وتتكون حبوب اللقاح (وكذلك البويضات) الثنائية العدد الكروموسومى (٢ن) - بصورة طبيعية - بسبب حدوث اختلافات فى الانقسام الميوزى. وعلى الرغم من أهمية تلك الجاميطات الثنائية فى إنتاج نباتات متضاعفة إلا أنها تمر - عادة - دون

اكتشافها؛ وبذا .. لا يُستفاد منها، علمًا بأن النباتات المتضاعفة التى تنتج من اتحاط جاميطتين ثنائيتين تكون أفضل وأقوى نموًّا عن تلك التى تنتج عن مضاعفة العدد الكروموسومى بالكولشيسين بالنظر إلى أن التضاعف بالطريقة الأخيرة ينتج عنه مزيدًا من الأصالة الوراثية، وهو أمر يؤدى إلى حدوث تدهور فى قوة النمو.

ولقد أمكن التوصل إلى طريقة سهلة لتمييز وفصل حبوب اللقاح غير المختزلة العدد الكروموسومى فى البطاطس اعتمادًا على سرعة ترسيبها (velocity sedimentation) عندما تكون فى مخلوط من حبوب اللقاح؛ نظرًا لأنها تكون أكبر حجمًا وأكبر وزنًا (Simon & Sanford، ١٩٩٠).

السلوك السيتولوجى للنباتات المتضاعفة ذاتيًّا

يتكون فى أثناء الانقسام الاختزالى فى النباتات الذاتية التضاعف Autoploids وحدات كروموسومية متعددة الكروموسوم multivalents، بدلاً من الوحدات الثنائية الكروموسوم bivalents، التى تتكون فى النباتات الثنائية المجموعة الكروموسومية؛ فنجد فى النباتات الثلاثية المجموعة الكروموسومية أن معظم الكروموسومات تتقارن فى وحدات ثلاثية الكروموسوم trivalents، مع تكون بعض الوحدات الأحادية الكروموسوم univalents، وبعض الوحدات الثنائية الكروموسوم، ونجد فى النباتات الرباعية المجموعة الكروموسومية أن معظم الكروموسومات تظهر أثناء الانقسام الاختزالى على شكل وحدات رباعية الكروموسوم quadrivalents، أو ثنائية الكروموسوم، مع تكون بعض الوحدات الأحادية والثلاثية الكروموسوم ... إلخ. ويكون التقارن بين الكروموسومات عشوائيًّا تمامًا Randon Paring مادام التضاعف الكروموسومى من النوع الذاتى، وكانت الكروموسومات متماثلة تمامًا Homologus. هذا .. إلا أنه قد تظهر درجات مختلفة من التقارن التفاضلى Preferential Paring، أو الاختيارى Selective Pairing فى حالة الأفراد المتعددة المجموعة الكروموسومية الشبيهة بالثنائية amphidiploids التى تكون فيها كروموسومات الأبوين متشابهة جزئيًّا Homoelogus، كما سيتضح عند بيان السلوك السيتولوجى للنباتات الهجينية التضاعف.

وتتلخص عملية الاقتران الكروموسومى فى الوحدات الرباعية الكروموسوم (فى الأفراد

الرباعية المجموعة الكروموسومية) فيما يلي: تظهر الكروموسومات الأربعة المتماثلة في الدور القلادى، ثم تتصل في أزواج في الدور التزاوجي. يبدأ الاتصال عند عدة مواقع على امتداد الكروموسومات؛ وبذلك .. يقترن كل كروموسوم من الكروموسومات الأربعة بكروموسوم آخر منها عند مواقع مختلفة. ومع نهاية الدور الضام .. يكون الكروموسوم الواحد قد اقترن مع كروموسومات مختلفة (شكل ١٢-٢)، وانقسم كل كروموسوم منها إلى كروماتيدتين، وتكون قد تكونت الكيازمات chiasmata نتيجة للعبور بين الكروموسومات المتقارنة. ويؤدى الاختلاف في عدد ومواقع الكيازمات إلى ظهور عدة أشكال مميزة (مثل الوحدات الثنائية الكروموسوم، والسلاسل، والحلقات) في الدور الانفراجي.

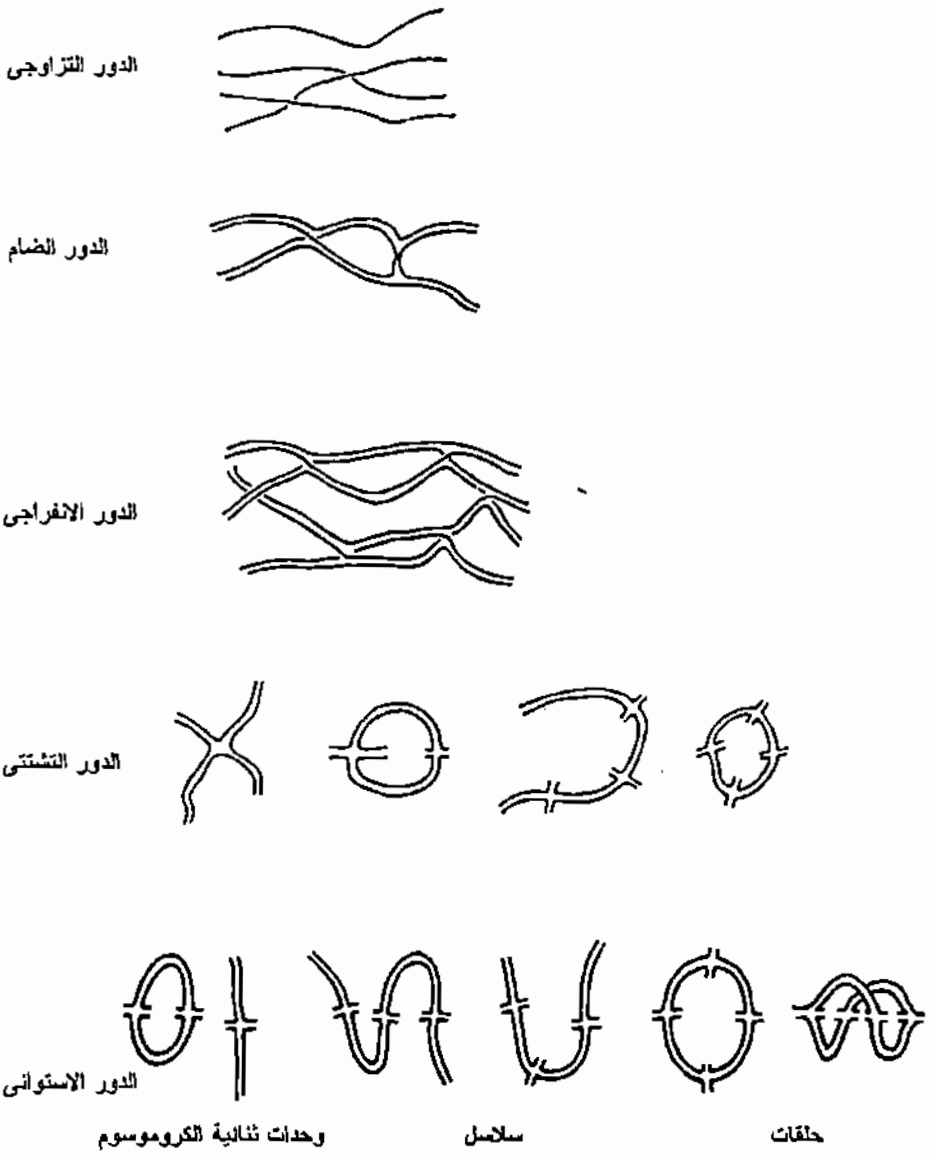
وبعد أن تتعلق الوحدات الرباعية الكروموسوم بخيوط المغزل في دور الوضع المتوسط الأول .. فإن الانفصال قد يحدث بحيث تذهب الكروموسومات المتجاورة (في أى من الأشكال المميزة السابقة) إلى نفس القطب، أو إلى أقطاب مختلفة. ولكن قد تتكون وحدتان ثنائيتا الكروموسوم إن لم تتكون كيازمتان بين أزواج الكروماتيدات؛ وحينئذ .. يتحتم على كروموسومى كل وحدة ثنائية الكروموسوم أن يتوزعا على قطبين مختلفين في الدور الانفصالى الأول.

وتجدر الإشارة إلى أن بعض الأنواع المعروفة الرباعية المجموعة الكروموسومية (مثل البطاطس والبرسيم الحجازى) تظهر بها أحيانًا درجة من التقارن الاختيارى Selective Pairing. ويرجع ذلك إلى تراكم تغيرات طفيفة حدثت في الكروموسومات منذ فترات زمنية بعيدة، برغم أنها كانت في الأصل تامة التماثل. وبعد التقارن الاختيارى في مثل هذه النباتات الرباعية المجموعة الكروموسومية انحرافًا نحو العودة إلى الحالة الثنائية diploidization.

السلوك الوراثى للنباتات المتضاعفة ذاتيًا

يختلف السلوك الوراثى للنباتات الذاتية التضاعف عن النباتات الثنائية، بسبب احتمال وجود أكثر من آليلين لكل جين، ولتكوين وحدات متعددة الكروموسوم. وحتى

إذا وجد آليلان فقط للجين .. فإن عدد التراكيب الوراثية المكنة فى نبات رباعى المجموعة الكروموسومية (وهى درجة منخفضة نسبيًا من التضاعف) يصبح خمسة مقارنة بثلاثة فقط فى النباتات الثنائية المجموعة الكروموسومية.



شكل (١٢-٢): أشكال الوحدات الرباعية الكروموسوم خلال الانقسام الميوزى الأول (يراجع المتن للتفاصيل).

ويطلق على التراكيب الوراثية الخمسة الممكنة في حالة وجود أليلين، أحدهما سائد (A)، والآخر مُتنحٍ (a) الأسماء التالية:

المصطلح	التركيب الوراثي
Nulliplex	aaaa
Simplex	Aaaa
Duplex	AAaa
Triplex	AAAa
Quadriplex	AAAA

يلاحظ أن نسبة الأليلات السائدة إلى المتنحية تختلف في النباتات الـ triplex والـ duplex، والـ simplex عن النسب المعهودة في النباتات الثنائية المجموعة الكروموسومية، إلا أن الشكل الظاهري للفرد الخليط يتوقف على درجة السيادة بين الأليلات؛ ففي حالة السيادة التامة .. لا يظهر سوى نوعين من الأشكال المظهرية، بينما يظهر عدد أكبر من الأشكال المظهرية في حالات السيادة غير التامة. ويصل عدد الأشكال المظهرية إلى خمسة عند غياب السيادة، وفي حالات التأثير الإضافي للجين.

ويمكن تمييز التراكيب الوراثية المكنة في نسل كل حالة إذا ما وجدت أربعة أليلات عند الموقع الجيني المعني، مثل: a، و b، و c، و d .. وقد رمز إليها جميعًا بحروف صغيرة لتجنب أي دلالة أو إيحاء بالسيادة. ففي هذه الحالة يحتمل وجود أربعة تراكيب وراثية مختلفة للـ nulliplex، هي aaaa، و bbbb، و cccc، و dddd، بينما لا يتوفر سوى qudriplex واحد هو abcd. وبالمقارنة يمكن تواجد أعداد كبيرة من التوافقات المختلفة للأليلات في كل من الـ simplex، والـ duplix، و triplex.

تعرف التراكيب الوراثية التي تحتوي على ثلاثة أليلات مختلفة بأنها trigenic (وجميعها triplexes)، بينما يعرف التركيب الوراثي الذي يحتوي على أربعة أليلات مختلفة – الـ qudriplex – بأنه tetragenic.

وتكون الجاميطات التي ينتجها النبات الرباعي التضاعف ذاتيًا أحادية مزدوجة العدد الكروموسومي dihaploid (2x). ويتباين عدد الأنواع المختلفة من الجاميطات التي

يمكن أن ينتجها كل نبات من نوع واحد فقط فى الـ nulliplexes إلى ستة أنواع فى الأفراد الـ tetragonics، كما يلى:

التركيب الوراثى	أنواع الجاميطات الممكنة
(aaaa) Nulliplex	aa
(aaab) Simplex	aa + ab
(aabb) Duplex	aa + 4ab + bb
(aabc) Trigenic	aa + 2ab + 2ac + bc
(abcd) tetragenic	aa + ac + ad + bc + bd + cd

وعند إجراء التلقيح الذاتى لأى نبات رباعى التضاعف ذاتيًا، فإن التراكيب الوراثية التى ينتجها تكون عبارة عن مربع أنواع الجاميطات الخاصة به، كما يلى (عن Fehr ١٩٨٧):

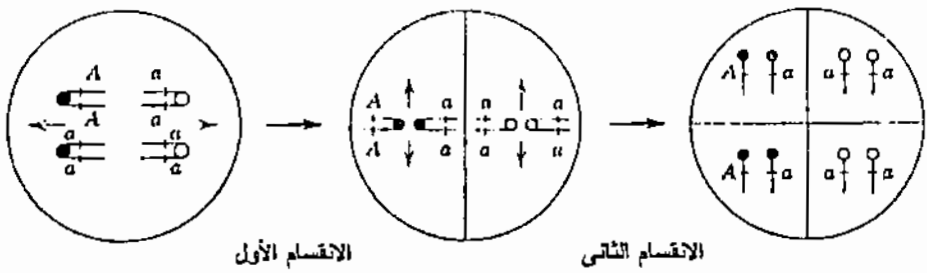
النبات الملقح ذاتيا	مربع الجاميطات	التراكيب الوراثية المنتجة
aaaa	$(aa)^2$	جميعها nulliplex
aaab	$(aa+ab)^2$	nulliplex $^1/_4$ + simplex $^1/_2$ + duplex $^1/_4$
aabb	$(aa+4ab+bb)^2$	nulliplex $^1/_{16}$ + simplex $^4/_8$ + duplex $^1/_2$
aabc	$(aa+2ab+2ac+bc)^2$	+ trigenic $^2/_4$ + duplex $^1/_4$ + trigenic $^1/_2$ duplex $^1/_2$
abcd	$(ab+ac+ad+bc+bd+cd)^2$	duplex $^1/_2$ + trigenic $^2/_2$ + tetragenic $^1/_2$

هذا .. ويتوقف نسب التراكيب الوراثية التى يتوقع ظهورها فى نسل كل حالة على كل من التركيب الوراثى لجيل الآباء، وعلى مدى كون انعزال الجينات يحدث فى أثناء الانقسام الاختزالى على مستوى التوزيع الحر للكروموسومات، أم للكروماتيدات. وسنفترض – للتبسيط – أن التركيب الوراثى للآباء simplex أى Aaaa، ثم نستعرض النسب المتوقعة فى كل من حالتى التوزيع الحر.

أولاً: التوزيع الحر للكروموسومات

يحدث التوزيع الحر للكروموسومات Random Chromosome Assortment عندما تفشل الكروموسومات فى تكوين وحدة رباعية الكروموسوم، أو عندما يكون الجين

قريبًا بدرجة كبيرة من موضع السنترومير؛ فنجد أن كل كروموسوم يحمل فى أثناء الانقسام الاختزالى آليلين متشابهين على كروماتيدتية، ويذهب الآليلان – معًا – إلى أحد أقطاب الخلية فى أثناء الانقسام الاختزالى الأول؛ لأنهما يكونان متصلين بنفس السنترومير، ثم يتوزع الآليلان إلى أقطاب مختلفة فى الانقسام الاختزالى الثانى؛ وعليه .. فلا يمكن أن يتواجد الآليلان – معًا – فى جاميطة واحدة بعد الانقسام (شكل ١٢–٣). ولتوضيح ذلك .. نفترض أن الآليلات التى يحملها النبات الـ simplex (وهى آليل واحد سائد A، وثلاثة متنحية a) تتضاعف عند تكوين الكروماتيدات (أثناء الانقسام الاختزالى)؛ لتصبح (A_1، و A_2)، و (a_3، و a_4)، و (a_5، و a_6)، و (a_7، و a_8)، علمًا بأن كل زوج منها (داخل قوسين) يمثل آليلين متماثلين على كروماتيدين متماثلتين لكروموسوم واحد.



شكل (١٢–٣): انعزال الجينات من وحدة رباعية الكروموسوم **quadrivalent** لنبات **simplex** (Aaaa). يعتمد الانعزال على التوزيع الحر للكروموسومات، لوجود الجين قريبًا جدًا من السنترومير وانعدام العبور فى هذه المنطقة.

ونظرًا لأن كل زوج من الآليلات ينتهى به الأمر فى جاميطات مختلفة؛ لذا .. فإن كلاً من A_1، و A_2 يكون له نفس الفرصة لأن ينعزل مع أى من a_3، أو a_4، أو a_5، أو a_6، أو a_7، أو a_8، ولكنهما – أى A_1، و A_2 – لا يمكن أن يتواجدا معًا فى جاميطة واحدة .. وهكذا الأمر بالنسبة لأزواج الآليلات الأخرى. وتكون نتيجة ذلك أن تنعزل الجينات فى الجاميطات – على أساس التوزيع الحر للكروموسومات – كما هو مبين فى شكل (١٢–٤). ويتبين من الشكل أنه يتكون نوعان من الجاميطات، هما: Aa، و aa بنسبة ١:١. ويمكن بتحليل مماثل إثبات أن النبات الـ duplex (AAaa) ينتج ثلاثة

أنواع مـن الجاميطات هـى AA، و Aa، و aa بنسبة ١ : ٤ : ١، وأن triplex (AAAa) ينتج نوعين من الجاميطات هما AA، و Aa بنسبة ١ : ١.

	A_1	A_2	a_3	a_4	a_5	a_6	a_7	a_8
A_1			A_1a_3	A_1a_4	A_1a_5	A_1a_6	A_1a_7	A_1a_8
A_2			A_2a_3	A_2a_4	A_2a_5	A_2a_6	A_2a_7	A_2a_8
a_3					A_3a_5	A_3a_6	A_3a_7	A_3a_8
a_4					A_4a_5	A_4a_6	A_4a_7	A_4a_8
a_5							A_5a_7	A_5a_8
a_6							A_6a_7	A_6a_8
a_7								
a_8								

شكل (١٢-٤): تكوين الجاميطات فى نبات simplex فى حالة التوزيع الحر للكروموسومات.

وتحسب نسب التراكيب الوراثية المتوقعة بعد ذلك كما يلى:

١ – فى حالة الـ Simplex:

		الجاميطات المذكرة	
		1 Aa	1 aa
الجاميطات المؤنثة	1 Aa	1 AAaa	1 Aaaa
	1 aa	1 Aaaa	1 aaaa

أى يتوقع أن تكون التراكيب الوراثيـة ونسبها كمـا يلـى : ١ AAaa : ٢ Aaaa : ١ aaaa، وتكون الأشكال المظهرية المتوقعة فى حالة السيادة التامة هى ٣ سائد : ١ متنح.

٢ – فى حالة الـ duplex:

		الجاميطات المذكرة		
		1 AA	4 Aa	1 aa
الجاميطات المؤنثة	1 AA	1 AAAA	4 AAAa	1 AAaa
	4 Aa	4 AAAa	16 AAaa	4 Aaaa
	1 aa	1 AAaa	4 Aaaa	1 aaaa

أى يتوقع أن تكون التراكيب الوراثية ونسبها كما يلى: ١ AAAA :٨ AAAa :١٨ AAaa :٨ Aaaa :١ aaaa. وتكون الأشكال المظهرية المتوقعة فى حالة السيادة التامة هى ٣٥ سائد: ١ متنحٍ.

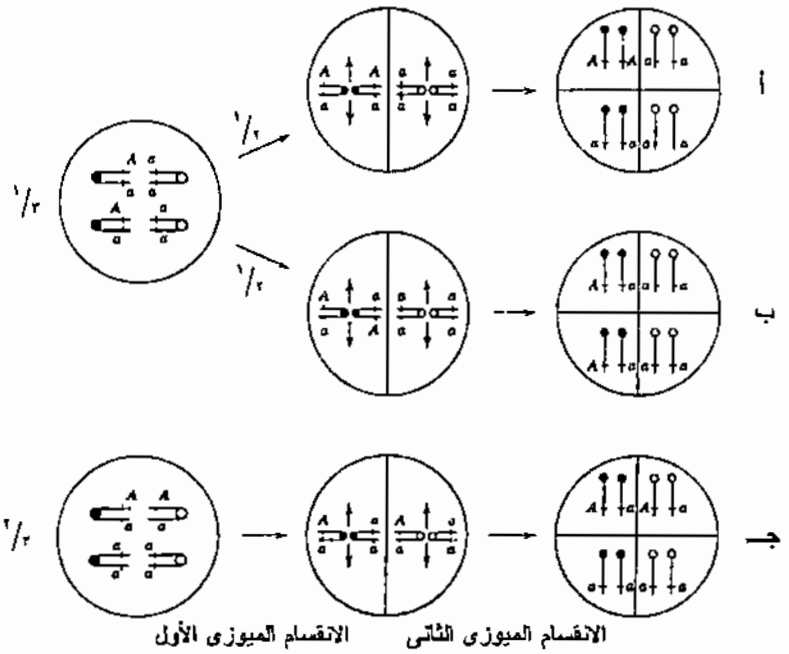
٣ – فى حالة triplex:

	الجاميطات المذكرة	
	1 AA	1 Aa
الجاميطات المؤنثة 1 AA	1 AAAA	1 AAAa
1 Aa	1 AAAa	1 AAaa

أى يتوقع أن تكون التراكيب الوراثية ونسبها كما يلى: ١ AAAA :٢ AAAa :١ AAaa. وتكون جميع الأشكال المظهرية سائدة فى حالة السيادة التامة.

ثانياً: التوزيع الحر للكروماتيدات

إذا تكونت وحدات رباعية الكروموسوم مع وجود الجينات بعيدة عن السنترومير بدرجة تسمح بحدوث عبور بين موقع الجين والسنترومير (حالة التوزيع الحر للكروماتيدات Random Chromatid Assortment .. فإن ذلك يعطى فرصة متكافئة لأن يتواجد أى آليل مع أى آليل آخر، بما فى ذلك أزواج الآليلات التى توجد على الكروماتيدات الشقيقة (شكل ١٢–٥). وتتكون الجاميطات على النحو المبين فى شكل (١٢–٦) من كل نبات simplex (Aaaa)، بفرض حدوث عبور بنسبة ٥٠٪، علمًا بأن كل زوج من الآليلات (A_1، و A_2)، و (a_3، و a_4)، و (a_5، و a_6)، و (a_7، و a_8) – داخل قوسين – يمثل آليلين متماثلين على كروماتيتين متماثلتين لكروموسوم واحد. ويتبين من الشكل أنه يتكون ثلاثة أنواع من الجاميطات هى AA، و Aa، و aa بنسبة ١ :١٢ :١٥. ويمكن بتحليل مماثل إثبات أن النبات الـ duplex (AAaa) ينتج الجاميطات AA، و Aa، و aa بنسبة ٣ :٨ :٣، وأن الـ triplex (AAAa) ينتج الجاميطات AA، و Aa، و aa بنسبة ١٥ :١٢ :١.



شكل (١٢-٥): تكوين الجاميطات من وحدة رباعية الكروموسوم لنبات Simplex (Aaaa) يحدث فيه عبور بين الكروموسوم الحامل للآليل السائد وكروموسوم آخر. ينتج من هذا العبور كروموسومين An وآخرين aa. ينعزل الكروموسومان An إلى نفس القطب فى الانقسام الاختزالى الأول فى ثلث الحالات (الانعزال العلوى)، وإلى أقطاب مختلفة فى ثلثى الحالات (الانعزال السفلى). وعندما ينتهى بهم الأمر فى القطب نفسه فى كل من الانقسامين الاختزالين الأول والثانى (الحالة أ) .. فإن ذلك يعنى تكون جاميطات أصيلة. أما تكوين الجاميطات من الوحدات الرباعية الكروموسوم للنباتات الـ duplex فيكون أكثر تعقيدًا؛ بسبب كثرة التوافيق الممكنة.

	A_1	A_2	a_3	a_4	a_5	a_6	a_7	a_8
A_1		A_1A_2	A_1a_3	A_1a_4	A_1a_5	A_1a_6	A_1a_7	A_1a_8
A_2			A_2a_3	A_2a_4	A_2a_5	A_2a_6	A_2a_7	A_2a_8
a_3				a_3a_4	a_3a_5	a_3a_6	a_3a_7	a_3a_8
a_4					a_4a_5	a_4a_6	a_4a_7	a_4a_8
a_5						a_5a_6	a_5a_7	a_5a_8
a_6							a_6a_7	a_6a_8
a_7								a_7a_8
a_8								

شكل (١٢-٦): التركيب الوراثى للجاميطات التى يكونها نبات Simplex (Aaaa) على أساس التوزيع الحر الكروماتيدات (يراجع المتن للتفاصيل).

وتحسب نسبة التراكيب الوراثية المتوقعة بعد ذلك كما يلي،

١ – في حالة الـ simplex:

		الجاميطات المذكرة		
		1 AA	12 Aa	15 aa
الجاميطات المؤنثة	1 AA	1 AAAA	12 AAAa	15 AAaa
	12 Aa	12 AAAa	144 AAaa	180 Aaaa
	15 aa	15 AAaa	180 Aaaa	225 aaaa

أى يتوقع أن تكون التراكيب الوراثية ونسبها كما يلى:

quadriplex	AAAA	بنسبة ١
triplex	AAAa	بنسبة ٢٤
duplex	AAaa	بنسبة ١٧٤
simplex	Aaaa	بنسبة ٣٦٠
nulliplex	aaaa	بنسبة ٢٢٥

وتكون الأشكال المظهرية المتوقعة فى حالة السيادة التامة هى ٥٥٩ سائدًا: ٢٢٥ متنحيًا، أو حوالى ٢,٤٨ : ١.

٢ – فى حالة الـ duplex:

		الجاميطات المذكرة		
		3 AA	8 Aa	3 aa
الجاميطات المؤنثة	3 AA	9 AAAA	24 AAAa	9 AAaa
	8 Aa	24 AAAa	64 AAaa	24 Aaaa
	3 aa	9 AAaa	24 Aaaa	9 aaaa

أى يتوقع أن تكون التراكيب الوراثية ونسبها كما يلى:

quadriplex	AAAA	بنسبة ٩
triplex	AAAa	بنسبة ٤٨
duplex	AAaa	بنسبة ٨٢
simplex	Aaaa	بنسبة ٤٨
nulliplex	aaaa	بنسبة ٩

وتكون الأشكال المظهرية المتوقعة فى حالة السيادة التامة هى ١٧٨ سائدًا: ٩ متنحيًا، أو حوالى ٢١:١.

٢ – فى حالة الـ triplex:

		الجاميطات المذكرة		
		15 AA	12 Aa	1 aa
الجاميطات المؤنثة	15 AA	225 AAAA	180 AAAa	15 AAaa
	12 Aa	180 AAAa	144 AAaa	12 Aaaa
	1 aa	15 AAaa	12 Aaaa	1 aaaa

أى يتوقع أن تكون التراكيب الوراثية ونسبها كما يلى:

quadriplex	AAAA	بنسبة ٢٢٥
triplex	AAAa	بنسبة ٣٦٠
duplex	AAaa	بنسبة ١٧٤
simplex	Aaaa	بنسبة ٢٤
nulliplex	aaaa	بنسبة ١

وتكون الأشكال المظهرية المتوقعة فى حالة السيادة التامة هى ٧٨٣:١.

ويبين جدول (١٢–١) ملخصًا لانعزالات الأشكال المظهرية المتوقعة فى حالات التزاوجات المختلفة لنباتات رباعية المجموعة الكروموسومية مع افتراض السيادة التامة (عن Allard ١٩٦٤). ويتبين من الجدول استحالة تمييز النبات الـ quadriplex عن النبات الـ triplex على أساس اختبار النسل؛ لأن جميع نباتات النسل تحمل الصفة السائدة فى كل منهما، ولا يفيد انعزال النباتات الـ triplex فى حالة التوزيع الحر للكروماتيدات إلى ٧٨٣ سائدًا: ١ متنحٍ؛ لأن نسبة النباتات المتنحية تكون منخفضة جدًا إلى درجة يصعب معها ظهور واكتشاف هذه النباتات فى النسل.

وتجدر الإشارة إلى أن الانعزالات المبينة فى جدول (١٢–١) هى لحالتى التوزيع الحر للكروموسومات (حينما لا تتكون وحدات رباعية الكروموسوم نهائيًا، أو حينما تكون الجينات قريبة جدًا من السنترومير إلى درجة لا يحدث معها عبور بين موقع الجين والسنترومير)، والتوزيع الحر للكروماتيدات (حينما تكون الجينات بعيدة عن

السنترومير بقدر يسمح بحدوث عبور تام بين موقع الجين والسنترومير)، إلا أنه يتعين – حتمًا – وجود حالات تتكون فيها وحدات رباعية الكروموسوم بنسب مختلفة، أو لا يكون فيها ارتباط الجين بالسنترومير كاملاً، وهى حالات يكون فيها الانعزال – دائمًا – وسطًا بين الحالات السابقة.

جدول (١٢–١): ملخص لانعزالات الأشكال المظهرية المتوقعة فى حالات التزاوجات المختلفة لنبات رباعى المجموعة الكروموسومية، مع افتراض السيادة التامة.

التزاوج	انعزال الأشكال المظهرية (سائد : متنح) على أساس	
	التوزيع الحر للكروموسومات	التوزيع الحر للكروماتيدات
AAAA ذاتى	كلها سائدة	كلها سائدة
AAAn ذاتى	كلها سائدة	١:٧٨٣
AAaa ذاتى	١:٣٥	١:٢٠,٨
Aaaa ذاتى	١:٣	١:٢,٥
aaaa ذاتى	كلها متنحية	كلها متنحية
AAaa × AAAa	كلها سائدة	١:١٣٠
Aaaa × AAAa	كلها سائدة	١:٥١,٣
aaaa × AAAa	كلها سائدة	١:٢٧
Aaaa × AAaa	١:١١	١:٧,٧
aaaa × AAaa	١:٥	١:٣,٧
aaaa × Aaaa	١:١	١:٠,٨٧

الأهمية النسبية للتربية بالتضاعف الذاتى

أدى اكتشاف الكولشيسين Colchicine (مركب كيميائى يستخرج من أحد النباتات، ويستعمل فى مضاعفة أعداد الكروموسومات فى النباتات) وسهولة استخدامه فى مضاعفة كروموسومات عديد من النباتات .. أدى اكتشافه فى عام ١٩٣٧ إلى اتجاه العلماء نحو مضاعفة كروموسومات عدد كبير من الأنواع النباتية؛ ظنًا منهم أن ذلك كفيل بإحداث تقدم سريع فى تحسين المحاصيل الزراعية، خاصة أن بعضًا من أهم

النباتات الاقتصادية – مثل القمح، والقطن، والبطاطس – هى نباتات متضاعفة. ومما ساعد على تقوية هذا الاتجاه أن إحداث التضاعف صناعيًّا كان مصاحبًا – غالبًا – بزيادة فى حجم الأعضاء النباتية، وهو ما يتوقع معه الحصول على نباتات كبيرة الحجم غزيرة المحصول. إلا أن فريقًا آخر من العلماء كان أقل تفاؤلاً، استنادًا إلى أن الإنسان لا يمكنه أن ينجز فى أعوام قليلة ما لم يتحقق فى الطبيعة خلال آلاف السنين، خاصة أن فرصة حدوث التضاعف – طبيعيًّا – متوفرة دائمًا بالنسبة لجميع الأنواع النباتية. وقد تبين أن هذا الفريق كان أكثر واقعية؛ لأن معظم النباتات التى ضوعفت صناعيًّا كانت ضعيفة النمو، وصغيرة الحجم، وغير ثابتة وراثيًّا، وعقيمة بدرجة عالية.

هذا .. ولا يمكن التنبؤ بمظهر النباتات المتضاعفة من مظهرها فى الحالة الثنائية، ويتعين – دائمًا – استمرار التجربة والخطأ، ولكن تجدر الإشارة إلى أن مضاعفة النباتات الثنائية تعطى نتائج أفضل من مضاعفة النباتات المتضاعفة بالفعل. فعلى سبيل المثال .. وجد أن مضاعفة كروموسومات القمح والبطاطس – وهما من الأنواع المتضاعفة بطبيعتها – تحدث نقصًا فى قوة النمو وعقمًا فى كلا المحصولين. ويبدو أنه يوجد حد لدرجة التضاعف المثلى لكل نوع نباتى، وقد بلغت معظم الأنواع هذه الحالة المثلى فى الطبيعة. هذا .. ولا يمكن معرفة القيمة الحقيقية للنباتات المتضاعفة باختبارها تحت نفس الظروف البيئية التى تقيّم فيها النباتات الثنائية، بل تلزم دراستها فى ظروف بيئية متباينة.

ويمكن القول .. إن التضاعف لا يستخدم فى إنتاج سلالات جديدة بغرض استعمالها كأصناف جديدة مباشرة، وإنما لاستعمالها كسلالات تربية، يمكن الاستفادة منها فى برامج التربية؛ فالتضاعف لا يكون هو نهاية المطاف، وإنما يكون غالبًا بداية لبرنامج التربية؛ فمثلاً .. يؤدى التهجين بين النباتات المتضاعفة، ثم الانتخاب فى النسل إلى زيادة الخصوبة والجودة. كما تؤدى التربية الداخلية فى النباتات المتضاعفة إلى إنتاج نباتات أصيلة فى صفات مرغوبة. وتجدر الإشارة فى هذا الخصوص إلى أن حالة عدم التماثل الوراثى heterozygosity، تقل بمقدار النصف كل ٣,٨ جيلاً من التربية الداخلية فى النباتات الرباعية المجموعة الكروموسومية. مقارنة بكل جيل فى النباتات الثنائية.

التأثير العام للتضاعف الذاتي على النباتات

يختلف تأثير التضاعف الذاتي باختلاف الأنواع النباتية، وباختلاف الأصناف داخل النوع الواحد.

وفيما يلي أهم تأثيرات التضاعف على النباتات

١ – زيادة حجم الخلايا، وقد لوحظ ذلك خاصة في الأنسجة الإنشائية، والخلايا الحارسة للثغور، وحبوب اللقاح. إلا أن الزيادة في حجم الخلايا لا يصاحبها – بالضرورة – زيادة في حجم النبات.

٢ – تتأثر نسب مكونات الخلية؛ فتتغير نسبة الماء، والبروتين، والكلوروفيل، والسيليلوز، والأوكسينات، والفيتامينات ... إلخ؛ فمثلاً .. يزيد نشاط فيتامين أ في الذرة الرباعية بمقدار ٤٠٪ عما في الذرة الثنائية، ويزيد محتوى كثير من الخضر والفواكه الرباعية من حامض الأسكوربيك (فيتامين جـ) عما في نظائرها الثنائية، ويزيد محتوى النيكوتين في التبغ الرباعي بمقدار ١٨–٣٣٪ عما في الثنائي.

٣ – تصبح الأوراق أقصر، وأعرض، وأسمك، ويصبح النبات أقوى نموًّا، ولكن توجد حالات كثيرة يكون فيها النبات المتضاعف أضعف وأقل نموًّا.

٤ – يزيد حجم بعض الأعضاء النباتية مثل السبلات، والبتلات، والبذور، والثمار، ويطلق على تغيرات كهذه اسم عملقة gigatism.

٥ – بطء النمو، وتأخر الإزهار مع استمراره فترة أطول.

٦ – تكون النباتات المتضاعفة على درجة من العقم تتراوح من نسبة ضئيلة إلى عقم تام. وقد عزى ذلك في كثير من الأحيان إلى حدوث اضطرابات كروموسومية خلال الانقسام الاختزالي، إلا أن أغلب حالات العقم ترجع – في النباتات المتضاعفة – إلى حالة عدم التوازن الجيني genic imbalance التي تحدث بعد مضاعفة عدد الكروموسومات.

٧ – قد تختلف الاحتياجات البيئية للنباتات الرباعية عن الثنائية؛ فمثلاً .. تحد حالة التضاعف من احتياجات الفترة الضوئية في الشيلم، وتحتاج بذور البطيخ الثلاثي إلى درجات حرارة أعلى للإنبات.

٨ – يؤدي التضاعف إلى إضعاف حالة عدم التوافق الجاميطي (عن Allard ١٩٦٤، و Briggs & Knowles ١٩٦٧).

أوجه الاستفادة من النباتات المتضاعفة ذاتيًا

مجالات الاستفادة من التضاعف الذاتى بصورة عامة

إن من أهم مجالات الاستفادة من التضاعف الذاتى فى تحسين النباتات - بصورة عامة - ما يلى:

١ - يستفاد من التضاعف فى إنتاج سلالات أصيلة ثنائية (٢ن) من النباتات الأحادية، كما أسلفنا.

٢ - يسمح التضاعف بزيادة التعبير عن التباينات الوراثية المتواجدة فعلاً، وهو يعطى المربى فرصة لتغيير الصفات النباتية من خلال التغيير الذى يطرأ على تكررات الهيئة الكروموسومية؛ ومن ثم على عدد جرعات الجينات الآليلية التى تسهم فى إظهار الصفات. وتتباين تلك التأثيرات بين المفيدة وغير المفيدة.

٣ - عندما لا يكون عدد الهيئات الكروموسومية بالنباتات المتضاعفة زوجيًا - كأن تكون النباتات ثلاثية أو خماسية التضاعف - فإنها تكون على درجة عالية من العقم، ويستفاد من تلك الخاصية فى إنتاج الثمار اللابذرية، كما فى حالة البطيخ الثلاثى. ونجد فى تلك الحالات أن العدد غير الزوجى للهيئات الكروموسومية يمنع الاقتران الكامل للوحدات الثنائية الكروموسومات bivalents، كما يجعل من غير المحتمل تكون جاميطات لا تحتوى على الهيئة الكروموسومية الكاملة (euploid gametes)؛ الأمر الذى يمنع إنتاج البذور.

وبينما تتشابه النباتات الثلاثية المجموعة الكروموسومية مع النباتات الأحادية فى كونها على درجة عالية من العقم، إلاّ أنها تتميز عنها بأنها تحتل مركزًا مهمًا بين النباتات المزروعة؛ إذ ينشأ عن حالة التضاعف الثلاثى تأثيرات مورفولوجية وفسيولوجية مرغوبة. وتكون النباتات الثلاثية - غالبًا - قوية النمو، كما تكون ثمارها كبيرة الحجم، وخالية من البذور، وتوجد منها أصناف تجارية كثيرة تكثر خضريًا، ومن أمثلتها: الموز، ونحو ربع أصناف التفاح الأمريكية الهامة، وبعض أصناف الكمثرى والمشمش اليابانى، وبعض أصناف الكريزانثيمم التى تتميز بإنتاج مرتفع من البيرثيرم، وبعض أشجار الحور التى تتميز بسرعة النمو العالية، وعديد من نباتات الزينة؛ مثل العائق وبعض أصناف التيولب، والجلاديولس. وتزرع أصناف ثنائية مع أصناف التفاح والمشمش والكمثرى الثلاثية؛ لتكون مصدرًا لحبوب اللقاح فى الحقول

الإنتاجية. أما الموز .. فإن ثماره تعقد بكريًا، ولا توجد البذور إلا في الموز الثنائي المجموعة الكروموسومية، وهو لا يزرع تجاريًا.

٤ – يمكن الاستفادة من مستوى التضاعف الذاتي في التغلب على مشاكل العقم في الهجن النوعية، حيث يمكن بمضاعفة كروموسومات نوع ثنائي (٢ن = ٢س) تهجينه بسهولة مع نوع آخر رباعي (٢ن=٤س)، بغرض أن كروموسومات النوع الثنائي المضاعف متوافقة مع كروموسومات النوع الرباعي. ومن أمثلة ذلك تهجين النوع الثنائي *Agropyron cristatum* – بعد مضاعفة عدد كروموسوماته بالكولشيسين – مع النوع الرباعي التضاعف الطبيعي *A. desertorum* (عن Poehlman & Sleper ١٩٩٥).

٥ – تتميز النباتات المتضاعفة بقدرة أكبر على تحمل الظروف البيئية القاسية، الأمر الذي أسهم في تطور المحاصيل المزروعة. كذلك تتميز النباتات المتضاعفة بقدرة أكبر على التعبير الجيني والتباين الإنزيمي، مع انخفاض في معدل التنفس وارتفاع في معدل البناء الضوئي، وتأخير في الإزهار مع استمراره لفترة طويلة، وانخفاض في معدل النمو، ولكن مع قدرة أكبر على تحمل النقص في العناصر الغذائية، ويزداد في مقاومة وتحمل الأمراض والجفاف والتقلبات الحرارية.

ولقد أظهرت دراسات مزارع الخلايا أن الخلايا الثنائية تلجأ إلى التضاعف في حالات الشدّ البيئي، كما تحاول الخلايا الرباعية المحافظة على وضعها تحت تلك الظروف.

٦ – يعتقد بأن النباتات المتضاعفة تكون أكثر توافقًا مع الظروف البيئة وتحملاً لها بسبب قدرتها الخاصة على إنتاج مركبات أيضية ثانوية، يزداد تركيزها كثيرًا في النباتات المتضاعفة مقارنة بنظيراتها الثنائية، الأمر الذي يجعلها مصدرًا متميزًا لتلك المركبات التي قد يمكن الاستفادة منها في الأغراض الطبية، أو كمكسبات للنكهة .. إلخ (عن Dhawan & Lavania ١٩٩٦).

ومن أمثلة تلك المركبات التي يزداد تركيزها كثيرًا في النباتات الرباعية – مقارنة بالثنائية – ما يلي:

أ – محتوى المطاط في الداندليون الروسي.

ب – محتوى الأتروبين والقلوانيات الأخرى فى أوراق الداتورة.

جـ – محتوى النيكوتين فى التبغ.

د – محتوى "الكمفور" Champhor فى أوراق الريحان.

هـ – محتوى حامض الأسكوربيك فى أوراق الكرنب وثمار الطماطم.

و – محتوى المواد الكاروتينية فى الذرة الصفراء.

ز – محتوى الألياف فى القطن والجوت.

ويبين جدول (١٢–٢) تأثير التضاعف على تركيز بعض المركبات الأيضية الثانوية – التى يمكن الاستفادة منها – فى عديد من الأنواع النباتية.

مجالات الاستفادة من التضاعف الذاتى فى مختلف الفئات النباتية مقسمة حسب استعمالها

إن من أهم المجالات التى استخدم فيها التضاعف الذاتى لتحسين مختلف الفئات النباتية – مقسمة حسب استعمالاتها – ما يلى:

أولاً: تحسين النباتات التى تزرع لأجل أجزائها الخضرية

تعد النباتات التى تزرع لأجل أجزائها الخضرية أكثر النباتات استجابة للتربية بالتضاعف؛ فمثلاً .. وجد فى بنجر السكر أن جذور النباتات الثلاثية المجموعة الكروموسومية أكبر حجمًا من جذور النباتات الثنائية، مع تساوى نسبة السكر فى كليهما، ويترتب على ذلك زيادة كمية السكر التى يمكن إنتاجها من وحدة المساحة.

وتعد العقبة الرئيسية أمام الاستفادة من هذه الحقيقة فى الإنتاج التجارى هى كيفية إنتاج البذور الثلاثية؛ إذ تطلب ذلك زراعة سلالات ثنائية وأخرى رباعية فى خطوط متبادلة، لكى تُلقح فيما بينها. ولكن السلالات الثنائية – وهى التى تعطى محصولاً عاليًا من البذور – لا تنتج سوى نسبة منخفضة من البذور الثلاثية، بينما السلالات الرباعية – وهى التى تعطى نسبة عالية من البذور الثلاثية – يكون إنتاجها من البذور منخفضًا للغاية.

جدول (١٢-٢): تأثير التضاعف على تركيز بعض المركبات الأيضية الثانوية النافعة (عن Dhawan & Lavania ١٩٩٦).

النوع النباتي	مستوى التضاعف	تأثير التضاعف الكروموسومي
Atropa belladona	4x	٦٨٪ زيادة في تركيز الـ tropane
Acorus calamus	3x	٥٠٪ زيادة في محتوى الزيوت الطيارة
	4x	٣٠٠٪ زيادة في محتوى الزيوت الطيارة
Camellia sinensis	4x	زيادة في تركيز البولى فينولات، والـ catechins، والـ extractines، والـ caffeine
Cannabis sativa	4x	زيادة معنوية في نشاط الـ marihuana
Capsicum spp.	4x	زيادة معنوية في تركيز حامض الأسكوربيك
Carum carvi	4x	زيادة معنوية في تركيز الزيوت الأساسية ٦٧٪ زيادة في محتوى الزيوت الطيارة
Catharanthus roseus	4x	زيادة المقاومة لعفن الجذور والرقبة زيادة تركيز الـ ajmalicine في الجذور
Cinchona succirubra	4x	١٠٠٪ زيادة في تركيز الـ quinine
Costus speciosus	3x & 4x	نقص في تركيز الـ diosgenin
Cymbopogon flexuosus	4x	زيادة جوهرية في محتوى الزيوت الأساسية
Datura innoxia	1x	نقص في محتوى الـ hyoscine، والـ atropine
D. strammonium	4x	٦٠-١٥٠٪ زيادة في محتوى الـ tropane الكلى
	2n + 1	١٣٦-٢٢٧٪ زيادة في محتوى المركبات الشبه قلوية في ٧ من الـ trisomics، و ٤٠٪ نقص في ٣ من الـ trisomics، مقارنة بالكنترول
Digitalis purpurea	4x	تركيز أقل أو مماثل لما في النباتات الثنائية من الجلوكوسيدات
D. lanata	4x	تركيز أقل أو مماثل لما في النباتات الثنائية من الجلوكوسيدات، ولكنها أعلى قليلا في تركيز الـ lanatosides (A، و B)

تابع جدول (١٢-٢):

النوع النباتى	مستوى التضاعف	تأثير التضاعف الكروموسومى
Hyoscyamus niger	8x	٣٥٪ زيادة فى تركيز الـ tropane
H. albus	4x	١٦,٢٪ زيادة فى تركيز الـ tropane
H. muticus	4x	٣٦٪ زيادة فى تركيز الـ tropane
Lavandula angustifolia	4x	زيادة معنوية فى محتوى الزيوت الأساسية
L. latifolia	4x	زيادة معنوية فى محتوى الزيوت الأساسية
Lobelia inflata	4x	٥٢-١٥٢٪ زيادة فى محتوى القلوانيات alkaloids
Mentha spicata	4x	نقص فى تركيز الزيوت الأساسية
M. arvensis	4x	٣٠٪ زيادة فى محتوى الزيوت الأساسية
Ocimum kilimandscharicum	4x	٥٠٪ زيادة فى محتوى الزيوت الأساسية
Papaver bracteatum	4x	زيادة تركيز الـ thebaine
	3x	زيادة محتوى الـ thebaine فى الموسم الأول فقط
P. somniferum	3x & 4x	زيادة جوهرية فى محتوى المورفين morphine
Solanum khasianum	4x	٣٥-٥٠٪ زيادة فى محتوى الـ solasodine وزيادة فى محصول الثمار
Trigonella foenum-gracium	4x	نقص فى محتوى البذور من الـ diosgenin
Vetiveria zizanioides	4x	٦٠٪ زيادة فى محتوى الجذور من الزيوت الأساسية

هذا .. ويتوقع - كذلك - استجابة محاصيل المراعى، والزهور، ونباتات الزينة للتضاعف الذاتى؛ لأنها لا تزرع لأجل ثمارها أو بذورها. كما أن الزهور العقيمة تحتفظ بنضارتها فترة أطول، وقد يعد أى تغير فى الشكل المظهرى لنباتات الزينة عند مضاعفتها أمرًا مرغوبًا فيه فى حد ذاته.

ثانيًا: تحسين النباتات التى تزرع لأجل بذورها

لم يكن للتربية بالتضاعف دور مهم فى تحسين النباتات التى تزرع لأجل بذورها،

بسبب العقم الذى يصاحب التضاعف، ويستثنى من ذلك محصول الشيلم؛ فقد وجد أن الشيلم الرباعى (٢ن = ٤س = ٢٨) يتميز بكبر الحبة، وارتفاع نسبة البروتين بها، وقدرته على النمو فى ظروف بيئية متباينة، بينما يتساوى فى المحصول مع الشيلم الثنائى. هذا .. إلا أنه يعيبه قلة عدد الخلفات، وارتفاع طول النبات، كما اعترضت المطاحن على حبوبه الكبيرة الحجم.

ثالثًا: تحسين المحاصيل التى تزرع لأجل ثمارها

أفاد التضاعف الذاتى فى تحسين المحاصيل التى تزرع لأجل ثمارها؛ لسببين هما:

١ – وجد أن ثمار بعض الفواكه الرباعية المجموعة الكروموسومية كبيرة الحجم مقارنة بالطرز الثنائية، كما فى العنب الذى تتميز أصنافه الرباعية بأن حباتها أكبر حجمًا وبذورها أقل عددًا، ولكن يعيبها عدم امتلاء العناقيد، وقلة المحصول.

٢ – تميزت الطرز الثلاثية المجموعة الكروموسومية بخاصية العقد البكرى؛ أى بقدرتها على إنتاج ثمار خالية من البذور. ويعد البطيخ اللابذرى من أهم الأمثلة على ذلك وهو الذى تُنتج بذوره الثلاثية (التى تعطى ثمارًا خالية من البذور)؛ بتهجين سلالات رباعية التضاعف – تستخدم كأمهات – مع سلالات ثنائية التضاعف – تستخدم كآباء – علمًا بأن التلقيح العكسى لا ينجح.

وتكون ثمار البطيخ الثلاثى خالية من البذور؛ لأن الغالبية العظمى من الجاميطات التى تنتجها هذه النباتات (٢ن = ٣س = ٣٣) تكون عقيمة، ولا يكون خصبًا منها إلا ما تحتوى على ١١، أو ٢٢ كروموسومًا، وهى تتكون (أى البويضات الخصبة) بنسبة $(\frac{1}{2})^{11} \times ٢ \times ١٠٠$ أى $(\frac{1}{2})^{10} \times ١٠٠$ أى أقل من ٠,٠٥٪، بينما تزيد نسبة الجاميطات العقيمة (وهى التى تحتوى على ١٢–٢١ كروموسومًا) عن ٩٩,٩٥٪؛ لذا .. فإن الثمار العاقدة تكون خالية – تقريبًا – من البذور. هذا .. إلا أنه تظهر بثمار البطيخ الثلاثى تكوينات صغيرة بيضاء تشبه بذور الخيار، كما تبدو بها – أحيانًا – بذور خالية من الأجنة تكون قشرتها صلبة وحجمها طبيعيًّا؛ ويعد ذلك من أكبر عيوب البطيخ الثلاثى.

يحتاج عقد ثمار البطيخ الثلاثى إلى توفر حبوب اللقاح من سلالة ثنائية؛ لذا .. تجب زراعة خط من سلالة ثنائية بين كل خمسة خطوط من السلالة الثلاثية. تعمل

حبوب لقاح السلالة الثنائية كمنبهات فقط لنمو مبايض أزهار السلالة الثلاثية التى تكون بويضاتها عقيمة بنسبة تزيد على ٩٩,٩٥٪.

وينتج فى اليابان عدد كبير من أصناف البطيخ الثلاثية؛ ومن أهم عيوبها ارتفاع ثمن التقاوى؛ لكثرة اليد العاملة اللازمة لإنتاج الهجن، وصعوبة إكثار السلالات الرباعية التضاعف، وظهور أشكال غير طبيعية من الثمار الثلاثية، مع ميلها إلى التفريغ، وظهور بذور صلبة فارغة بها.

بعض الأمثلة لحالات نجحت فيها التربية بالتضاعف الذاتى

إن من أهم الحالات الناجحة للتربية بالتضاعف الذاتى، ما يلى:

١ – بنجر السكر الثلاثى التضاعف:

تكون جذور النباتات الثلاثية أكثر طولاً وأعلى محتوى من السكر.

٢ – الشوفان *Secale cereale*:

يتميز الشوفان الرباعى بزيادة حجم الحبوب وارتفاع محتواها من البروتين، وقدرتها العالية على الإنبات فى الظروف البيئية القاسية.

٣ – البطيخ اللابذرى:

يتميز البطيخ اللابذرى (الثلاثى التضاعف) بالجودة العالية ويكثر الطلب عليه فى كل من الولايات المتحدة، واليابان، وأوروبا الغربية.

٤ – نباتات العلف والمراعى:

أعطت السلالات الرباعية التضاعف السويدية من البرسيم الأحمر red clover محصولاً أعلى عن محصول نظيراتها من السلالات الثنائية.

٥ – الزهور ونباتات الزينة:

لاقت الزهور ونباتات الزينة المتضاعفة قبولاً كبيرًا إذا إنها تكون عادة أكبر حجمًا، وتعيش أزهارها لفترة أطول، وتبقى النباتات مزهرة لفترة طويلة نسبيًا، كما أن مجرد ظهور أشكال جديدة من تلك النباتات يعد أمرًا مرغوبًا فيه (عن Agrawal ١٩٩٨). ومن أهم نباتات الزينة التى حُصل فيها على أصناف جديدة عن طريق مضاعفة عدد الكروموسومات بالكولشيسين أنف العجل snapdragon، والقطيفة marigold، والزينية

zinnia، والعائق delphinum، والـ impatiens، والزنبق (السوسن) lily، وزنبق النهار day lily (Hancock ١٩٩٧).

طرق إحداث التضاعف الذاتى فى النباتات

أمكن إنتاج نباتات متضاعفة من الذرة، بتعريضها لدرجات حرارة مرتفعة، كما عرف فى الذرة – أيضًا – جين يجعل النبات قادرًا على إنتاج جاميطات متضاعفة، وهو الجين as (asynaptic) الذى يمنع التقارن الكروموسومى فى أثناء الانقسام الاختزالى.

هذا .. إلا أن مضاعفة الكروموسومات تجرى – عادة – بإحدى طريقتين، هما:

١ – إنتاج نباتات متضاعفة من نسيج الكالوس Callus Tissue:

يلزم لإنتاج نباتات متضاعفة بهذه الطريقة قطع فرع نباتى، ثم معاملة السطح المقطوع بمنظم النمو إندول حامض الخليك (IAA) فى اللانولين. وتؤدى هذه المعاملة فى بعض النباتات إلى تكون كتلة من نسيج الكالوس على السطح المقطوع، قد تنمو منها أفرع جديدة. تكون بعض هذه الأفرع رباعية التضاعف، وتنتج – لدى إكثارها خضريًا – نباتات كاملة رباعية. وقد اتبعت هذه الطريقة بنجاح فى الطماطم والتبغ.

٢ – إنتاج نباتات متضاعفة بالمعاملة بالمركبات الكيميائية:

استخدم عديد من المركبات الكيميائية فى مضاعفة كروموسومات الأنواع النباتية، وكان من أمثلتها الإيثر، والكلوروفورم، وأكسيد النتروز nitrous oxide، وكلورال هيدريت Chloral hydrate، وأسينافثين acenapthene، وإيثيل كلوريد الزئبق ethyl-mercury-chloride. إلا أن أكثر المركبات استعمالاً وأهمها فى مضاعفة الكروموسومات كان الكولشيسين colchicine، وهو ما سنتناوله بشئ من التفصيل. وقد أعقب اكتشافه – وهو مركب طبيعى – تخليق طرز أخرى صناعية منه؛ مثل الكولشيم Colchium، والكالسيميد Calcemid.

الشروط التى يجب توفرها فى النباتات التى تربى بالتضاعف

يفضل توفر الشروط التالية فى المحاصيل التى تربى بالتضاعف:

١ – أن يكون عدد الكروموسومات فيها قليلاً.

٢ – أن تزرع لأجل الأجزاء الخضرية.
٣ – أن تكون خلطية التلقيح.
٤ – أن تكون معمرة.
٥ – أن تكون قادرة على التكاثر الخضرى.

كما يجب أن تشمل مضاعفة الكروموسومات عددًا كافيًا من النباتات من سلالات ثنائية مختلفة ممثلة للصنف، بهدف استعادة أكبر قدر ممكن من التباينات الوراثية للصنف الأصلى فى الصنف الجديد (عن Agrawal ١٩٩٨).

الكولشيسين واستعمالاته فى مضاعفة الكروموسومات

كان الكولشيسين هو المركب الرئيسى المستخدم فى إحداث التضاعف الكروموسومى فى النباتات منذ أكثر من خمسين عامًا ولا يزال كذلك، وهو يستخرج من نبات *Cochium autumnale* الذى يحتوى على المركب بنسبة ٠,٤٪ من وزنه الجاف. ونتناول – فيما يلى – دراسة الكولشيسين من عدة جوانب.

كيفية إحداث الكولشيسين للتضاعف

يُحدث الكولشيسين تأثيره بمنع تكوين خيوط المغزل فى أثناء انقسام الخلية، وهو ما يمنع هجرة الكروموسومات إلى قطبى الخلية. ويؤدى ذلك إلى تكوين نواة جديدة تحتوى على ضعف العدد الأصلى من الكروموسومات. ونظرًا لأن عدد الكروموسومات يستمر فى التضاعف مع كل انقسام جديد مادام تأثير الكولشيسين باقيًا، لذا .. فإن المعاملة بالمركب يجب أن تتوقف بعد انقضاء الفترة اللازمة لإحداث التضاعف المطلوب. هذا .. علمًا بأن الخلايا الرباعية التضاعف – وأحيانًا الثمانية التضاعف – هى التى يمكن أن تستمر فى الانقسام والنمو.

طرق إضافة الكولشيسين للأنسجة النباتية

يضاف الكولشيسين للأنسجة النباتية فى إحدى الصور التالية:

١ – محلول مائى: يتراوح تركيز المحلول المائى عادة من ٠,٠٥٪–٠,٤٪.
٢ – محمَّل فى الجلسرين: يستعمل لذلك ٧.٥ مل جلسرينًا، و ٢.٥ مل ماءً، و ٦–

٨ نقاط من المادة المبللة سانتوميرز santomerse، ثم يضاف الكولشيسين بالتركيز المطلوب.

٣ – محمل فى الآجار: يضاف الكولشيسين إلى الآجار الساخن قبل تصلبه.

٤ – محمل فى مستحلب اللانولين: يحضر مستحلب اللانولين بإضافة ٢٠ مل ماء إلى ١,٥ جم حامض استياريك stearic acid، و ٠,٥٣ مل مورفولين morpholine مع التسخين إلى أن يتم ذوبان حامض الاستياريك، على ألا ترتفع درجة حرارة المخلوط عن ١٠٠°م. يحرك المخلوط بساق زجاجية إلى أن يأخذ مظهر الصابون فى اللون والقوام، ثم يضاف إليه ٨ جم لانولين lanolin مع استمرار التسخين والتلقيب إلى أن يذوب اللانولين، وحتى يصبح قوام المستحلب سميكًا نسبيًا، ثم يترك ليبرد، ويضاف إليه الكولشيسين بالتركيز المطلوب.

طرق المعاملة بالكولشيسين

تجرى المعاملة بالكولشيسين بإحدى الطرق التالية:

١ – معاملة البذور:

تنقع البذور التى يُراد معاملتها فى محلول مائى من الكولشيسين بتركيز ٠,٠٥٪–١,٥ لمدة ١–٦ أيام، علمًا بأن البذور البطيئة الإنبات تحتاج إلى مدة أطول. ويجب أن تنتهى المعاملة قبل أن تباشر البذور بالإنبات، وتغسل البذور جيدًا بعد المعاملة.

٢ – معاملة البادرات:

تعامل القمم النامية للبادرات الصغيرة بنجاح أكبر من معاملة البذور، وتستمر المعاملة لمدة ٣–٢٤ ساعة. يراعى عدم وصول الكولشيسين إلى جذور البادرات نظرًا لحساسيتها الشديدة له. وتجرى المعاملة بإحدى طريقتين كما يلى:

أ – إذا استنبتت البذور على ورق ترشيح فى أطباق بترى، وكانت جذور البادرات تتخلل ورق الترشيح بشكل جيد .. فإن المعاملة تجرى بقلب أطباق بترى بما عليها من بادرات، حتى تنغمس القمم النامية للنباتات فى محلول مائى من الكولشيسين.

ب – بلف جذور مجموعة من البادرات بقطن مبلل بالماء، ثم قلبها فى كأس به محلول مائى من الكولشيسين بنفس الطريقة السابقة، وتفضل هذه الطريقة؛ لأن

الجذور تبقى رطبة ولا تتعرض للجفاف. هذا .. وتغسل البادرات بالماء بعد انتهاء المعاملة.

٣ – معاملة النباتات الكبيرة:

تعامل الفروع الصغيرة، والبراعم الإبطية، والقمم النامية للسيقان الكبيرة بإحدى الطرق التالية:

أ – غمر القمة النامية فى محلول مائى من الكولشيسين.

ب – وضع قطعة قطن مبللة بمحلول الكولشيسين بين أوراق البرعم النامى، مع تكرار المعاملة يوميًا لمدة ٢–٦ أيام.

جـ – رش البراعم بمحلول الكولشيسين عدة مرات يوميًا. أو قد يضاف إلى البرعم الإبطى نقطة واحدة من محلول مائى من الكلولشيسين بتركيز ٠,٥٪. ياضف إليه زيت معدنى بنسبة ١٪.

د – إضافة الكولشيسين محملاً فى الجلسرين بواسطة فرشاة.

هـ – دهان القمة النامية بالكولشيسين فى مستحلب من اللانولين.

و – معاملة القمة النامية بالكولشيسين المحمل فى الآجار، مع إضافته إما بفرشاة، وإما فى نصف كبسولة توضع منكسة على البرعم.

هذا .. ويتباين كثيرًا كلا من التركيز المناسب من الكولشيسين وطريقة المعاملة – حسب المحصول – كما يلى:

١ – القطن:

تعامل القمة النامية للبادرات فى مرحلة الورقة الحقيقية الرابعة إلى الخامسة بتركيز ٠,٠٨٪ كل ١٢ ساعة.

٢ – الحمص:

تعامل البذور المستنبتة فى مرحلة بداية بزوغ الجذير بتركيز ٠,٢٥٪ كل ٣٠ دقيقة.

٣ – الفلفل:

تعامل البذور بتركيز ٠,١٪ لمدة ٨ أيام.

٤ – السمسم:

تعامل البراعم الخضرية بتركيز ٠,٤٪ بالرش مرتان فى اليوم الأول، وتكرر المعاملة فى اليومين الثالث والخامس.

٥ – البرسيم المصرى:

تعامل النموات الخضرية وهى بعمر ٤ أيام بتركيز ٠,١٪ لمدة ٨ ساعات (عن Agrawal ١٩٩٨).

يراعى عند استعمال الكولشيسين أنه مركب شديد السمية؛ فلا يجب أن يلامس الجلد فترة طويلة؛ كما أنه مرتفع الثمن، ويتلف من التخزين الطويل؛ لذا .. يجب ألا تحضر منه إلا الكمية اللازمة فقط حسب الحاجة. وتذاب الكمية المطلوبة من الكولشيسين فى قطرات من الكحول، ثم يضاف الماء ببطء لأن سرعة إضافته تجعل الكولشيسين يترسب من المحلول ثانية. ويمكن تخزين محلول الكولشيسين فى الثلاجة لأسابيع قليلة، لكنه لا يخزن مجمدًا (Avery وآخرون ١٩٤٧، و Egisti & Dustin ١٩٥٥، و Hayes وآخرون ١٩٥٥، و North ١٩٧٩).

وقد أجريت محاولات لاستبدال الكولشيسين بمركبات أخرى أقل تكلفة وسمية؛ فمثلاً .. قارن Li وآخرون (١٩٩٩) تأثير الكولشيسين بتأثير كل من المركبين:

- الإيثال فلورالين ethalfluralin، وهو داى نيتروأنيلين dinitroanilin، يسمى كيميائيًا N-ethyl-N-2-methyl-2-propenyl)-2,6-dinitro-4-trifluoromethyl)benzanine.
- الأورايزلين oryzaline، وهو – كذلك – داى نيترو أنيلين، يسمى كيميائيًا (3,5-dinitro-N4,N4-dipopylsulfanilamide).

وجد الباحثون أن الكولشيسين كان فعالاً فى إحداث التضاعف عندما استخدم بتركيز ١٠٠٠ ميكرومول مع التعريض له لمدة ٣٠ يومًا، بينما أحدث الإيثال فلورالين التضاعف فى ٥٠٪ من النباتات المعاملة عندما تعرضت له النباتات بتركيز ٥٠ ميكرومول لمدة ٩ أيام فقط، أما الأورايزلين فكان قليل الكفاءة.

ونظرًا لأن الكولشيسين شديد السمية للإنسان ومرتفع الثمن كثيرًا عن الإيثال فلورالين، فإن الأخير يمكن أن يكون بديلاً جيدًا للكولشيسين فى إحداث التضاعف.

ولمزيد من التفاصيل عن الكولشيسين واستعمالاته .. يراجع Egisti & Dustin (١٩٥٥).