مجلـة جامعـة تشرين للدراسـات والبحـوث العلمية
المجلـد ٥ ـ العـدد ١ مـن١١٧إلـى ١٢٤

جمادى الأولى ١٤٠١هـ
آذار ١٩٨٢م

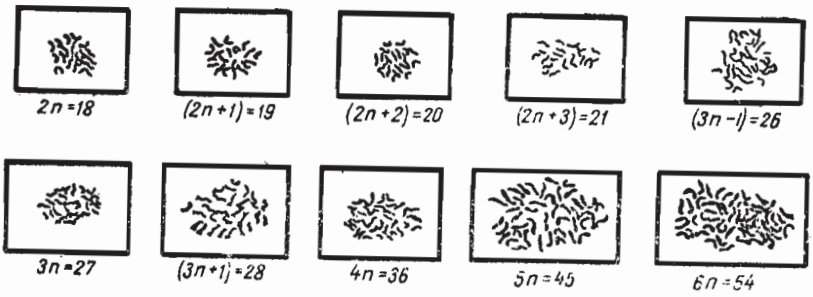
تحديد درجة التضاعف الكروموزومي في الشوندر السكري

الدكتور
نزيه رقيه
كلية الزراعة

تحديد درجة التضاعف الكروموزومي في الشوندر السكري

لوحظ التضاعف الكروموزومي في خلايا أنواع وأجناس نباتية عديدة ومن ضمنها الشوندر السكري حيث لوحظت الحالات التالية من التضاعف ٢٧ ، ٣٦ ، ٤٥ ، ٥٤ ، ٧٢ وبصورة خاصة فان توزع الكروموزومات يكون كما يلي : ١٨ و٢٧ ، ١٨ و٤٦ ، ١٩ و٣٨ ، ٣٦ و٢٧ ، ٣٦ و٧٢ .

الشكل (١) يظهر اعداد مختلفة من الكروموزومات في خلايا الشوندر السكري .



شكل (١) الاختلافات في اعداد الكروموزومات في الشوندر السكري

ان مثل هذه الاختلافات في اعداد الكروموزومات في الشوندر السكري لوحظت بصورة طبيعية في الشوندر السكري . وهناك طرقاً صناعية لتضاعف الكروموزومات بدء فيها منذ الثلاثينيات من هذا القرن . وقد استعملت وسائل متعددة للحصول على هذا التضاعف فاستعملت الحرارة واستعملت مواداً كيمائية مختلفة الى ان ثبت نجاح مادة الكولشيسين /Colchicine/ .

بعد هذا الاكتشاف الهام كان لابد من ايجاد طرق للفحص السيتولوجي من أجل تحديد درجة التضاعف . وقد عمل علماء كثيرون في هذا المجال منهم :

Belling , 1921; Bremer, 1954; Filutowicz, 1956; Geitler, 1940; Kloen a. Spekmann; 1953, 1954; Kuzdowicz, 1957; la cou, 1941; Meyer, 1943; Rosen, 1946, 1947; Tjio a. levan, 1950; Zeilinga, 1966; Zaikovecka and petrychena, Bolelova 1966;

يمكن اجراء الفحص السيتولوجي للنبات ابتداء من تجذير النبات وحتى النضج حتى انه يمكن اجراؤه اثناء تخزين الجذور في الشتاء . اما بالنسبة لنباتات الشوندر السكري في العام الثاني من نموه فيمكن اجراء هذا الفحص ابتداء من مرحلة ظهور البراعم على الجذور وحتى مرحلة الازهار تقريباً .

تؤخذ العينات للفحص السيتولوجي من الوريقات الحديثة النمو (٢ ـ ٣ مم) الموجودة في البراعم على رأس الجذر أو من آباط الاوراق أو من البراعم الزهرية الصغيرة . وبالنسبة الى موعد أخذ العينات فيجب ان يكون في الساعات التي تكون فيها درجة الحرارة منخفضة مابين الساعة ٦ ـ ٨ صباحاً اما اذا كان الجو بارداً فيجب ان يكون هذا الموعد في الساعات الدافئة من النهار .

بعد أخذ المحضرات (العينات) من النباتات توضع في محلول مكون من : ٣ اجزاء من كحول الاتيلين تركيز ٩٦° وجزء واحد من حمض الخل لمدة تتراوح من ١ ـ ٢٤ ساعة بعد ذلك نغسل المحضرات لمدة /٥/ دقائق ثم توضع في مخلوط مكون من حمض كلور الماء المركز ومن كحول الاتيلين تركيز ٩٦° بنسبة ١ : ١ لمدة ٤ ـ ٥ دقائق . تغسل المحضرات بالماء وتوضع في كلور الفينول لمدة ٥ ـ ٧ دقائق وبعد انتهاء هذه المدة تغسل العينات بالماء من جديد لمدة /٥/ دقائق ثم توضع في محلول اسيتوكارمن بتركيز ٢٪ في أواني زجاجية لمدة ١٥ ـ ٢٠ دقيقة .

بعد انتهاء هذه المدة تسخن المحضرات بوجود الصبغة في أواني زجاجية مغطاة بدرجة حرارة ٥٠ ـ ٦٠ م° لمدة ١٥ ـ ٢٠ ثانية .

يجب فحص المحضرات بعد انتهاء تجهيزها مباشرة واذا لم يكن ذلك ممكنا فيجب ان تحفظ في ظروف رطبة وباردة .

والجدول التالي يظهر نتائج تحديد درجة التضاعف الكروموزومي في البراعم النامية على جذور الشوندر السكري المعاملة بمادة الكولشيسين colchicine

جدول :

نتائج تحديد درجة التضاعف الكروموزومي في براعم الشوندر المعامل بالكولشيسين

أرقام الجذور	عدد المحضرات	٣٦ كروموزوم	٢٧ كروموزوم	١٨ كروموزوم
		(٪)	(٪)	(٪)
١	١٢	٨٣,٣	-	١٦,٧
٢	١٠	٨٠,٠	-	٢٠,٠
٣	١٨	٧٢,٨	-	٢٧,٢
٤	١٥	٦٠,٠	-	٤٠,٠
٥	١٦	٥٠,٠	٦,٣	٤٣,٧
٦	١٧	٢٩,٤	-	٧٠,٦
٧	١٤	٢٨,٦	-	٧١,٤
٨	١٥	٢٠,٠	-	٨٠,٠
٩	١٠	٢٠,٠	-	٨٠,٠
١٠	١٧	١٧,٦	-	٨٢,٤
١١	٢٠	١٠,٠	-	٩٠,٠
١٢	١٠	-	١٠,٠	٩٠,٠

(عن Zaikovecka, petrychena, Bolelova)

يتضح من معطيات الجدول بان هناك اختلاف كبير في نسبة التضاعف في انسجة الجذور حتى انه لوحظ ١٨ و ٣٦ كروموزوم في محضر واحد . ولوحظ كذلك براعم ثلاثية التضاعف وهذا يفسر بان بعض الكروموزومات كانت في حالة انشطار وبعضها الآخر لم يكن في هذه الحالة . كمية البراعم الرباعية التضاعف تراوحت مابين ١٠ ـ ٨٠٪ وبعض النباتات كانت كلها ثنائية فقط (٤٠٪) لم يشار اليها في الجدول .

ومن اجل الحصول على بذور شوندر سكري رباعية المجموعات الكروموزومية بنسبة ١٠٠٪ يجب ازالة البراعم ثنائية التضاعف الكروموزومي النامية على النبات وهذا يتم بفضل الفحص السيتولوجي المستمر للبراعم النامية على نباتات الشوندر السكري في عامه الثاني وترك فقط البراعم رباعية المجموعات الكروموزومية .

بعد مرحلة التبرعم في النبات وخاصة اذا لم يكن هناك امكانية للفحص السيتولوجي فيمكن التعرف على البراعم ثنائية المجموعات الكروموزومية النامية على نباتات الشوندر في العام الثاني من نموه عن طريق معرفة عدد الثقوب (المسام) الموجودة في حبوب اللقاح وقد اقترح هذه الطريقة Funke (1956) واستعملها في ابحاثه Kygdofetch (1958) و Falter (1961) .

من اجل القيام بتعداد المسام في حبوب اللقاح اقترح Funke and Falter باجراء عملية صبغ حبوب اللقاح في محلول اورسين تركيز ٢٪ . كذلك يمكن استعمال محلول مخفف من ازرق الميتيلين بدلاً من محلول اورسين (N. E. Zaikovecka, 1968) بتركيز ١ : ١٠٠٠٠ .

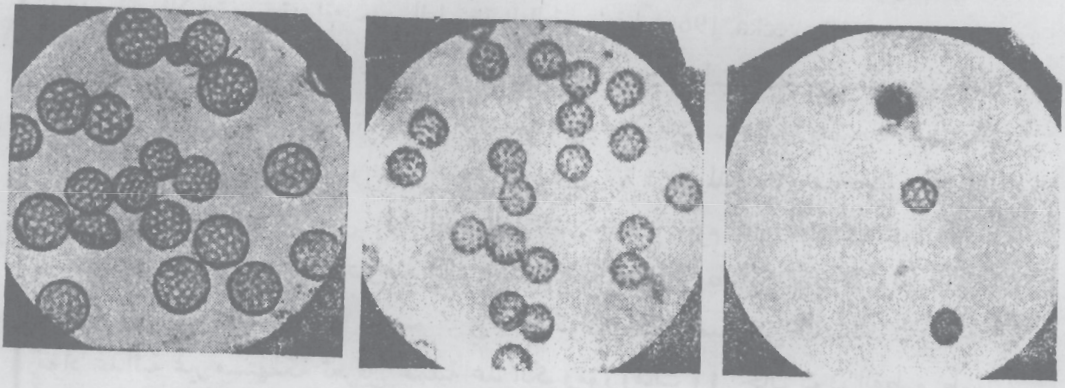
يمكن البدء باستعمال هذه الطريقة اعتباراً من ١٠ ـ ١٢ يوماً قبل الازهار .

الشكل / ٢/ يوضح حبوب لقاح الشوندر السكري ثنائي المجموعات الكروموزومية (٧ مسام) وعدد المسامات في هذا الشكل من الشوندر يختلف مابين ٥ ـ ١٠ مسام .

الشكل / ٣/ يظهر حبوب لقاح الشوندر السكري رباعي المجموعات الكروموزومية المأخوذة من براعم زهرية غير ناضجة .

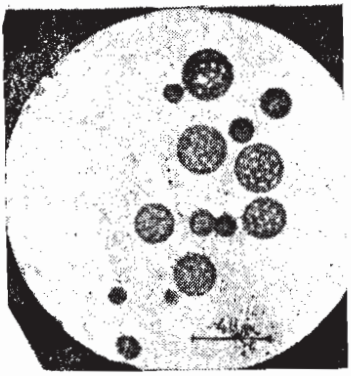
الشكل / ٤/ يظهر حبوب لقاح الشوندر السكري رباعي المجموعات الكروموزومية المأخوذة من براعم زهرية ناضجة .

وبغض النظر عن الاختلاف في حجم حبوب اللقاح في الشكلين / ٣ و ٤/ فان عدد المسام متقارب في كل منهما وهذا العدد يتراوح في الشوندر السكري رباعي المجموعات الكروموزومية مابين ١١ ـ ١٢ إلى ١٦ ـ ٢٠ مسام .



شكل رقم ٢ شكل رقم ٣ شكل رقم ٤

يوجد أحيانا اختلافات كبيرة في حجم حبوب اللقاح الناتجة عن الشوندر السكري رباعي المجموعات الكروموزومية . وهذا الاختلاف يرجع الى ظهور نباتات انيوبلويد Aneuploids ضمن نباتات الشوندر السكري رباعي المجموعات الكروموزومية (Rommar 1963) . والشكل / ٥/ يظهر هذه الحالة .



شكل رقم ٥

تحديد درجة التضاعف الكروموزومي بطريقة عد المسامات في حبوب اللقاح هي طريقة سهلة التنفيذ ودقيقة بشكل كاف . ولذا فانها تستعمل بشكل واسع في تحديد درجة التضاعف في البراعم المختلفة لنباتات الشوندر السكري في العام الثاني من نموها .

اتبعت طرقا عديدة من أجل تحديد درجة تضاعف بذور الشوندر السكري عن طريق الجذيرات الأولية . وقد اقترحت الطريقة التالية من قبل(Zaikovecka, 1966)

توضع البذور في جفنات «كوخ» على ورق ترشيح مرطب بالماء ثم تنقل الجفنات الى الحاضنة بحرارة ٣٠ م° ولمدة ٢ ـ ٣ ايام حسب سرعة الانبات . عندما يصبح الجذير بطول ٠,٥ ـ ٠,٨ سم تنقل البذور الى براد على درجة حرارة ٤ م° ولمدة / ٣/ ساعات . واذا كان نقل البذور الى البراد جرى في نهاية النهار تترك حتى صباح اليوم التالي . يجب تثبيت الجذور مباشرة بعد اخراجها من البراد وعند ذلك يجب تقطيع الجذور بطول ٣ ـ ٤ مم واحيانا يكون اطوال البعض منها ٠,٨ ـ ١,٣سم . في حالة كون القطع اصغر من ذلك تكون في الخلايا مواد غذائية غير مستهلكة تعرقل عملية عد الكروموزومات وفي حال كون القطع طويلة تكون الخلايا التي جرى فيها الانقسام قليلة العدد وبالتالي يصعب عد الكروموزومات ايضا . تجهز المحضرات كما سبق ايضاحه باستثناء اطالة مدة وضع المحضرات في محلول كلور الماء وكحول الاتيلين الى عشرة دقائق بدلا من / ٥/ دقائق .

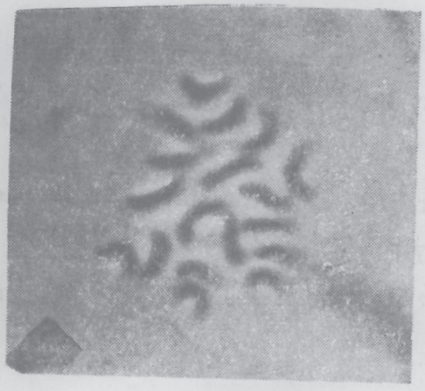
انبات البذور في حرارة مرتفعة تعمل على زيادة سرعة الانقسامات في الخلايا وعند تعريضها لدرجة الحرارة المنخفضة فان ذلك يؤدي الى بطء سرعة هذه الانقسامات مما يهيء ظروفاً مناسبة للفحص السيتولوجي . وبدون انخفاض درجة الحرارة هذه فان سير عمليات انقسام الخلايا يكون سريعاً وبالتالي فان الكروموناتلاتبقى طويلا في مرحلة Metaphase ولكنها تنشطر بسرعة وتنتقل الى مرحلة ANa- Telophase وفي مثل هذه المحضرات يكون عد الكروموزومات غير دقيقاً .

من الجدير بالملاحظة انه يمكن استبدال صبغة اسيتوكارمن بصبغات اخرى تؤدي نفس الغرض .

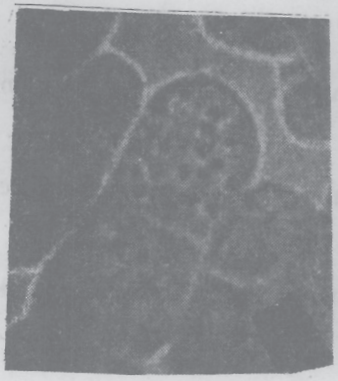
فالشكل / ٦/ يوضح الكروموزومات في الشوندر السكري ثنائي المجموعات الكروموزومية في المحضر الذي اخذ من بدايات الجذور الناتجة عن البذور وباستعمال صبغة اسيتوكارمن .

اما الشكل / ٧/ فهو يوضح المحضر السابق باستعمال صبغة اكسيد الكينول .

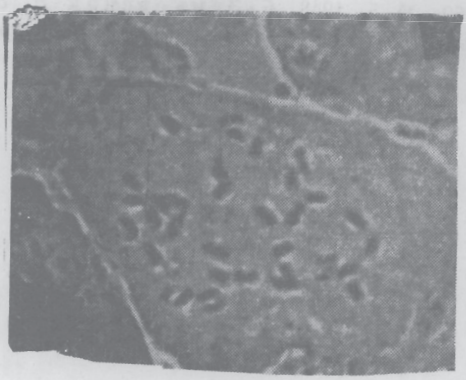
الشكل / ٨/ يوضح محضر في بدايات الجذور الناتجة من بذور الشوندر السكري رباعي المجموعات الكروموزومية باستعمال صبغة اكسيد الكينول .



شكل رقم ٦



شكل رقم ٧



شكل رقم ٨

وعلى ضوء ماسبق فانه يمكن القيام بتعداد الكروموزومات في الجذور البدائية الناتجة عن بذور الشوندر وكذلك في النموات الصغيرة على نبات الشوندر السكري في عامه الاول او عامه الثاني .

أيضاً يمكن اللجوء الى عد مسامات حبوب اللقاح قبيل الازهار وذلك كله من أجل تحديد درجة التضاعف الكروموزومي في الشوندر السكري .

المراجع العلمية

١ ـ الدكتور نزيه رقيه

التضاعف الكروموزومي في الشوندر السكري .. مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية ـ العدد الأول ـ المجلد الأول ١٩٧٨ .

2- Tjio J. H. A. levan A.

The use of oxy uinoline in chromosome analysis. Anales de la Estacion Experimental de Aula Dei, V. 2, No 1, 1950

3 — Walther F. Eine neue Methode zur Feststellung des ploidiegrades bei Beta-Rüben. Der Zuchter 31 No 1 1961.

4- Walther F. Eine neue eytologische untersuchungsmethode für Betarüben, Zucker, No 11, 1961.

5. Араратян А. Г. и Мовсесян С. Н. Об образовании трисоматической клетки. ДАН СССР, т. 60, № 5, 1948. 6 «Заниовская Н. Э. и Петрушина М. П. Методика быстрого подсчета хромосом. «Агробиология», № 4, 1951