

تربية الاجيال الطفورية (M2)

يتم وصف عمليات تطوير المجتمعات الطافرة، وفحص واختيار النباتات والمجموعات الطافرة بدءًا من اختيار النمط الجيني المستهدف/الأم المراد تحويله، أي إنتاج بذور M0 للمعاملة، والتشجيع لإنتاج بذور M1 ومعاملة الطفرات للأجيال الناتجة العوامل الرئيسية التي تؤثر على نجاح التكاثر الطفري تتضمن حجم المجتمع وانتشار وعزل النباتات الطافرة وفحص الطفرات المرغوبة اذ توضح الرسوم البيانية والصور الفوتوغرافية الخطوات المختلفة وتساعد في فهم التطبيق العملي للتكاثر الطفري.

اختيار الآباء والتعامل مع أجيال M1 إلى M3 لاختيار المتحولات

يبدأ برنامج التربية الطفرة الناجح بأهداف محددة جيدًا لتحسين النمط الظاهري والنمط الوراثي للنبات.

الأهداف المشتركة هي:

(أ) لتحسين واحدة أو عدد قليل من الصفات المحددة للصنف المفضل أو السلالة المتميزة

(ب) تحفيز العلامة المورفولوجية (اللون، الشكل، النتوءات، الشعر، إلخ.) من أجل تحديد التميز في خط واعد لتسهيل تحديد وتلبية متطلبات تسجيل الصنف

(ج) للحث على العقم عند الذكور أو استعادة الخصوبة مما يجعل الخط مفيداً كعنصر لإنتاج الأصناف الهجينة.

5.1.1. معايير اختيار النمط الجيني للاباء

يجب أن يكون النمط الجيني الأصلي الذي سيتم إحداث الطفرة فيه إما: (1) صنف تم إطلاقه حديثاً، (2) خط واعد متقدم على وشك إطلاقه، أو (3) خط متقدم واعد أو صنف تم إدخاله مقيد من الإصدار بقيود محددة، على سبيل المثال. المقاومة لمرض أو آفة معينة، أو الاستقرار، وما إلى ذلك.

الاعتبار الأساسي عند اختيار مصدر بذور الصنف الأبوي هو افتقاره إلى التباين الطبيعي للصفات (الصفات) التي سيتم تقديمها عن طريق الطفرة. يجب أن يتمتع الصنف المختار بالتجانس الكافي في معظم الصفات الزراعية المهمة. عادة، يتوفر مخزون من بذور المربي أو الأساس من صنف تم إصداره حديثاً، ووفقاً لمعظم برامج البذور النقية؛ يقتصر التباين الوراثي للصفات المهمة من الناحية الزراعية على المستويات الموضحة في خطط التسجيل المحلية، على سبيل المثال. < 98 بالمائة صحيح في الكتابة ومع ذلك، من أجل الاستغلال الكامل للتقدم الذي أحرزه التهجين، قد يحتاج مربي الطفرة إلى بدء تجاربه مع الأخذ في الاعتبار أن

المادة الأبوية قد تحمل بعض التلوث عن طريق الخلطات أو التهجين ومع ذلك، بالنسبة لأغراض تربية النباتات، فإن هذا له عواقب طفيفة، كما أن عدم توافر مخزون موحد ونقي بشكل قاطع لا ينبغي أن يمنع استخدام تحريض الطفرة. في مثل هذه الحالات، لزيادة فرص النجاح، من المهم بشكل خاص أن يقوم المربي بما يلي:

- (1) تحديد أهدافه
 - (2) زيادة التباين الوراثي
 - (3) زراعة ما يكفي من مادة M0 (المقارنة) غير المعاملة لإنشاء مفهوم التباين الوراثي الموجود في الأساس ولزيادة نقاء المخزون الأصلي المختار للتجارب الاحتياطية
 - (4) تطوير ورقة معلومات مفصلة عن خصائص التركيب أو الخط كما تم تحسينها حسب نوع الطفرة المطلوبة.
- بالنسبة لبعض المحاصيل، قد تكون الخطوط الوراثية النقية متاحة في شكل مجموعات أحادية الصيغة الصبغية مضاعفة (Double Haploid). لماذا؟

النمط الجيني لجيل M1

بمجرد اتخاذ القرار بشأن النمط الجيني الذي سيتم تحوره وتوافر مخزون بذور متجانس، فإن الخطوة التالية هي التطهير. تُعرف البذور قبل المعاملة بجيل M0. يجب أن يسبق اختبار الحساسية الإشعاعية المعاملة العشوائية لتحديد مستويات الجرعة المثلى لتحفيز الطفرة. يتم إجراء اختبارات الحساسية للإشعاع عادة في

المختبر، ولكن يمكن أيضاً استخدام الحقول. تختلف الاستجابات للإشعاع بين الأنواع وبين أصناف نفس النوع. يوضح الشكل التالي إعدادات اختبار الحساسية الراديوية النموذجية في الفاصوليا (اللوبيا) والحبوب (الذرة) بعد تشعيع البذور.

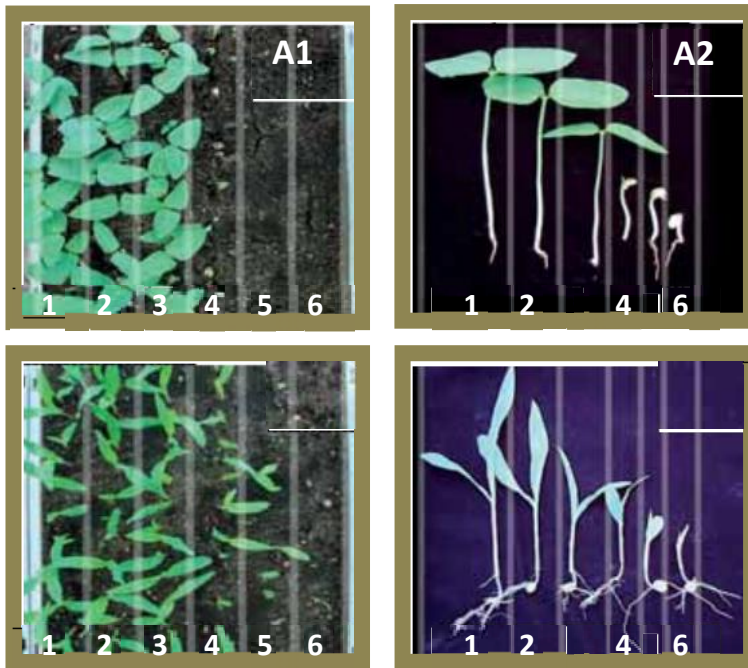


Figure 5.1. Photographs of radio-sensitivity: A) in cowpea (beans) and B) maize (cereals) showing survival rates and reduced growth in two-week-old seedlings after gamma irradiation of seed at: 1) 0 (control), 2) 75, 3) 150, 4) 300, 5) 450 and 6) 600 Gy. The source of gamma rays was a cobalt 60 gamma cell producing 150 Gy/min. Courtesy of A. Mukhtar Ali Ghanim.

السيطرة على المجتمع

يجب دائماً زراعة مجموعة المقارنة (غير المعاملة) لخدمة ثلاثة أغراض:

أ. تقديم مقارنة بين تأثيرات المعاملة على الإنبات والنمو والحيوية وتأثر M1 والعقم

ب. تقييم التباين المظهري لمخزون النمط الجيني الأصل المستخدم لإنتاج M1

ج. توفير النمط الجيني الأصلي "المعاد تنقيته" كنسخة احتياطية لبدء جيل جديد من M1 ليتم زراعته خلال نفس الموسم مع M2 الناتج من M1 الأول إذا لزم الأمر.

المطفرة والمعاملة بالجرعات

من المستحسن استخدام ثلاث جرعات من المطفرات المختارة، والتي ينبغي أن تكون ± 20 في المائة من الجرعة المثالية التي تم العثور عليها من خلال اختبارات الحساسية للإشعاع. عادةً ما تؤدي الجرعات المختارة التي سيتم تطبيقها على الحبوب إلى انخفاض بنسبة 30 إلى 50 بالمائة في نمو البادرات في الاختبارات المختبرية. من الناحية العملية، يجب إجراء مكررتين على الأقل، كل منهما بنصف كمية البذور المختارة للاستخدام مع كل جرعة،

كإجراء تأميني ضد الفشل وضد الأخطاء. عندما تتم معاملة أعداد كبيرة من البذور، أي 5000 إلى 10000 بذرة لكل معاملة، فإن التقسيم الفرعي إلى عدة مكررات معاملة سيؤدي إلى تحسين توحيد المعالجات وهذا عادة ما يكون مناسباً بسبب القيود المادية لحجم غرفة التشعيع.

حجم مجتمع M1

بافتراض وجود احتمال بنسبة 90 في المائة للنجاح في استعادة طفرة تحدث بتردد 1×10^{-3} لكل وحدة اختبار (على سبيل المثال لكل سنبله أو فاكهة أو فرع)، وأنه من المتوقع أن ينتج كل نبات مزروع ثلاث وحدات، فإن الكمية من البذور المراد معالجتها، إذا كان معدل الحيوية على قيد الحياة 80 في المائة، سيكون حوالي 600 بذرة. ومع ذلك، كما هو موضح أدناه. بسبب الأخطاء في تقدير تكرار الطفرة المرغوبة، وعدم اليقين في التنبؤ ببقاء M1، والتباين في شدة المعاملة، وما إلى ذلك، يوصى بزيادة ما يصل إلى عشرة أضعاف التقدير المطلوب

تتم معاملة كميات من البذور لضمان توفر عدد كاف من المجتمع للفحص وهكذا، في المثال أعلاه، قد تؤدي معاملة حوالي 6000 بذرة إلى إنتاج ما يصل إلى 10 طفرات في الاتجاه المطلوب.

أن الحسابات لتقدير حجم المجتمع اللازم لعزل نوع الطافرة المرغوبة يوصى بها، فإن مثل هذه الحسابات قد تكون ذات قيمة محدودة في الممارسة العملية لعدة أسباب، من بينها:

- أ) حتى أفضل التقديرات لتكرارات الطفرات قد تنطوي على أخطاء كبيرة
- ب) لا يمكن بعد ضمان المعاملة الأمثل للطفرات للحصول على التكرار المرغوب للطفرات، حيث أن العديد من العوامل الفيزيائية والبيولوجية غير المتوقعة قد تؤثر على فعالية المعاملة للطفرات
- ج) لا يستطيع المربي تحقيق هدفه باستخدام طفرات واحدة مرغوبة، وبالتالي فمن الأفضل أن يكون لديه عدة طفرات ذات نمط ظاهري مماثل مما سيوفر خيارًا لمزيد من التقييم واختيار أفضل طفرات.

في تشجيع جاما، يؤثر نشاط المصدر على توليد الطفرات، وهذا يتناقض بمرور الوقت. يتطلب جيل M1 عادةً أقل مساحة وجهه لذلك، فإن زراعة مادة M1 الإضافية ليس لها تأثير يذكر على التكلفة، ولكنها تضيف إلى التأكيد على أن عددًا كبيرًا بما فيه الكفاية من M2 سيكون متاحًا للفحص للحصول على الطفرة (الطفرات) المرغوبة.

الشكل السابق 5.1. صور الحساسية للاشعاع: أ) في اللوبيا (الفاصوليا) وب) الذرة (الحبوب) تظهر معدلات الحيوية على قيد

الحياة وانخفاض النمو في الشتلات عمرها أسبوعين بعد تشجيع
البدور بأشعة جاما عند:

(1) 0 (التحكم)، (2) 75 ، (3) 150 ، (4) 300 ، (5) 450 و (6)
600 غراي. كان مصدر أشعة جاما عبارة عن خلية جاما
تحتوي على 60 كوبالت وتنتج 150 جراي/دقيقة.

زراعة بدور M1

بالنظر إلى الآثار الضارة للمطفرة على حيوية البدور، يجب
التعامل مع M1 بعناية أكبر من المقارنة غير المعاملة. ولذلك
ينبغي أن يزرع M1 في ظروف جيدة.

5.1.3.1. ظروف البيت الزجاجي

إذا كان ذلك ممكناً، يجب زراعة M1 في البيت الزجاجي حيث
يمكن إيلاء اهتمام دقيق فيما يتعلق بالري وتوفير الأسمدة
والإضاءة ودرجة الحرارة ومكافحة الإذغال الضارة والآفات
والأمراض لتحقيق أقصى قدر من بقاء النبات وإنتاج الجيل القادم.
كما أن عزل عشيرة M1 أسهل أيضاً في المختبر، مما يحد من
التلقيح من مصادر خارجية، مما قد يؤدي إلى تنوع غير مرغوب
فيه (غير متحول). عادةً ما تكون هناك حاجة إلى عدد قليل فقط من
البدور (M2) لكل نبات M1 ويمكن تقليل التكلفة (مثل الأفرع)
عن طريق زراعة نباتات فردية في أواني صغيرة أو بشكل جماعي

في صواني، مما يزيد أيضاً من مساحة البيت الزجاجي ومع ذلك، تجدر الإشارة إلى أن استخدام البيت الزجاجي مكلف نسبياً مقارنة بالحقل.

(ج) لا يستطيع المربي تحقيق هدفه باستخدام طفرات واحدة مرغوبة، وبالتالي فمن الأفضل أن يكون لديه عدة طفرات ذات نمط ظاهري مماثل مما سيوفر خياراً لمزيد من التقييم واختيار أفضل طفرات.

في تشجيع جاما، يؤثر نشاط المصدر على توليد الطفرات، وهذا يتناقض بمرور الوقت. يتطلب جيل M1 عادةً أقل مساحة وجهه. لذلك، فإن زراعة مادة M1 الإضافية ليس لها تأثير يذكر على التكلفة، ولكنها تضيف إلى التأكيد على أن عدداً كبيراً بما فيه الكفاية من M2 سيكون متاحاً للفحص للحصول على الطفرة (الطفرات) المرغوبة.

ظروف الحقل

إذا لم تكن ظروف البيت الزجاجي متاحة أو ليست في المتناول، فيمكن استخدام الظروف الميدانية. من المهم بشكل خاص التأكد من أن الرطوبة وظروف الزراعة المجهزة لزراعة M1 هي الأمثل للنمو والتطور. يجب أن تكون الخصوبة والنيتروجين في التربة طبيعية أو أقل قليلاً للحد من الأفرع المفرطة (حيث يتم حصاد بذرة رأس واحد فقط عادةً)، لكن يجب أن تكون العناصر الغذائية

الأخرى في المستويات المثلى. المحددات في الزراعة الحقلية في أنها تقتصر على الموسم الزراعي للصنف المختار.

وقت البذار ل M1

سوف تتطور المادة M1 على النحو الأمثل إذا زرعت خلال الموسم عندما يكون المناخ أفضل للشتلات المبكرة وتنمية النبات وتكون مكافحة الادغال أقل مشكلة. ومع ذلك، فإن البذار في وقت لاحق قليلاً (2 أو 3 أسابيع) قد يساعد في تقليل الافرع وقد يحسن ظروف العزل ضد التلقيح المتبادل. ولا ينبغي أن يكون التأخير بقدر ما يؤدي إلى تشجيع أنواع الادغال التي يصعب السيطرة عليها، أو تغيير النضج استجابة لطول اليوم أو عوامل درجة الحرارة، أو زيادة تعرض المحصول لمخاطر أخرى. يمكن استخدام (المختبر، المشتل المحمي، إلخ) لزراعة مجتمع M1 وتقليل الخسائر.

ظروف بذور M1 المعاملة

من الأسهل زراعة البذور الجافة بالآلات أو يدويًا، ويمكن الحصول على نمو أكثر تجانسًا دون عناية إضافية. إذا كانت الرطوبة منخفضة بشكل كاف، يمكن تخزين البذور الجافة لبعض الوقت قبل البذار. وقد يتطلب تخزين البذور المعاملة لفترة أطول لتناسب مع موسم النمو الطبيعي.

كمية البذار

بشكل عام، يجب أن تكون المسافات بين بذور M1 داخل وبين الصفوف بحيث تقلل الاضطراب إلى 2 - 3 في الحبوب، والتفرع الأولي في البقوليات الحبوبية وغيرها من الأنواع ثنائية الفلقة. ويمكن أيضاً تعديل ذلك بناءً على المساحة المتاحة وعدد بذور M1 المعاملة ومعدل الحيوية المتوقع بناءً على تأثير الجرعة وحجم المجتمع M2 المتوقع.

مكافحة الادغال

ينبغي ان تكون البذور خالية من الادغال الضارة نسبياً قبل زراعة بذور M1 مباشرة. ولا ينبغي استخدام مبيدات الادغال الجهازية، مثل 2، D-4 مع الحبوب لأنها تميل إلى التسبب في آثار جانبية وقد تؤثر بشكل أكثر خطورة على جزء واحد من المجتمع مقارنة بجزء آخر، مما يؤدي غالباً إلى العقم وتشويه الأنماط الظاهرية للنباتات وتقليل إنتاج البذور يمكن أيضاً اتباع تدابير أخرى في مكافحة الادغال

عزل ال M1

يمكن الافتراض أن مستوى معين من عدم التجانس الوراثي موجود دائماً حتى في مجموعات المواد الأم من النباتات ذاتية

التلقيح. غالبًا ما تشمل الأصناف مجموعة من الخطوط ذات الصلة والخطوط المتقدمة في مجموعة كبيرة من المجتمع المستمدة من F5 أو الجيل الأحدث. بالإضافة إلى ذلك، هناك احتمال كبير لحدوث بعض التلوث المحدود من خلال الخلط الميكانيكي أو عن طريق التهجين. لذلك، يمكن توقع العديد من المخاطر المعطلة، خاصة في المزروعات الحقلية، مما قد يؤثر على منشأ أو أصل التباين الملحوظ في برنامج تربية الطفرة كما هو موضح أدناه. من المحاذير المهمة في زراعة الأجيال الطفرية هي تجنب ما يلي:

أ. التهجين – قد تنتقل حبوب اللقاح البعيدة عن طريق الرياح أو الحشرات من أصناف من نفس النوع الذي ينمو في مكان قريب؛ ويختلف مدى التلوث باختلاف نوع المحاصيل والمعاملة ونظام التلقيح لأنواع النباتات والمسافة من حقل المحصول المتحور فيما يتعلق باتجاهات الرياح ومصادر التلوث المحتملة. يجب تطبيق طريقة ذاتية مناسبة، مثل التغليف لحماية الزهور قبل تزهيرها، في الوقت المناسب لمنع التهجين (الشكل 5.2). في الأنواع ذات التلقيح الخلطي، حيث يتم فصل الزهور الذكورية والأنثوية، لاجل ان يحدث التلقيح الذاتي



Figure 5.2.

Isolation of sorghum M₁ plants by protecting heads before flowering with paper bags to prevent outcrossing and ensure self-pollination. Bags can also serve to protect the seeds from bird damage if maintained until harvest. Courtesy of A. Mukhtar Ali Ghanim

ب- لا ينبغي زرع M1 على الأراضي المستخدمة سابقًا لنفس النوع، وهذا مهم بشكل خاص للبقوليات المزروعة يدويًا.

ج. تلف الطيور - غالبًا ما يكون خطر فقدان المادة M1 للطيور أكبر من خطر فقدان المواد النباتية غير الطافرة لأن نطاق تباين النضج في المواد المعاملة قد يكون أكبر. ومن الناحية العملية، ينبغي زراعة قطع الأراضي M1 محمية من مجموعات الطيور. في بعض الحالات، قد يتم زرع مساحة إضافية من الأرض في تواريخ مختلفة لتحويل الطيور بعيدًا عن قطع الأراضي المعاملة بالطفرات.

د. عندما يجب زراعة مجموعة M1 في مكان يكون فيه تلف الطيور ممكناً، يمكن تغطية النباتات بنايلون مقاوم للطيور أو شبكة معدنية، وهي غير مكلفة نسبياً أو يجب ترك الكيس الذاتي حتى النضج ليكون بمثابة حماية من تلف الطيور (الشكل 5.2).

ه. السمية أو المرض الذي تنقله التربة أو في بعض الحالات الادغال الطفيلية، مثل *Striga spp*. قد يتسبب في خسارة كاملة لمجتمع M1، وبالتالي، ينبغي ممارسة الحذر الشديد لتجنب زراعة بذور M1 في التربة التي لها مثل هذا التاريخ الإشكالي.

الرعاية أثناء الزراعة وتسجيل البيانات

يجب أن يتلقى مجتمع M1 الممارسات الزراعية المثلى سواء في البيوت المحمية أو الزراعة الحقلية للمحصول المختار، بما في ذلك الري التكميلي، ومكافحة الادغال الضارة بمبيدات الادغال أو بالوسائل الميكانيكية، والوقاية من الاصابة بالافات الشديدة إذا لزم الأمر. بالإضافة إلى ذلك، فإن السجلات الخاصة بحالة M1 في مراحل النمو المختلفة مفيدة ويجب تسجيلها.

فيما يلي اهم الصفات الواجب تسجيلها

أ. البروغ - نظراً لأن استخدام المطفر يؤدي عادةً إلى بعض التأخير في بزوغ البذور المعاملة، فإن تسجيل تقديرات النسبة المئوية للبروغ في الوقت الذي يمكن فيه اعتبار مجموعة الكونتروال 50 - 90 بالمائة وإذا كان ظهور المجموعات المعاملة

ضعيفاً، فإما أن تكون المعاملات شديدة جداً، أو أن الظروف الزراعية سيئة، ويجب إجراء التعديلات لزراعة M1 التالية.

ب. بقاء البادرات على قيد الحياة - توفر تقديرات بقاء البادرات المسجلة في المراحل المختلفة بيانات عن التأثيرات المتأخرة للمعاملات. إذا كان بقاء البادرات على قيد الحياة في المجموعة المعاملة منخفضاً بالنسبة إلى ظهورها، فيمكن اعتبار معاملات المطفرات شديدة جداً بالنسبة للظروف الزراعية.

ج. تحريض الكيميرا M1 - حتى البيانات الأولية عن حدوث نقص الكلوروفيل أو التغيرات المورفولوجية الأخرى في مظهر نباتات M1 قد تكون بيانات مفيدة لتقدير فعالية المعاملات ووجودها.

د. تأخر النمو - يمكن في كثير من الأحيان تقدير تأخر نمو بعض المواد المعاملة بالمطفرات فيما يتعلق بتكوين البادرات، ووقت إزهار النباتات أو نضجها، وكذلك من خلال التباين في تطور النبات.

هـ. الحيوية حتى النضج - توفر تقديرات عدد النباتات الباقية في كل معاملة في وقت النضج معلومات عن شدة الإصابة الناجمة عن المطفر بالمقارنة مع عدد البذور المزروعة.

العقم في M1

يمكن الحصول على تقديرات مفيدة للعقم لـ M1 بطرق مختلفة، أو يمكن إجراء إحصاء تفصيلي لعينات مناسبة من المجتمع. قد يتم

أحياناً إجراء هذه التقديرات عن طريق الفحص البصري (الشكل 5.3)، أو عن طريق محصول البذور M1 (الوزن) الذي تم تصحيحه للاختلافات في الحيوية على قيد الحياة مقارنة بمجموعة التحكم.



Figure 5.3. Example of reduced fertility (seed set) in M_1 plants of barley with increased gamma

0 Gy 100 Gy 200 Gy 300 Gy

irradiation dose rate from 0 (control) to 300 Gy. Courtesy of A. Mukhtar Ali Ghanim.

حصاد M1

ستعتمد طرق حصاد مجموعات M1 على نمط التطور الجيني في الأنواع، وطرق الفحص والجيل المتوقع الذي سيتم فحصه بحثًا عن الطفرات المرغوبة. في معظم الحالات، تحدث التغيرات الجينية الناجمة عن معاملات الطفرات على شكل كيمرات في الأنسجة الجسدية للنبات M1 ، ويكون النمط الجيني عاملاً رئيسياً يؤثر على التعبير عن كيمرات الأنسجة الطافرة المرصودة في الأنسجة التوليدية (المرستيمية). ومع ذلك، قد يكون لكل من النمط الجيني للتطور وإنتاجية البذور لكل نورة M1 تأثير على كفاءة طرق تحليل جيل M1. كقاعدة عامة، تمتلك أحاديات الفلقة نمطًا تنمويًا مختلفًا عن الأنواع ثنائية الفلقة، لكن الأجناس والأنواع وحتى الأصناف قد تختلف أيضًا في نمط النمو على الرغم من أن الأخير قد يكون بسيطًا. في النباتات الملقحة؛ الزهور المذكرة والمؤنثة، الموجودة في مواقع مختلفة على نفس النبات (متجانسة)، قد تنشأ من خلايا أولية مختلفة من البذور المعاملة، وبالتالي من المرجح أن تكون سلالات M2 متغايرة الزيجوت بالنسبة للجينات الطافرة وقد تتطلب بعد ذلك مزيدًا من التحكم في التلقيح (التلقيح الذاتي). للفصل بين النباتات الطافرة المتجانسة في سلالات M3. ويرد أدناه النظر في العلاقة بين هذه العوامل وطرق إدارة المجموعات المعاملة بالطفرات من أشكال النباتات المختلفة.

الاشطاء أو الفروع و نسب النبات

مع الأنواع أحادية الفلقة مثل الحبوب والادغال، فإن أقصى احتمال للتباين الوراثي المستحث يكون في الافرع الأولية، والتي تنشأ من النسيج المرسيمي البدائي المتميز بالفعل الموجود في أجنة البذور المعاملة. قد تنتج بعض الافرع الثانوية بشكل فردي ترددات أعلى من طفرات M2 ولكن الطفرات نفسها، بشكل عام، ستكون موجودة أيضاً في ذرية الافرع الأولية. غالباً ما يكون الافرع الأساسية هم أول من تظهر عليهم علامات النضج، وهو دليل مفيد خاصة إذا كان بقاء M1 منخفضاً ولم تكن كثافة الزراعة فعالة في تقليل التفريع لجميع نباتات M1. مع النباتات البذارية ذات التلقيح الذاتي إلى حد كبير، مثل الفاصوليا والبازلاء والطماطم وما إلى ذلك، قد تكون الطرق المطبقة على تحليلات M1 مماثلة لتلك المستخدمة في الحبوب باستثناء أن كل "افرع أولية" تعادل هنا فرعاً رئيسياً على M1 النبات، ولكن في بعض الدراسات قد يتم تحليل الفروع الثانوية. ومع ذلك، كما ذكرنا سابقاً، فإن النهج الذي يجب اتباعه مع أي نوع معين يجب أن يعتمد على معرفة النمط الجيني لتطور هذا النوع، نظراً لطبيعة البدائيات، بما في ذلك عدد البراعم المتكونة مسبقاً، ودرجة السيادة القمية، وكذلك بالإضافة إلى عوامل أخرى قد تؤثر على نمط تكوين الكيميرا.

عندما يكون إنتاج البذور من كل فرع أو من النبات بأكمله منخفضاً نسبياً، كما قد يكون الأمر مع محاصيل مثل العدس (عدس الطهي) والبازلاء (*Pisum sativum*) والحمص (*Cicer arietinum*) الفروع الكاملة، إن لم يكن كتل ذرية النبات بأكملها، وقد استخدمت على نطاق واسع. في بعض الأنواع الأخرى قد يكون هناك العديد

من الفروع، والعديد من النورات والعديد من البذور لكل ثمرة أو مجاميع الثمار في كل نبات. وبالتالي، قد يبدو من المنطقي أن تكون العينة المأخوذة من كل فرع أساسي من كل M1 كافية.

يجب تعديل عدد البذور المزروعة لتحقيق المستويات المتوقعة من الإنبات والحيوية. عندما لا يكون عدد البذور لكل ثمرة كبيرًا بما يكفي ولا يتم إنتاج العديد من الثمار لكل فرع، فمن المعقول اقتراح أخذ عينات من كل فرع رئيسي، - ربما في عينة كبيرة إلى حد ما اعتمادًا على متطلبات المساحة لكل نبات ومدى توفره من الموارد.

طرق تجميع البذور المفردة أو البلكية التجميعية

تنطبق الطريقة المجمعة للبذور المفردة، بشكل ما، على كل من أحاديات الفلقة وثنائية الفلقة وعلى جميع المواقف التجريبية. وتستند فائدته إلى حقيقة أن احتمال حدوث ذرية طافرة واحدة داخل ذرية الفاكهة التي تم تطويرها من الأنسجة الطافرة أعلى من تكرار طفرة معينة في إجمالي عدد النباتات (أو الفروع) التي تم أخذ عينات منها. ومع ذلك، تتطلب الطريقة أخذ نفس العدد من البذور (واحدة أو أكثر في شكل معدل) من كل بنية ثمرية (سنبله، عنقود، إلخ).

تم بنجاح استخدام طريقة معدلة للبذور المفردة في دراسات الطفرة مع (Medicago polymorpha). قام الباحثون بحصد القرون

من نباتات M1 بكميات كبيرة، وفي الجيل التالي قاموا بزراعة نبات M2 واحد من كل عينة من القرون تم اختيارها عشوائياً.

الطرق البليكية التجميعية

يمكن تطبيق الانتخاب الاجمالي للمجتمع أيضاً إذا كانت الأراضي والموارد اللازمة للميكنة أقل تكلفة من العمالة المطلوبة للعمليات الأخرى. ومع ذلك، في هذه الحالة، مع كل من الأنواع أحادية الفلقة وثنائية الفلقة، يجب وضع آلية ما للحد من إنتاجية البذور في كل نبات M1، حتى لو تم أخذ العينة المخصصة للتعامل بالجملة يدوياً عند الحصاد.

إدارة المجتمع M2

في تربية الطفرة العملية، فإن طبيعة الصفة المطلوبة، وتوافر المساحة في الحقل، أو المختبر أو البيت الزجاجي والعمالة اللازمة، وإمكانية الميكنة، وغيرها من الموارد سيكون لها تأثير مهم على طرق الحصاد التي سيتم اختيارها و الدقة وكفاءة الاختيار. ويرد في الشكل 5.4 مخطط لتطوير الأجيال الطافرة من M0 إلى M3.

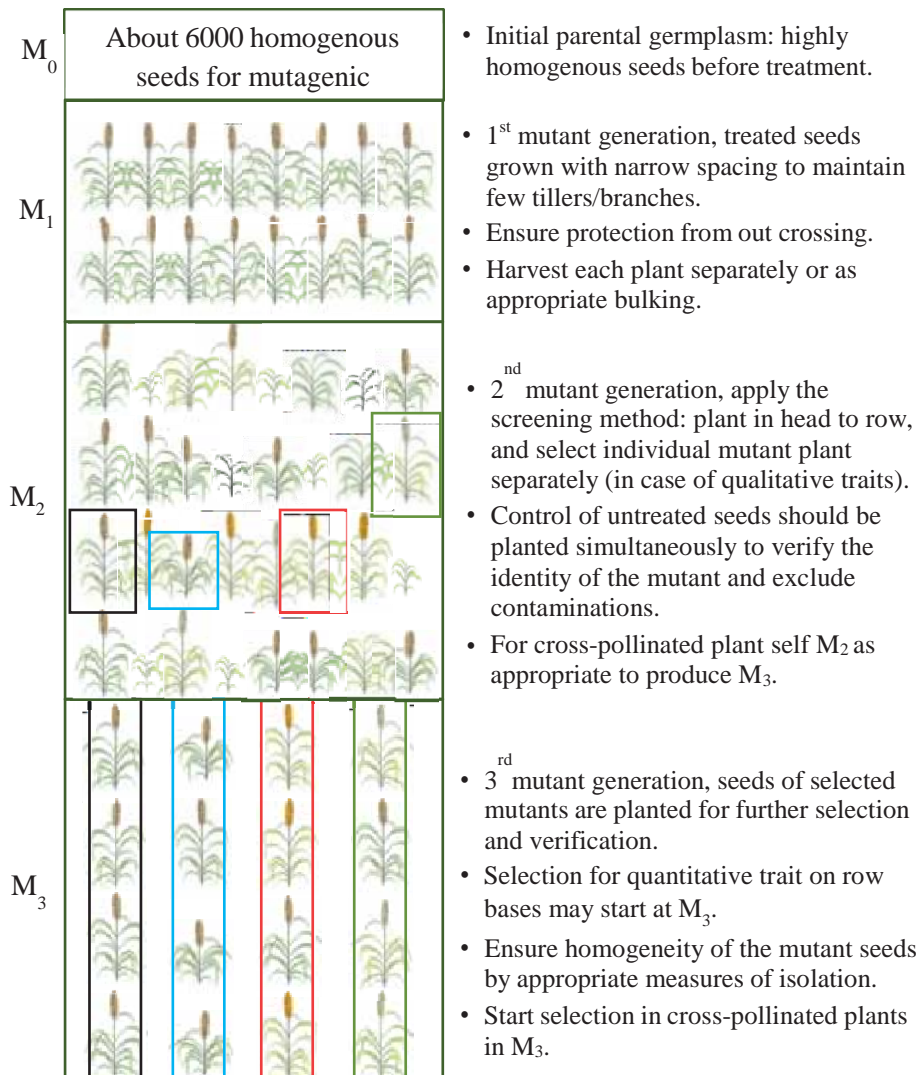


Figure 5.4. Scheme for mutant population development, identification, selection and advancement of mutants from M_0 to M_3 generation.



Figure 5.5. Segregation of M_2 tomato plants for chlorotic mutant seedlings (yellow arrows) in tomato after seed (M_0) treatment with gamma irradiation at 300 Gy. Courtesy of A. Mukhtar Ali Ghanim.

يتم عادة اختيار الصفات الطافرة للصفات النوعية، في نباتات المحاصيل ذاتية التلقيح، في جيل M_2 حيث أن معظم الطفرات - بحلول ذلك الوقت - متنحية، وبالتالي يمكن رؤية النمط الظاهري الطافر فقط في جيل M_2 في أقرب وقت ممكن وكما في الشكل 5.5 السابق، ومع ذلك، في النباتات ذات التلقيح الخلطي، من المحتمل أن تكون الجينات الطافرة متغايرة الزيجوت في M_2 حيث ينبغي ممارسة المزيد من التلقيح الذاتي لإنتاج سلالات M_3 حيث سيتم فصل الأفراد المتماثلين في الجينات الطافرة ويمكن تطبيق الاختيار. ومع ذلك، فإن الإستراتيجية المفيدة في تهجين الأنواع هي التخلص من الأليل السائد في المواقع المتغايرة للكشف عن النمط الظاهري المتنحي.

نظم التعامل مع المجتمع M_2

تعتمد جميع طرق عزل الأنماط الجينية الطافرة في النباتات المتكاثرة جنسيًا على طريقة النسب، المعدلة لمراعاة التركيب الكيميائي للنباتات M1. علاوة على ذلك، تعتمد الطرق المطبقة على إجراءات علم الوراثة المجتمعية نظرًا لأن التكرار المستحث لأي جين متحول محدد أو النمط الظاهري المتحول المرغوب يكون أقل بشكل ملحوظ في مجموعة M1 من جين معين تم إدخاله في مجموعة F1 عن طريق التهجين. بالإضافة إلى ذلك، نظرًا لأن الأنسجة الطافرة في نبات M1 قد تظهر فقط في جزء من السنبلة أو القرنة أو الفاكهة، فإن نسبة فصل الطفرات في ذرية وحدات البذور (القرون والفواكه والسنابل وما إلى ذلك) ستكون عادةً أقل من في مادة متغايرة الزيغوت أحادية المنشأ عادة. ويجب على مربى الطفرة في مثل هذه الحالة أن يختار طريقة الفحص الأكثر ملاءمة لظروفه الخاصة. يجب عليه أن يأخذ في الاعتبار المزايا والمتطلبات والجوانب الأخرى للطرق البديلة لإدارة مجموعات M2 في فحص الطفرات - تستخدم الطرق المهمة والموضحة أدناه أساسًا للحبوب ذاتية التلقيح، ولكن مع التعديلات الطفيفة المناسبة يمكن تطبيقها على الحبوب الذاتية الأخرى - أو نباتات ذاتية التلقيح إلى حد كبير.

1. الجزء الأكبر من المجتمع M1 - إذا كانت المادة الأبوية متجانسة تمامًا، ويتم التحكم في افرع او اشطاء M1 جيدًا عن طريق التباعد او القرب للنباتات، ويتم زراعة M1 في معزل، فإن الطريقة المجمعمة لإدارة المجتمع M2 يمكن أن تكون فعالة للغاية، خاصة بالنسبة لاختيار الطرز المتباينة نسبيًا للأنماط الطافرة. هنا،

يتم حصاد مجموعة M1 بأكملها ككتلة واحدة ويتم زراعة مجموعة M2 كمجموعة من النباتات الفردية التي يتم فحصها بحثًا عن أنماط ظاهرية طافرة. هذه الطريقة قابلة للتكيف مع الميكنة في جميع المراحل تقريبًا بما في ذلك اختيار المتغيرات، على سبيل المثال. الفحص الميكانيكي لحجم البذور ووزنها وشكلها وما إلى ذلك. في بعض الحالات، لا سيما عندما يكون من الأفضل التعرف على الطفرات في M3 مقارنة بـ M2، قد يكون من المرغوب فيه استخدام مجموعة من الطرق الأخرى وكما يلي:

أ. الجزء الأكبر من عدد المجتمع M1 إلى الطريقة البلكية او التجميعية من البذور المفردة لـ M2 إلى عرنوص او سنبله الى خط M3.

ب. الطريقة البلكية او التجميعية لـ M1 إلى عرنوص او سنبله لصف لذرية M2.

2. عرنوص او سنبله الى صف لـ M1- هذه الطريقة، المستندة إلى السنابل M1 التي يتم حصادها عشوائيًا، تشبه الطريقة 5 أدناه، ولكنها تختلف في أن العلاقة بين السنابل والفروع والفاكهة وما إلى ذلك، لا يتم الحفاظ عليها، مما يسمح بذلك نوع من المعاملة العشوائية يمكن مقارنتها بتلك التي تم الحصول عليها بالطريقة 4 ولكنها تتطلب ذريات M2 أصغر (ربما 25 - 30) وقابلة للتكيف مع الحصاد شبه البلكي للوحدات من نباتات M1.

كما هو الحال مع الطريقتين 1 و 5، تظل زراعة M1 بطريقة تحد من إنتاج الافرع الأولية ذات أهمية خاصة. تعتبر هذه الطريقة متوسطة في تكلفة التشغيل وهي بنفس دقة الطريقة الرابعة ولكنها أقل دقة من الطريقة الخامسة

3. مجموعة M1 بذرة واحدة أو بذور متعددة - تتضمن هذه الطريقة اختيار بذرة واحدة عشوائياً من كل سنبل M1 (أو فاكهة، فرع، وما إلى ذلك) من نبات M1 لتكوين مجموعة M2 من النباتات المفردة من الجزء الأكبر الناتج. يمكن اختيار النباتات المفردة M2 للأنماط الظاهرية الطافرة التي يمكن اختبارها بشكل أكبر للذرية في M3.

وبدلاً من ذلك، يمكن حصاد عرانيص أو سنابل M2 المفردة للاختيار ضمن سلالات العرانيص أو السنابل لـ M3 لأنماط ظاهرية طافرة جديدة. ربما تكون الطريقة الأكثر كفاءة من حيث التكلفة واستخدام المساحة، ولكن فعاليتها تعتمد على القدرة على تحديد طفرة فردية واحدة في M2 كما هو الحال مع الطريقة 1. تجدر الإشارة إلى ذلك، خاصة بالنسبة لطريقة البذرة المفردة، أن زيادة كفاءة الطريقة لا يمكن تحقيقها إلا من خلال زراعة نفس الكمية من M2 (من حيث عدد النباتات M2) كما هو الحال مع الطرق الأخرى. وهذا يتطلب معاملة كمية أكبر من المادة الأم (M0) لإنتاج عدد أكبر من المجتمع M1. إذا تم اتباع الطريقة من خلال M3 أو جيل لاحق، فإن لها ميزة إضافية تتمثل في عدم وجود زيادة في عدد المجتمع مع كل جيل. ومع ذلك، فإن العيب هو متطلبات العمل الأكبر.

4. نبات M1 للصف - في هذه الطريقة، تتم زراعة جميع البذور أو عينة من البذور المنتجة من نبات M1 معين لإنتاج جيل M2، والذي يتم بعد ذلك فحصه بحثًا عن أنماط ظاهرية طافرة. سيعتمد نجاح استخدامه إلى حد كبير على مدى التحكم في الأفرع الثانوية أو التفرع لأن الأفرع الثانوية تميل إلى تخفيف إنتاج طفرات M1 (مهمة). تُفضل هذه الطريقة عندما تكون البذور المنتجة لكل نبات منخفضة نسبيًا كما هو الحال في الفاصوليا الشائعة (Vicia faba)، والبازلاء (Pisum sativum)، والعدس (Lens esculenta)، وما إلى ذلك. ويعتمد الاستخدام الناجح في الحبوب على كفاءة الفحص والصفات المستهدفة والأرض. الوفرة والحيوية نظرًا لأن هناك حاجة إلى عدد أكبر إلى حد ما من M2. تعتبر التكلفة الإجمالية للأرض والعمالة وما إلى ذلك متوسطة بين ذرية السنبله والطريقة البليكية.

5. M1 العرنوص والسنبله والغصن والجراب والفاكهة (داخل النبات) للصف. هنا، تتم معاملة كل سنبله او عرنوص مأخوذة من M1 ككيان منفصل ويتم زرعها باعتبارها ذرية صف العرنوص او السنبله، والتي يتم بعد ذلك فحصها بحثًا عن أنماط ظاهرية طافرة. توفر هذه الطريقة أكبر قدر من الدقة فيما يتعلق بأصل الطفرة عندما تكون المادة المعاملة متجانسة وراثيًا فيما يتعلق بالأليل غير الطافر، وعندما يتم التحكم في التهجين. وذلك لأن ذرية العديد من السنابل من نبات معين نادرًا ما تحمل نفس النمط الظاهري الطافر، وعمليًا لا تكون بنفس النسبة أبدًا. ومع ذلك، فإن هذه الطريقة هي الأكثر تكلفة من حيث المساحة والعمالة والمعدات والمواد (الشكل السابق 5.4).

تفترض جميع طرق الإدارة هذه بعض السيطرة على التهجين، وقدرة المربي على تمييز سمات النمط الجيني الأصلي في أي نوع متحور مستحث.

حجم المجتمع M2

سيكون حجم المجتمع M2، إلى حد ما، دالة على المساحة المتاحة وطرق الفحص التي سيتم استخدامها. يمكن تقييم حجم العشيرة إما عن طريق أخذ عينات قليلة من البذور من العديد من نباتات M1 أو المزيد من البذور من عدد أقل من نباتات M1. إذا كان عدد نباتات M1 منخفضًا، ولكن مع خصوبة عالية نسبيًا، فيمكن حصاد 20-25 بذرة من 2-3 سنابل لكل نبات M1.

ومع ذلك، إذا كان عدد مجتمع M1 كبيرًا وذو خصوبة منخفضة، فيمكن أخذ عينات من 1 إلى 5 بذور لكل سنبل. من حيث المبدأ، كلما زاد عدد الأفراد، زادت فرص اختيار الطفرة المرغوبة. باستخدام طريقة تجميع السلالات البليكية ل M1 للطريقة الأولى من التحليل، يجب أن يكون حجم المجتمع M2 المقدر حوالي ضعف حجم M1 أو عدد سنابله كتعويض لكفاءة الانتخاب المنخفضة عادة.

باستخدام الطريقة المجمع أو البليكية للبذرة الواحدة، لا تتحقق كفاءة الإدارة إلا عند الحصول على M2 كبير كما هو الحال في طريقة ذرية أو نسل السنبل ل M1، أي إذا كان لديك 5000 نبات

M1 يمثل كل منها 3 سنابل وكل سنبله يتم تمثيلها بـ 30 البذور، فيكون مجموع البذور 30 بذرة $\times (3 \times 5000)$ سنبله، أي حوالي 450000 بذرة. ومن الناحية العملية، قد يكون من الصعب إلى حد ما الحصول على هذا العدد من البذور من فرع رئيسي واحد أو سنبله واحدة نظرًا لأنه سيلزم زراعة عدد كبير جدًا من البذور (450000) (M1 نبات) من أجل ذلك. قد تتضمن الطريقة البلوكية المعدلة تكوين عدة (2 أو 3) كتل أو مجاميع بلوكية لنسل بذرة منفردة من M1. مع الأخذ بنظر الاعتبار هو أن كل وحدة اختبار سيتم تمثيلها بالتساوي في مجموعة M2.

يعتمد الاستخدام الناجح لطريقة التربية بالطفرة على الاختيارات التي يمكن للمربي القيام بها من بين الصفات المظهرية المختارة، حيث أن الكثير منها سوف يحمل طفرات في صفات أخرى أيضا. لذلك، يجب أن يكون عدد المجتمع المزروع كبيرًا بما يكفي لضمان فرصة اختيار أكثر من مثال أو نمط واحد للطفرة ذات النمط الظاهري المطلوب. هناك أيضًا أدلة على أن أنواعًا معينة من الطفرات تظهر بشكل نادر أكثر من غيرها.

الطفرات المؤثرة، على سبيل المثال. الخصوبة، وقت الإزهار، شكل الزهرة، ارتفاع النبات ولون الأخضر الشاحب، شائعة إلى حد ما؛ بعض الأنواع الأخرى من الطفرات تكون أكثر ندرة. الطفرات السائدة نادرة، ولكن لا يزال من الممكن الحصول عليها ويمكن في الواقع البحث عنها لأغراض محددة؟. تعد الطفرات المقاومة للأمراض والحشرات نادرة نسبيًا، لكن الاختلافات الرئيسية في تواتر أنواع معينة من الطفرات قد تعتمد أيضًا على

النمط الوراثي الأصلي (خاصة في النباتات متعددة الصيغ الصبغية او المتضاعفات) وكذلك على نمط التطور الجيني للأنسجة المرستيمية بعد المعاملة مع تلك النباتات التي يتطور فيها نبات M1 من خلية واحدة أو برعم عرضي بالنسبة للمحاصيل المتكاثرة نباتياً او خضريا (VPCs)، يمكن أن يكون تواتر الطفرات أعلى منه في النباتات ذات المرستيمات متعدد الخلايا. ومع ذلك، بشكل عام، أنتجت معاملات الطفرات لحبوب اللقاح حتى الآن ترددات أقل بكثير من الطفرات مقارنة بمعاملة البذور المطفرة.

طرق الفحص وتقنيات اختيار الطرز الطافرة

تم اقتراح واختبار طرق فحص مختلفة لتحديد واختيار الطفرات المرغوبة. تعتمد كفاءة كل طريقة على عوامل تقع بشكل أو بآخر تحت سيطرة المربي منها:

1. طرق الاختيار المرئية لتحديد الأنماط الظاهرية الطافرة شائعة ويمكن أن تكون فعالة للغاية. ومع ذلك، عند التربية لصفات معينة من المهم أن يتجاهل المربي جميع الانحرافات الأخرى. ومع ذلك، قد تكون المتغيرات الجينية غير العادية ذات قيمة للدراسات الأساسية وفي تطوير قاعدة الأصول الوراثية الطافرة لأغراض التكاثر في المستقبل. كإجراء وقائي ينبغي الحفاظ على البذور من المتغيرات. غالباً ما يكون الاختيار البصري هو الأساس الرئيسي للاختيار من حيث مقاومة الأمراض، وارتفاع النبات والنضج المبكر، وتغيرات اللون، وعدم التكسر، والتكيف مع التربة،

والمناخ، وفترة النمو، وما إلى ذلك. الإجراءات المتبعة هي في الأساس نفس الإجراءات المتبعة لتقييم التنوع الذي يحدث عن طريق التهجين. ومع ذلك، مع التربية بالطفرة، يمكن استخدام التقنيات المساعدة كوسائل مساعدة للاختيار البصري ويجب أن تكون صارمة وفعالة لتركيز انتباه المربي على عدد قليل من التراكيب المحددة من مجموعات كبيرة نسبيًا. وبالتالي، فإن تقنيات الفحص الشامل (النمط المظهري والوراثي) مناسبة بشكل خاص لتربية الطفرات. وتساعد في ذلك بشكل كبير تقنيات المختبرات والبيوت الزجاجية (الأشكال التالية 5.6 و 5.7 توضح كفاءة الاختيار البصري للطفرات.

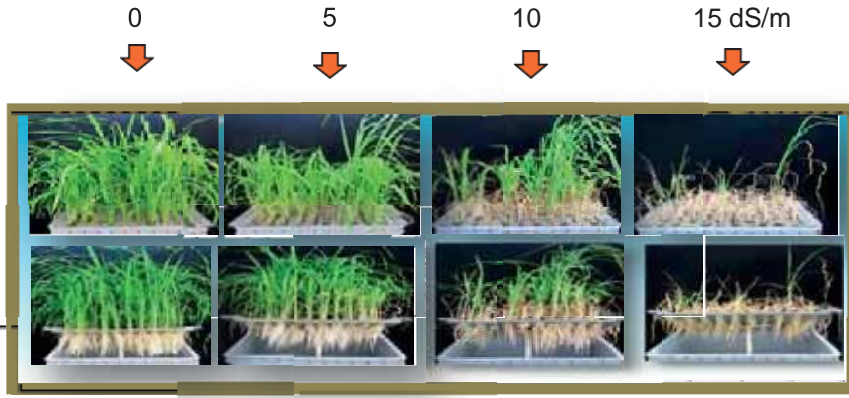


Figure 5.6. Screening for salinity tolerance, in hydroponic nutrient solution, of rice mutants at four levels of salt (NaCl_2) (0, 5, 10 and 15 dS/m) showing variation in shoot and root growth after 14 days of applied stress (The Joint FAO/IAEA Plant Breeding and Genetics (PBGL), Seibersdorf, protocols 2014). Top row depicting show and lower row for roots. Courtesy of A. Mukhtar Ali Ghanim.



Figure 5.7. Screening lentil mutants, in hydroponic solution, for drought tolerance using PEG6000 at four levels of concentrations (A, B, C and D), respectively: 0, 10, 15 and 20%. Photos were taken 6 weeks applying stress pressure protocol optimization experiment at PBGL, Seibersdorf, Austria in 2014. Courtesy of A. Mukhtar Ali Ghanim.

2. يمكن أيضاً استخدام طرق الاختيار الميكانيكية أو الفيزيائية بكفاءة عالية في فحص حجم البذور وشكلها ووزنها وكثافتها. وما إلى ذلك، باستخدام آلات الغربلة المناسبة لأنها قابلة للتكيف بسهولة لمعاملة كميات كبيرة من البذور. يتم تطبيقها عادةً على البذور المنتجة من نباتات M2 وربما تكون أكثر تكيفاً مع طريقة التجمع البلكي M1 لإدارة المواد M2. قد تكون معاملة خطوط M2 الفردية أمراً ممكناً أيضاً، ولكنها أكثر تكلفة.

3. قد تكون هناك حاجة إلى طرق اختيار أخرى، مثل الطرق الكيميائية والكيميائية الحيوية والفسولوجية والفيزيولوجية الكيميائية وطرق محددة مختلفة لاختيار أنواع معينة من الطفرات. ومع ذلك، تستخدم جميعها تقريباً معلمات بصرية لتسريع عملية الكشف. على سبيل المثال، ربما يتم البحث عن طفرات ذات محتوى قلوي منخفض باستخدام اختبارات قياس الألوان على بذور أو نباتات M2 أو حتى بذور M3؛ يمكن إجراء تحليلات البروتين بواسطة تقنيات القياس اللوني أو الكروماتوغرافي أو الترحيل الكهربائي على بذور فردية من نباتات M1، أو على بذور من نباتات M2 أو على الجزء الأكبر من سلالات نباتات M2، وتعتمد الكفاءة على الدرجة التي يمكن بها ميكنة هذه التقنيات. عند البحث عن مقاومة لمبيدات الادغال أو مبيدات الفطريات في مجموعة حساسة، يمكن تطبيق المنتجات الكيميائية على شتلات M2 في المختبر أو حتى في الحقل باستخدام تركيزات أعلى قليلاً. ويجب بعد ذلك تكرار تطبيق المادة الكيميائية على النباتات التي تظهر دليلاً على التحمل أو المقاومة لتأكيد الاستجابة، ولكن اختبارات ذرية الأفراد المختارين ضرورية أيضاً لتأكيد الأساس الجيني.

على سبيل المثال، يمكن إجراء فحص تحمل مبيدات الادغال بسهولة عن طريق زرع عدد كبير من مجتمع M2 ومن ثم تطبيق مبيدات الادغال على جميع المجتمع والاحتفاظ بأي نبات متحمل لاجراء مزيد من الاختبارات. في حين أن هذا يوفر رؤية واضحة وفعالة للغاية، فهذا يعني أنه يتم التضحية ببقية المجتمع من أجل تحديد الطفرات المطلوبة. وقد تم استخدامه بنجاح لإنتاج "نطاق" الشعير المتحمل للإيميدازولينون في أستراليا (Moody, 2015). عند اختبار الإنبات وحيوية البذور، قد تتضمن التغييرات في تفاعل الفينول لأنسجة غلاف البذور ببساطة تعريض البذور من نباتات M2 (أو مجموعة بذور M3) لتركيز معين من الفينول، ثم اختيار البذور الفردية بصرياً لإجراء التغييرات المناسبة. يمكن التعرف على عدم الحساسية تجاه الجبرلين (الذي يمكن أن يسبب قصر القامة) عن طريق رش محلول الجبرلين على الشتلات أو نقع البذور في محلول الجبرلين، ثم البحث عن الشتلات مع استجابة قليلة أو معدومة. عندما يكون من المعروف أن إنزيمًا مشاركًا في مسار معين قد تم تغييره عن طريق الطفرة، فقد يتم تصميم طرق لتحديد وجود أو عدم وجود هذا الإنزيم المعين أو سلائفه أو مشتقاته لاستخدامها في الفحص السريع للطفرات المرغوبة.

4. يتطلب فحص الشدود اللاأحيائية مثل الجفاف والملوحة والحرارة وما إلى ذلك، تحديد ضغط الاختيار والحفاظ على إجهاد موحد على مجموعات M2 و M3. أدت التطورات الحديثة في الزراعة المائية والتقنيات المخبرية إلى تطوير طرق فحص مختلفة للإجهادات اللاأحيائية لبرامج التربية التقليدية التي يمكن تكيفها بسهولة للتعامل مع المجموعات الطافرة ذات الحجم الأكبر بكفاءة

أكبر لتحديد الطفرات المظهرية في أجيال M2 أو M3 (سارسو، وآخرون، 2017 في الصحافة، بادو وآخرون، 2016). يعتمد اختيار الجيل المتحور الذي سيتم تطبيق بروتوكولات الاختيار عليه إلى حد كبير على طبيعة الصفة - النوعية أو الكمية. بالنسبة للصفات النوعية، ينبغي توسيع البروتوكول بشكل أكبر لتوفير القياس الكمي لتأثير الصفة (مثل العائد) والاختبار في بعض البيئات المتعددة لضمان استقرار ووراثة الصفة وضمان استخدامها على نطاق واسع بين المربين. في السنوات الأخيرة، حدث تقدم هائل في التتميط الظاهري عالي الإنتاجية، المعروف الآن باسم علم المظاهر أو الشكل المورفولوجي. غالبًا ما يتضمن فحص المظاهر الطبيعية تصورًا بصريًا، بما في ذلك نموذج الألوان الأحمر والأخضر والأزرق (RGB) والكاميرات متعددة الأطياف، إلى جانب برامج تحليل التصوير المخصصة (Tardieu et al., 2017). يمكن أن تشمل المظاهر المورفولوجية عند البيت الزجاجي استخدامات آلية وروبوتية. يمكن تصوير التجارب الميدانية عن بعد على مستويات متعددة (باليد أو بطائرة بدون طيار أو من الفضاء الخارجي). توفر هذه الأساليب إنتاجية غير مسبوقة ولها إمكانات هائلة في زيادة كفاءة الكشف عن الطفرات سواء من حيث الدقة أو زيادة أعداد الطفرات التي يمكن فحصها. الجانب السلبي هو أن هذه الأنظمة باهظة الثمن، خاصة الأنظمة الأكثر تطوراً، ومع ذلك، تتوفر أيضاً أنظمة بسيطة ورخيصة مثل كاميرات التصوير المحمولة باليد.

إدارة جيل M3

تعتبر اختبارات النسل ضرورية لتحديد جميع الخطوط الطافرة المفيدة لتحسين النبات وإعادة اختياره من M3؛ يتم ذلك لإثبات أن الصفة وراثية. قد يكون من الضروري إجراء المزيد من اختبارات النسل لتحقيق الاستقرار في متغير محتمل مفيد. علاوة على ذلك، ليس من غير المألوف أن يكون الطافر متماثل الزيجوت بالنسبة للصفة المرغوبة ولكنه منفصل عن الصفات الأخرى غير المرغوب فيها، ولا يزال من الممكن اختيارهم عندما يكون اختيارهم مفيداً لتحسين القاعدة الجينية للطفرة المرغوبة. في حالات نادرة قد يكون الطافر نتيجة لتعديل في التداخلات الجينية أو التفوق وفي مثل هذه الحالة، قد لا يظهر النمط الظاهري المتحول M2 مرة أخرى بين ذرية M3. إذا كان النمط الظاهري هو نتيجة تفاعل يشتمل على موضع متغاير الزيجوت، فلا يمكن تثبيته في سلالة فطرية، وهو ما قد يفسر اختفاء النمط الظاهري بين أجيال M2 و M3. إذا كان هذا نتيجة للتفاعلات بين المواقع المستقلة التي تم فقدانها بسبب التشكيلة المستقلة من الأمشاج، فإن العودة إلى M2 وأخذ عينات من M3 أكبر من شأنها أن تسهل اكتشاف النمط الظاهري والتثبيت النهائي.

في العديد من الحالات، قد تكون اختبارات ذرية M3 ضرورية للكشف عن الطفرات وخاصة تلك التي لا يمكن تمييزها بسهولة من النباتات الفردية (M2). قد يكون هذا صحيحاً بشكل خاص بالنسبة للصفات التي تتأثر بالبيئة بنسبة كبيرة على سبيل المثال. التصبغ وبعض الآليات البيوكيميائية أو الفسيولوجية. عندما يكون عدد البذور لكل نبات، أو قرنة، أو فاكهة، أو سنبله، وما إلى ذلك،

في M1 منخفضًا، فمن المستحسن تنمية مجموعة M3 من جميع نباتات M2 وفحص تلك النباتات، لأنه في بعض الحالات العملية يصل إلى 60 % النسبة المئوية من إجمالي المسوخات أو اطفرات في M3. عادة ما يكون تواتر الأفراد الطافرة في المجموعة غير المختارة أعلى في M2 منه في M3 ولكن متطلبات المساحة والاعتبارات الأخرى تجعل فحص الطفرات في M2 فقط أكثر فعالية من حيث التكلفة بشكل عام. يعد الفحص الوراثي (على سبيل المثال لطفرة في جين معين) في M2 أكثر كفاءة من فحص النمط الظاهري الذي قد يتأثر بالبيئة، ولكنه يتطلب بوضوح معرفة الجين المعني ونظام فعال لتحليله واكتشاف الطفرات التي من المحتمل أن تؤدي إلى تغييرات مظهرية.

في بعض الحالات الأخرى، خاصة في متعددات الصيغة الصبغية مثل القمح القاسي وقمح الخبز و *Triticum aestivum*، قد يكون من الضروري إعادة اختيار حتى خط M3 وتنمية ذرية M4 لعدد قليل من التراكيب المختارين ذوي النمط الظاهري الطافر للتأكد بشكل معقول من أن الصفة في السؤال هو بسبب الطفرة. في الحالات التي يرغب فيها المرء في اختبار النمط الظاهري متعدد المتغيرات لبذور طفرة محددة يتم حصادها من M3

يمكن تقديم العوائل للتجربة الحقلية مقارنة بالخط الأصلي والمقارنة المحلية المناسبة. في بعض الحالات النادرة، يمكن تطوير أصناف جديدة من طفرات M3 مفيدة بشكل خاص، ولكن من المرجح أن يكون من الضروري إجراء مزيد من التهجين والاختيار لإنتاج منتج قابل للتسويق. ويعتبر تكاثر الشعير

الكبياري، وهو الشعير الذي يحتوي على نسبة منخفضة للغاية من الغلوتين، مثلاً جيداً على هذا التأثير (Tanner et al., 2016). هنا تم دمج 3 طفرات فارغة في موقع hordein لإنشاء ثلاثية فارغة، والتي تم اختيارها بعد ذلك لأنماط ظاهرية مقبولة مع الحفاظ على الطفرات لتؤدي إلى إطلاق خط أقل بكثير من الحد الأقصى لمستويات الغلوتين التي يمكن أن يتحملها مرضى الاضطرابات الهضمية.

التلوث في المحاصيل الطافرة ذاتية التلقيح

في بعض الأحيان، قد يكون التحقق من الأصل الجيني للتنوع في المواد النباتية المعاملة بالطفرات موضع اهتمام واهتمام ليس فقط لعلماء الوراثة ولكن أيضاً للمربين. يعد التلوث مشكلة شائعة في أي برنامج لتربية النباتات ويسبب مشاكل أكبر في تربية الطفرات. من المحتمل أن تكون هذه مشكلة أكبر بالنسبة لمنظمة غير مهتمة بالتربية والتي يجب عليها شراء بذور صنف متاح تجارياً بدلاً من شركة تربية تستخدم بذور المخزون النقي الخاصة بها. يجب أن يصل مخزون البذور المتوفر تجارياً إلى مستويات صارمة من النقاء، ولكن حتى لو كان هذا 99 بالمائة، فهذا يعني أن 1 من كل 100 بذرة يمكن أن تكون ملوثة. يمكن التحكم في التلوث عندما يؤثر فقط على نسبة صغيرة جداً من المجتمع المعامل، وعندما يمكن التعرف على خصائص الملوثات بسهولة (الشكل 5.8).



Figure 5.8. Outcrossing in the pale green mutant rice fields. The dark tall green plants are likely a result from outcrossing of the wild type with the mutant. Outcrossing rates are often higher than mutation rates. Courtesy of Q. Shu.

لكن الاختلافات قد تكون أكثر دقة في الممارسة العملية حيث كان ينبغي القضاء على الاختلافات الواضحة في عملية إنتاج المخزون. ومع ذلك، ينبغي التأكيد على أنه لا خطر التلوث ولا الخوف من عدم اليقين بشأن أصل التباين المعزول من العشائر المعاملة بالطفرات يجب أن يمنع المربي من استخدام نهج التطهير عندما يكون هذا النهج أكثر كفاءة وملاءمة لتحقيقه هدف محدد. يمكن تقليل التلوث إلى مستويات يمكن التحكم فيها عن طريق اتخاذ بعض التدابير الاحترازية البسيطة. علاوة على ذلك، غالبًا ما يتم تمييز التلوثات (اعتمادًا على المصدر) من خلال المظاهر المميزة والمختلفة، ويمكن إجراء عدد من التحليلات التي تؤدي عادةً إلى استنتاج حول أصل المتغيرات الجينية المعزولة من المجموعات المجتمعية المعاملة بالطفرات. يمكن الآن إنشاء ملف تعريف كامل

للجينوم للعديد من المحاصيل بتكلفة منخفضة نسبياً ويمكن بعد ذلك فحص مجموعة من الطفرات المحتملة مقابل النمط الجيني الأصلي للتمييز بسرعة بين الطفرات الحقيقية (ملف تعريف مطابق للأصل) والملوثات (ملف تعريف مختلف).

أساس ومصادر التلوث

المصادر الرئيسية للتلوث في التجمعات المجتمعية الطافرة يمكن توضيحها كما يلي:

1. يحدث الخلط الميكانيكي في بعض الأحيان أثناء حصاد الأجيال المباشرة أو السابقة لبذور النمط الوراثي الأم من: آلات الحصاد غير النظيفة أو خلط النباتات من قطع مختلفة أثناء الحصاد، أو رعي نفس النوع من بذور المزروعات السابقة، أو نقل البذور (يدويًا، بالآلة، أو الماء، أو الحيوانات، إلخ). ومن الناحية المثالية، ينبغي زراعة الطفرات الطافرة في عزلة لمنع التهجين غير المنضبط مع أصناف أخرى من نفس المحصول المزروع في مكان قريب. يمكن أن يحدث التلوث أيضًا في مخزون البذور في أي جيل قبل أو بعد معاملته بالمطفرات ولكنه أقل أهمية بعد الاختيار والعزل في خطوط النسل لأنه يمكن إزالة التغيرات بسهولة. تزداد فرص التهجين مع زيادة جرعة الطفرات، وذلك بسبب زيادة عقم الذكور في المجتمع الطافر.

2. من المستحسن تحديد وتنقية وضمان التجانس من خلال اختبار التلقيح الذاتي والنسل لمادة النمط الجيني الأصلية المستهدفة. إن إزالة الأنواع غير المرغوب فيها قبل الإزهار سوف يقلل من التلوث المتبادل. يعد تقليل التباين الوراثي في المادة الأم قبل المعاملة من أكثر الاحتياطات فعالية ضد التلوث.

معايير التمييز بين الملوثات والطفرات

من المستحيل منع جميع الظروف التي يمكن أن تؤدي إلى التلوث، وذلك بسبب التكاليف والنفعية وتوافر المرافق المناسبة. ومع ذلك، هناك اختبارات يمكن للمربي من خلالها تصنيف الاختلافات إلى ملوث أو ملوث محتمل أو طافرة أو أصول طافرة محتملة.

أولاً: التباين الوراثي الناتج عن التلوث بسبب الخط

من المحتمل أن يكون الاختلاف من أصل ملوث كخليط ميكانيكي موجود في مجموعة الصنف الأصلي، في أي من الحالات التالية.

أن يظهر الأفراد المختلفة الذين لديهم نفس النمط (الأنماط) الظاهرية الأصلية بشكل متكرر في كل من مجموعات M2 والمجموعات الضابطة.

ثانياً. عند عدم ملاحظة أي اختلاف لنمط ظاهري معين في M2، أي أنه متجانس.

ثالثًا. انعزال التغيرات الفردية بنسبة 3: 1 تقريبًا في خط ذرية النبات M2.

رابعًا. عند العثور على تراكيب ل M2 تحمل أيضًا نطاقًا واسعًا من الاختلافات في الصفات الأخرى.

ثانياً: التباين الوراثي الناتج عن التلوث بسبب التهجين

على الرغم من أنه ليس دائمًا، إلا أنه قد يتم الاشتباه في أن الاختلاف من أصل ملوث باعتباره تقاطعًا بين M1 ومصدر خارجي - أو خليط ميكانيكي - في الحالات التالية.

1- تم تغيير فرد متغير M2 بعدة طرق و/أو يُظهر الانعزال في M3 للمتغير المحدد التباين الذي يتضمن عدة صفات مختلفة بشكل مستقل على العكس من ذلك يكون المتغير الذي يحتوي على صفة واحدة أو عدة صفات طافرة غير مستقلة التغيرات.

2- التباينات الفردية لنفس المظهر الخارجي الظاهرية بشكل متكرر بشكل غير عادي في مجتمع M2.

لا يظهر تغير مماثل في ذرية M1 أو أكثر من النباتات الشقيقة M2 ، أو السنبل، أو ذرية النبات. ومع ذلك، فإن هذا الاختبار ليس

دقيقاً، نظرًا لأن الطفرات يمكن أن تنشأ حتى في كائنات كيمييرات صغيرة نوعًا ما في نبات واحد والذي لا يحدث في الأشقاء.

3- يمكن تحديد الاب "المانح" المحتمل للصفات (الصفات) المعنية

4- يحدث عقم جزئي لحبوب اللقاح في بعض نباتات M2 أو M3 من خط ذرية مشكوك فيه، مما يشير إلى أن M1 كان عقيمًا جزئيًا وأكثر تقبلًا للتلقيح الخلطي.

الاختلاف الجيني لأصل الطفرة

نظرًا للتباين الغير متنبا به والمستحث في بادئات البذور قد ترتبط عدة أنواع من الاختلافات بشكل مباشر بحدث الطفرة، ويمكن مشاهدة الملاحظات التالية.

1- عادةً ما تظهر المتغيرات من نفس النمط الظاهري بتردد منخفض جدًا حتى في كتلة M1.

2- سوف تظهر المتغيرات كفرد إلى عدد قليل من الأفراد في فرع، أو سنبله أو ذرية نباتية، ولا تظهر أبدًا بنسبة 3:1 في أكثر من واحد أو عدد قليل من الفروع المتعددة أو ذرية السنبله، ولكن عادةً بنسبة أقل بكثير في واحد أو اثنين من مجموعة الخطوط الفرعية وتغيب عن الخطوط الفرعية المتبقية المشتقة من فروع أو سنابل نبات M1 واحد. يجب أن تكون نسبة الطفرات إلى الطبيعية أقل

بشكل ملحوظ من 1:3 أو 3:1، خاصة إذا كانت ذرية النبات M1 تتكون من عدد كاف من الأفراد (حوالي 40 - 50).

3- التباين الوراثي لأصل الطفرة المستحثة.

من المرجح أن يتم إحداث طفرة إذا كان هناك، بالإضافة إلى تلبية معايير أصل الطفرة، متغيرات مماثلة معزولة من عدة سلالات نباتية مختلفة في مجتمع معالج بتردد أعلى ذي دلالة إحصائية مما يمكن ملاحظته في مجتمع التحكم M0. عدد الطفرات التلقائية التي تحدث في نفس الوقت منخفض للغاية. يمكن بالطبع أن تحدث الطفرات التلقائية في أي وقت خلال دورة الحياة، ولكن يمكن تحديدها إلى حد ما من خلال الإجراءات المذكورة أعلاه.

تحليل التركيب الوراثي والمظهر الخارجي

بشكل عام، ولأغراض عملية، تعد المعايير الموضحة أدناه هي الأكثر أهمية، على الرغم من أنه نادرًا ما يمكن تنفيذها لعدد كبير من المتغيرات أو الصفات. ومع ذلك، نادرًا ما تكون اختبارات أعداد كبيرة من الصفات ضرورية، كما هو الحال في معظم الحالات؛ أخيرًا يستخدم المربي عددًا قليلًا نسبيًا من الصفات المنعزلة. عادة ما تسمح التحليلات التالية بالتوصل إلى استنتاج يتعلق بأصل أي متغير جيني محدد.

1. التركيب الوراثي

أ- اختبار النسل: يجب أن تتكاثر التغيرات المختارة بشكل صحيح في النسل المزروع من M3 المحدد، ولا تتشابه مع نسل M2. إذا حدث الانعزال في سلالات النباتات المنفردة M2، فيجب أن يقتصر الاختلاف على الصفة المختارة على الرغم من أنه قد يحدث أحياناً لعدد قليل (1 أو 2) من المتغيرات.

ب- Backcross والتهجينات الأخرى: يجب أن تظهر المتغيرات المختارة انعزالاً وراثياً أو جينياً بسيطاً نسبياً في التهجينات الرجعية للنمط الوراثي الأبوي وبعض السلالات الأخرى (انعزال جيني واحد أو على الأكثر 2).

2. المظهري

أ- الخصائص المورفولوجية: بشكل عام، يجب أن تظهر الطفرات قدرًا من التشابه مع النمط الجيني الأصلي باستثناء التعديلات المتعلقة بالطفرة المعنية. في كثير من الأحيان يمكن أن يكون سبب مجموعة كاملة من التغيرات في النمط الظاهري هو طفرة موروثية ببساطة، ولكن يجب أن يظل التشابه في العديد من الميزات الأخرى قائماً.

ب- الخصائص الفسيولوجية والنباتية المرضية والكيميائية الحيوية: يجب أن يظهر المتغير تشابهاً مع النمط الجيني الأصلي في عدد كبير من الصفات المقاسة، وخاصة في الصفات التي تحكمها عدة

جينات أو تعقيدات مختلفة، مثل خصائص الجودة، ومقاومة الأمراض والآفات، والصفات البيوكيميائية .

الكشف عن الطفرات المستحثة

حث الطفرة واكتشاف الطفرة عمليتان مستقلتان. إن مدى بقاء الطفرة المستحثة على قيد الحياة ونشوء طفرة على مستوى الكائن الحي يتم التحكم فيه من خلال العديد من العوامل كما هو موضح أدناه.

- التراكيب وحيدة الخلية أو متعددة الخلايا (البرعم والنسيج المرستيمي الجنيني).
- طريقة التكاثر: الخضري أو البذور. التلقيح الذاتي أو التلقيح المتبادل.
- مرحلة تمايز الخلايا البدائية التي تنشأ منها النورات (سواء كانت موجودة بالفعل في الجنين أو نشأت لاحقاً بعد حدوث الطفرة).
- عدد الخلايا البدائية المشاركة في أصل كل إزهار.
- الوقت في دورة حياة النبات عندما تنشأ مثل هذه البدائيات.
- الهندسة الوراثية للكائن الحي (سواء كانت ثنائية الصيغة الصبغية أو متعددة الصيغة الصبغية في المقام الأول).
- خصائص الموقع المشارك في عملية الطفرة - جين (جينات) مفردة أو متعددة.

العوامل الوراثية الأخرى، مثل الوراثة متعددة الجينات، والارتباط، والتفاعل الجيني وتاريخ الاختيار السابق للصفة قيد الدراسة، قد تقلل من معدلات الكشف المظهري عن الطفرة المستحثة. تؤثر المتغيرات المتعلقة بالمطفرات المستخدمة، وظروف المعاملة، وعوامل التعديل قبل وبعد المعاملة أيضًا على ظهور الطفرة المستحثة ونقلها واستعادتها (van Harten, 1998; Toker, Yadav and Solanki, 2007، انظر أيضًا الفصول 1، 2 و 3).

يمكن تحقيق الطفرة المستحثة بسهولة، ولكن مثل هذه الطفرات لن تكون ذات فائدة للمربي إلا إذا ظهرت على مستوى الكائن الحي وانتقلت إلى الأجيال اللاحقة، وهذا سيعتمد على عدة مبادئ. وبالتالي، ينبغي إيلاء اهتمام كبير لاعتماد إجراءات الفحص المناسبة كما هو موضح سابقًا.

الانتخاب بين وضمن الخلايا الجسمية

من السهل جدًا فحص الكائنات وحيدة الخلية بحثًا عن الطفرات ولا تمثل نفس المشكلات في استعادة الطفرات كما هو موضح في الكائنات متعددة الخلايا (Brunner، 1995؛). من ناحية أخرى، نباتات المحاصيل كلها متعددة الخلايا. ومن ثم فإن الخلايا التي تحمل أي طفرة يجب أن تتنافس مع الخلايا الطبيعية فيما يتعلق بالنمو والحيوية. بينما في النباتات التي يتم تكاثرها لا جنسيًا، يمكن التغلب على هذه المنافسة في المختبر، على سبيل المثال، عن طريق تربية نباتات كاملة من خلايا مفردة كما هو الحال في

Saintpaulia spp. أو نباتات الزينة الأخرى (Broertjes C، van Harten & 2013)، في النباتات التي يتم تكاثرها جنسيًا، تؤدي هذه المنافسة إلى نوعين من الانتخاب الداخلي، والذي سيدخل قبل التعبير عن أي طفرة مستحثة في البذور المعاملة في جيل M2.

تحدث العملية الأولى في الأنسجة الجسمية MI وتسمى "الانتخاب الثنائي" الذي يُعرف بأنه "منافسة بين الخلايا داخل النسيج المرستيمي" (Klekowski، 2011 و Rajarajan et al.، 2014). تحدث عملية الاختيار الثانية في أمشاج النباتات M1 ومن ثم يشار إليها باسم "الانتخاب الأحادي"، والذي يمكن تعريفه على أنه "المنافسة التي تحدث أثناء الطور الأحادي، أي بين الأمشاج" لإنتاج ونقل الطفرة إلى الخلية. الزيغوت (الشكل 5.9). يعمل الانتقاء الأحادي بشكل أكثر صرامة في حبوب اللقاح منه في البويضات. فقط الطفرة التي تمر عبر المناخل الجسمية والكميتية هي التي ستظهر تعبيرًا ظاهرًا في M2 والأجيال اللاحقة. من بين النباتات المتكاثرية جنسيًا، تكون إجراءات المعاملة أبسط بالنسبة للنباتات الخنثى أو أحادية المسكن مقارنة بالنباتات ثنائية المسكن. من ناحية أخرى، في النباتات التي يتم تكاثرها لاجنسيًا يكون الممر الخضري هو المنخل المهم لنجاح الطفرة. هناك فرق ما بين الطفرة الجسمية والكميتية دون أن يكون هناك أي انقسام اختزالي في الخلايا التي تؤدي إلى ظهور الكميات (التكاثر العذري).

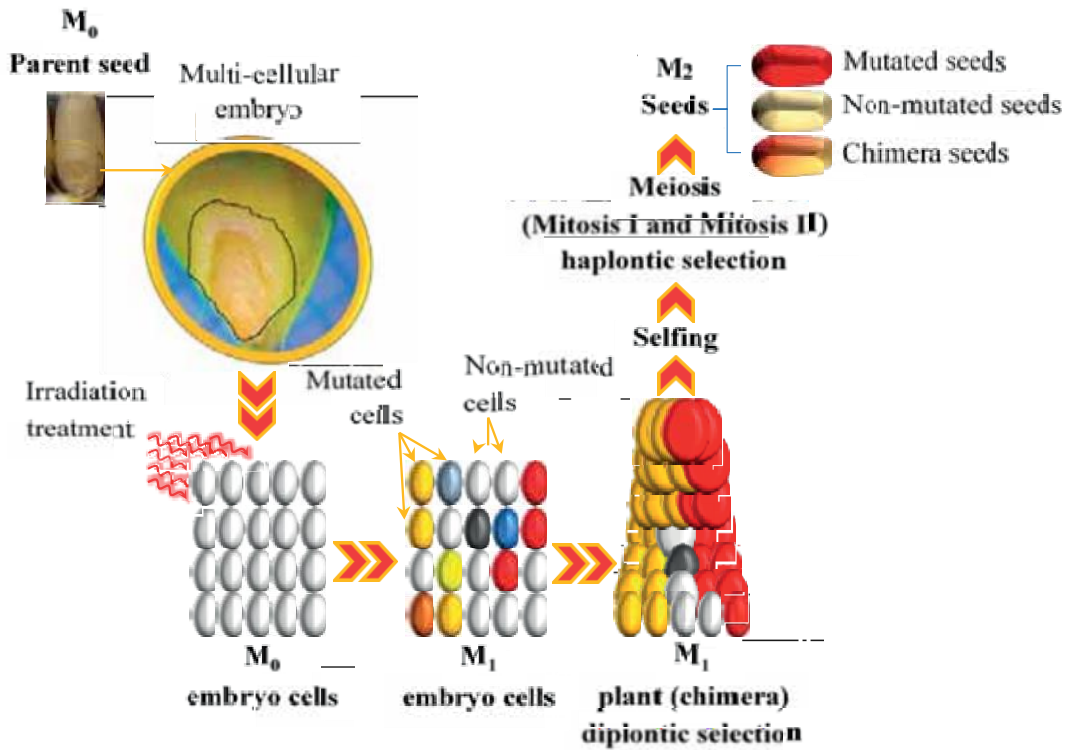


Figure 5.9. Schematic diagram illustrating the effect of diplontic (somatic) and haplontic (meiotic) selection of mutated cells, after irradiation treatment of the multi-cellular embryo, on the mutants M₂ seeds.

في الأرز والقمح، قد يختلف عدد البادئات المرستيمية الأولية من واحد إلى اثنين أو أكثر. عندما تشارك خلية واحدة فقط في عملية الطفرة، فإن الإزهار بأكمله سيحمل الطفرة. وبدلاً من ذلك، إذا كانت هناك عدة خلايا متضمنة، فقد يظهر الإزهار على شكل كيمييري. سوف تساعد نسب الانعزال ل M1 في تقدير عدد البادئات من الإزهار. ستكون نسبة الانعزال المتوقعة للأنماط الظاهرية الطبيعية إلى الطفرة 25 في المائة (3: 1) إذا كانت الخلية المفردة الأولية وحدها هي المعنية؛ عند وجود أكثر من أولية واحدة، نظرًا لأن جميعها قد لا تتحور في وقت واحد، فإن نسبة الانعزال ستكون أقل من 25 في المائة في جيل M2 مع نقص المتنحيات (Chema and Atta، 2003).

عندما ينتج النبات العديد من الاضطواء، كما هو الحال في الشعير أو القمح، فإن الأفرع الأولى قد تحمل طفرات مختلفة أكثر من تلك التي تكونت لاحقًا. ويرجع ذلك إلى الاحتمال الأكبر أن تنشأ الأفرع الأولى من عدة بادئات أولية موجودة بالفعل في الجنين النائم المعامل وبالتالي، فإن تقليل الأفرع الذي يتم تحقيقه من خلال الزراعة القريبة يمكن أن يزيد من تواتر الطفرات المستردة في M2. لقد وجد أن التباعد القريب بين نباتات الشعير المرباة من البذور المشعة يقلل من متوسط عدد الخلايا الأولية المشاركة في تنظيم السنبل، وبالتالي يزيد من مساحة القطاعات الطافرة (سينغ، 2016). ومع ذلك، لا يبدو أن الانتخاب التثائي يلعب نفس الدور في جميع الظروف التجريبية وفي جميع النباتات. أثبت فريدنبرغ

وجاكوبسن (1966) أن قمم البراعم الثانوية في الشعير تحمل طفرات أكثر من السنبللة الرئيسية. الوضع أكثر تعقيداً في النباتات ثنائية الفلقة. أظهر شيببي وميكي (1967) أيضاً أن تواتر الطفرة في البرسيم الحلو بعد تشجيع البذور كان أعلى في البراعم الثانوية الأساسية ولكنه مخفف في البراعم الرئيسية عن طريق التفرع الواسع قبل تكوين الزهور.

تم إجراء الملاحظات المقابلة في تجارب الطفرة على الادغال المعمرة مثل *Alopecurus*، حيث كان إنتاج الطفرات أعلى في محصول البذور الأول من نباتات M1 ولكنه انخفض بشكل حاد إلى الحصاد الثاني في العام التالي. لهذه الأسباب، يفضل دائماً الاحتفاظ ببذور كل نورة على حدة ونقلها إلى الجيل M2 كذرية أو ذرية نورية بدلاً من ذرية نباتية كاملة. وهذا سوف يساعد على تجنب التخفيف العددي للطفرات التي تحدث في المجتمع وبالتالي تسهيل اكتشافها.

التركيب الجيني

يؤثر التركيب الوراثي للنبات بشكل كبير على مدى نجاح الطفرة الجسمية والكميتية. في حالة وجود مواضع مكررة للعوامل الأيضية الأساسية، كما هو الحال في العديد من *polyploids*، فإن كلا من الطفرات والانحرافات الصبغية تبقى على قيد الحياة إلى حد أكبر مما هي عليه في النباتات ذات المجموع الجيني ثنائي الصبغية أو الثنائي وبالتالي، فإن تعدد الصيغة الصبغية قد يسهل

استعادة الطفرات المستحثة لاحقًا. من ناحية أخرى، قد يتم إخفاء التعبير المظهري للطفرة المستحثة بسبب تأثير التنظيم للعوامل المكررة. لذلك، في العديد من طفرات الكلوروفيل متعددة الصيغ الصبغية تكون نادرة في جيل M2. ومع ذلك، في حين أن طفرات الكلوروفيل قد تكون نادرة أو غائبة، فإن الطفرات المورفولوجية القابلة للحياة قد تحدث بتردد عالٍ في polyploids مثل قمح الخبز (Hancock، 2012).

تعد طبيعة تعدد الصيغ الصبغية مهمة أيضًا فيما يتعلق باكتشاف الطفرة المستحثة والتعبير عنها. إن فهم التنظيم الجيني من شأنه أن يساعد في صياغة إجراءات التعامل المناسبة. على سبيل المثال، في رباعي الصيغة الصبغية ذات النمط الجيني AAAA في موضع ما، قد يصبح النبات M1 AAAa إذا حدثت الطفرة من A إلى a. في M2 فقط النباتات ذات الأنماط الجينية AAAA، AAAa وسيحدث AAaa (ما لم يكن هناك انعزال عشوائي للكروماتيدات) وبالتالي، سيكون المجتمع متماثلًا ظاهريًا. قد ينشأ النمط الظاهري المتنحي فقط في M3، لذلك في مثل هذه الحالات يجب إجراء الفحص على M3 والأجيال اللاحقة.

وظيفة الموقع الجيني

كما ستحدد وظيفة الموقع المعني والجينات المجاورة له مدى قابلية انتقال الطفرات وتواترها. ومن الواضح أن حدوث طفرة في موضع ذي وظيفة استقلابية مهمة سيكون أقل احتمالًا للبقاء على قيد الحياة من طفرة غير معنية بنمو وبقاء النبات.

القابلية للتحول او التطفير

ومن المهم أن نلاحظ أن الجينات المختلفة ليست قابلة للتغيير على قدم المساواة. على سبيل المثال، عند دراسة معدل الطفرات التلقائية في الذرة، وجد أن الجين r (اللون) قابل للتغيير نسبيًا، في حين أن جينات السويداء الشمعية (wx) والمنكمشة (sh) مستقرة نسبيًا (Bennetzen and Hake, 2009). اقترح كوكس (1972) أن معدلات الطفرة في مواقع مختلفة في نفس الخلية قد تختلف بشكل كبير وأن هذه المعدلات يتم التحكم فيها وراثيًا. للتأكد من هذا الافتراض، جادل المؤلف بأن الجينات في الكائنات العليا قد يتم تنظيمها ليس وفقًا لوظيفتها، ولكن في أجزاء مختلفة من الجينوم لها معدلات طفرة جوهرية مختلفة.

تحديد وتقييم وتوثيق الطوافر

تحديد الطوافر

لأغراض عملية تربية النباتات، فإن مسألة ما إذا كان المتغير المفيد الذي تم اختياره بعد المعاملة المطفرة يمثل طفرة مستحثة، أو طفرة عفوية، أو خط متأصل بالفعل في المادة غير المعاملة أو منتج للانعزال بعد التلقيح الذاتي أو التهجين، هي مسألة ذات أهمية بسيطة. ومع ذلك، بالنسبة لأبحاث الطفرات وتقييم كفاءة تربية

الطفرات مقارنة بطرق التربية الأخرى، فإن هذا السؤال له أهمية كبيرة.

على الرغم من أنه يبدو من المستحيل التأكيد بشكل مطلق على أن المتغير قد تم إحداثه بواسطة المطفرة المستخدمة في تجربة معينة، فإن الطفرات الكلية النموذجية للمحاصيل ذاتية التلقيح مثل: الأنواع القزمية وشبه القزمية للحنطة، والنضج المبكر، والأنواع المقاومة للأمراض والتغيرات الرئيسية الأخرى يمكن اعتبارها على الأرجح ناجمة عن طفرة مستحثة، خاصة إذا لم يتم العثور على نفس التغيرات في مجموعات المقارنة. قد تساعد الاحتياطات والإجراءات المختلفة التالية في التحقق من الطفرات الناتجة.

- المعاملة الطفرية للمواد عالية التهجين "الخط النقي"، وإذا أمكن، لذرية نبات واحدة يتم زرعها ذاتياً بشكل متكرر تحت ظروف خاضعة للرقابة (عن طريق العزل الحقلّي أو التغليف).
- المعاملة الطفرية لـ "الخط النقي" الذي يتميز بأليلات غير موجودة في مواد التكاثر الأخرى.
- عزل صارم لجيل M1.
- تربية النسب من M2 إلى M3 أو M4.
- إعادة الاختيار ضمن التغيرات المحدد.
- مقارنة التغيرات مع السلالات والأصناف المماثلة.
- اختبار طيف السلالة لمقاومة الأمراض.

- تحليل التهجينات المتبادلة بين السلالة المتغايرة والسلالة الأم، إذا أمكن، مقترنة بتسلسل الحمض النووي الريبوزي (DNA) والحمض النووي الريبسي (RNA).
- تحليل الانعزال حتى M3، M4.
- اختبار تهجين المتغاير مع تراكيب وراثية أخرى توضح صفة المتغاير.
- رسم خرائط مواقع الجينات الطافرة.
- الاختبارات الخلوية للكشف عن إعادة ترتيب الكروموسومات المستحثة.
- اختبار/تسلسل الحمض النووي للجينات المرشحة عندما يتم استهداف الجين المسبب نفسه أو يمكن التنبؤ به من النمط الظاهري.

تكاثر وتقييم الطفرات المفيدة

عندما يكون الطافر واعداء، فإنه سيستغرق إحدى الدورتين الموضحتين في الشكل 10 أو كليهما؛ (1) الزيادة المباشرة عن طريق الدورات المتكررة من التلقيح الذاتي لإنتاج بذور كافية للتقييم في التجارب المكررة، أو (2) استخدامها في خطط التهجين، إما العودة إلى الخط الأبوي أو إلى خطوط النخبة الأخرى لنقل الصفة الطافرة إلى مواد التربية الجديدة.

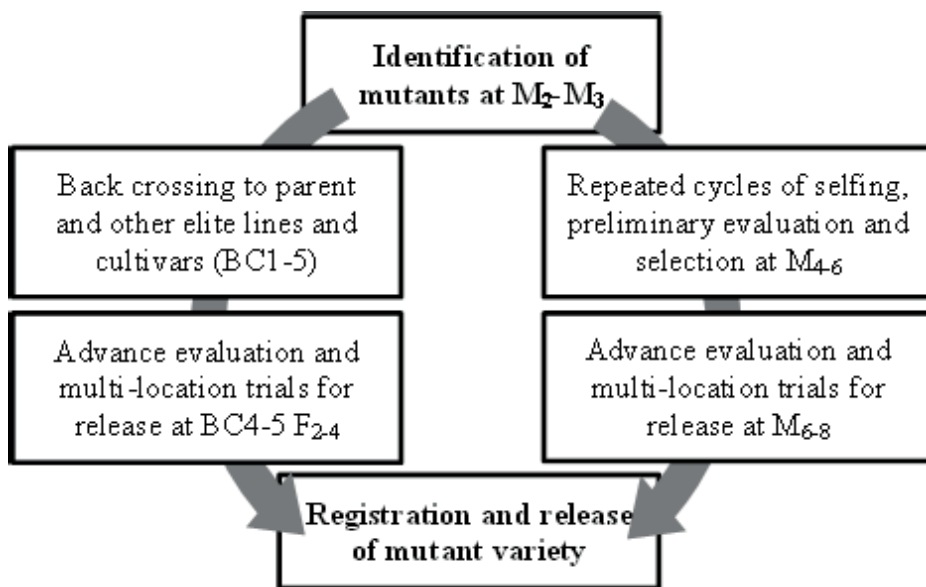


Figure 5.10. Schematic diagram showing options for advancing identified mutant in M_2 or M_3 through either direct selfing and evaluation (right course) or backcrossing to parent or elite lines and cultivars (left course) to multi-location trials, registration and release to farmers.



Figure 5.11. Examples of different types of irradiation-induced mutations on spikes (A-Hood spikes) and leaves (B-Albino, C- Striata, and D- Xantha) in barley (*Hordeum vulgare*). Courtesy of L. Gomez-Pando.

في العديد من الأنواع، يعني معدل التقدم الوراثي أن الصنف الأصلي سيكون أقل شأنًا من أصناف النخبة الناتجة، حتى لو كان الصنف الأصلي هو الأفضل المتاح في وقت التخطيط لتجربة الطفرة. من المحتمل أيضًا أن يحمل المتحول المعزول طفرات أخرى لم يتم اكتشافها والتي قد تؤدي إلى نمط ظاهري أدنى في مواقع أخرى، لذا فإن شكلاً من أشكال النقل عن طريق التهجين والاختيار أمر مرغوب فيه بشكل عام. البذور الطافرة تحتاج إلى أن تتضاعف قبل الشروع في تجارب متعددة المواقع وينبغي نشر الطفرة والنمط الجيني الأم والأصناف السائدة الأخرى التي يُقصد مقارنتها بها، في ظل نفس الظروف لإنتاج خصائص بذور قابلة للمقارنة للاختبار الحقلية.

إن طرق اختبار الطفرات المنتشرة بالبذور في التجارب المقارنة هي في الأساس نفس الطرق المستخدمة في أي نمط وراثي آخر تم تطويره حديثاً (Hertel and Lobell، 2014؛ Johnson et al.، 2017). يجب اختبار المتغيرات التي تظهر اختلافات في متطلبات النمو، والاستجابة للفترة الضوئية، وعادات النمو، والمكانة، ومقاومة الضغوط الحيوية وغير الحيوية ومكونات المحصول في نطاق واسع من البيئات، أي مواقع مختلفة، والتربة، وظروف المياه والمغذيات، ومعدلات البذور، ومسافات الزراعة. وتواريخ البذار، وما إلى ذلك. بالنسبة للتجارب الأولية، وغالبًا ما يتم تقليل عدد التكرارات لكل طافرة لصالح عدد أكبر من المعاملات والمواقع. من المتوقع وجود منافسة بين الأصناف عندما تختلف قطع الأراضي المتجاورة بشكل كبير في المكانة و/أو نمط النمو ويكون نوع النمو الطافر نادرًا بين الأصناف التي تم اختبارها. ولا يمكن التنبؤ به على سبيل المثال، بما إذا كانت الأصناف الأطول أو الأقصر تتمتع بميزة في تجربة معينة. يمكن التقليل من تأثيرات المنافسة من

خلال الشكل والحجم المناسبين لقطع الأرض واستبعاد الصفوف الحارسة من تقييم قطعة الأرض.

تتضمن التفاصيل المهمة للتوثيق ما يلي: الأصل (النسب) وسلالة المادة المعاملة (عدد الأجيال بعد التهجين)، والمواد المطفرة، والمعاملات السابقة و/أو اللاحقة المطبقة، ونوع المطفرة والجرعة المستخدمة، والجيل الطافر من الانتخاب الأول والاختلافات المورفولوجية والفسولوجية بين النمط الجيني الطافر والنمط الجيني الأم. تجدر الإشارة إلى أنه في معظم أنظمة تسجيل الأصناف الوطنية وإطلاقها توجد مبادئ توجيهية ثابتة لتقييم الأنماط الجينية الجديدة لغرض الإطلاق، بما في ذلك الأصناف الطافرة

تسجيل التجارب وتوثيق الطوافر

تسجيل التجارب

يجب ذكر جميع الحقائق والمعلومات ذات الصلة بتجارب تربية الطفرات عند كتابة التقارير، ويجب دائماً تقديم النتائج بطريقة واضحة ومفهومة ويجب أن تتضمن جميع التفاصيل المهمة. ومن المهم بشكل خاص أن يتم النظر بعناية في البروتوكولات التي تمت صياغتها لإجراء التجارب والتي يمكن بعد ذلك الإبلاغ عنها في المنشورات، وفقاً لشكل موحد. هناك العديد من الأمثلة الممتازة، ذات التخطيط المتغير، التي توضح توثيق التجربة ونشرها. على سبيل المثال، يرد أدناه مخطط عام.

I. عنوان التجربة

2- تحديد التجربة: الموقع، الباحثون الرئيسيون، رقم التجربة، التاريخ، إلخ.

3- أهداف محددة

4- المواد والطرق

أ. الثوابت في التجربة

1. المادة

أ. المادة البيولوجية الأصلية (الاسم ورقم التعريف والنسب إذا كان ذلك مناسباً)؛ الإشارة إلى المصدر، والتركيب (مجمّع أو سطور)، وما إلى ذلك.

ب. ومن الناحية المثالية، ينبغي تسجيل عينة فرعية من المادة الأبوية في بنك الجينات.

ج. المطفرات، المصدر، الطاقة، معدل الجرعة، اختبارات التأكد من النقاء، إلخ.

2. الطرق

أ. المعاملة (المعاملات) المسبقة، بما في ذلك التحضير للمعاملات.

• جرعة (جرعات) المطفرات: (1) الإشعاعات ومعدلها وزمنها (أوقاتها)، والمسافة من المصدر؛ (2) المواد الكيميائية والتركيز (التركيزات) والوقت (الأوقات) وتكوين وكمية محلول المعاملة، وما إلى ذلك.

• شروط المعاملة (المعاملات).

ج. بعد المعاملة؛ التعامل مع المواد المعاملة، والتخزين، والزراعة، وما إلى ذلك.

ب. المتغيرات التجريبية: سجل المعاملة وكرر الأرقام بالتسلسل اعتماداً على المتغيرات التجريبية المحددة، مع عرض تفاصيل التصميم التجريبي بالنسبة لأهداف محددة؛ ترتيب المتغيرات (سواء كانت المواد و/أو الطرق والمعاملات والتكرارات) وفقاً للقائمة أعلاه.

5- النتائج

6- ملخص واستنتاجات

7- مراجع

العوامل المؤثرة على نجاح التربية بالطفرة

يتم قياس نجاح برنامج التربية الطفرية بشكل رئيسي من خلال إنتاج أصناف متفوقة، ولكن أيضاً من خلال طيف الطفرات وجودتها والتعرف عليها واستعادتها من مجموعة طافرة معزولة. حتى مع النظر الكامل لمتطلبات تجارب الطفرة، هناك عوامل أخرى يمكن أن تحد من النجاح في استعادة الصفة الطافرة المستهدفة. وتشمل هذه بشكل رئيسي الحالات الموضحة أدناه.

الاختلافات بسبب النمط الجيني

توجد أدلة كثيرة على أن الاختلافات الجينية، حتى عندما تكون صغيرة مثل الاختلافات الجينية المفردة، يمكن أن تحدث تغييرات كبيرة في الحساسية للإشعاع، والتي بدورها تؤثر ليس فقط على المعدل الإجمالي

ولكن أيضاً على طيف الطفرات القابلة للاسترداد ودرجة الخلفية (زمان) وآخرون، 2007). على الرغم من أنه لا أحد قادر على التنبؤ بتأثير نمط وراثي معين على طيف الطفرة، فإن اختيار المادة الأم يعد عاملاً رئيسياً في أي برنامج في تربية للطفرات (Bradshaw, 2016).

تتوفر معلومات أكثر تحديداً فيما يتعلق بتأثير المستوى الصبغي على طيف الطفرة. في الأنواع ثنائية الصيغة الصبغية، تحدث الغالبية العظمى من الطفرات في جينات متنحية مفردة. ومع ذلك، فقد تم ملاحظة الانحراف عن النسبة الطبيعية 3:1 بسبب نقص المتنحيات في كثير من الأحيان. نادراً ما تحدث الطفرات الحيوية المهيمنة، في الواقع تكون في الغالب قاتلة أو شبه مميتة في الحالة النقية، على عكس الكائنات ثنائية الصيغة الصبغية، حيث أن الجرعة المطلوبة لإنتاجها من غير المرجح أن تؤدي إلى نباتات قابلة للحياة. يتم إعادة تكرار العديد من الجينات في polyploids، مما يزيد من قدرتها على تحمل حمل طفري عالي، بما في ذلك الانحرافات الصبغية الإجمالية، دون أي آثار سلبية واضحة. ويؤدي هذا إلى اكتشاف أكثر تواتراً للطفرات السائدة وشبه السائدة بين هذه الأنواع.

لتخزين المؤقت المظهري هو خاصية أخرى من خصائص polyploids التي تحد من قابلية تغير العديد من الصفات، وخاصة تلك الضرورية لحياة النبات بأكملها: على سبيل المثال. عملية تكوين الكلوروفيل. وبالتالي، تتناقص طفرات الكلوروفيل مع زيادة مستوى الصيغة الصبغية Stadler, 1929 التي استشهد بها Jankowicz- (2017) Cieslak, Mba and Till); ومع ذلك، فإن المعدل الإجمالي للطفرة يزيد. على سبيل المثال، في *Triticum spp*. كان معدل الطفرة الإجمالي أعلى بحوالي ثلاثة أضعاف في القمح السداسي الصبغي مقارنة بالأنماط الجينية الرباعية والثنائية الصبغية (Rajarajan et al.)

(2014). توجد أيضًا اختلافات في الاستجابة الطفرية بين الأنواع التي لها نفس المستوى الصبغي وبين الأصناف داخل نفس النوع. أظهرت أحاديات الجسم المختلفة لـ *Triticum aestivum* اختلافات في تكرار الطفرة بسبب العوامل التي تتحكم في تطور الكلوروفيل (Lundqvist، 2014؛ Umavathi and Mullainathan، 2016؛ Protić et al.، 2013). في مراجعة حول التكاثر الطفري في النباتات Gottschalk (2012) and Wolff (2012) أورد نتائج تؤكد أنه كلما كانت الأصناف أقرب في أنماطها الجينية، كلما زاد التشابه في أطرافها وتكرار الطفرات.

في دراسات الطفرات المستحثة في الصفات الكمية، لم تكن الاختلافات في مستوى الصيغة الصبغية بنفس أهمية النمط الجيني في نفس المستوى الصبغي وبالتالي، يبدو أن التباين الوراثي في خلفية النمط الجيني هو عامل مهم. وفقًا للعديد من المؤلفين، يمكن تحسين تلك الصفات التي أظهرت تباينًا أكبر في الخلفية بسهولة أكبر وتعطي توقعات أفضل لتحسن الطافر.

في أنواع النباتات الحولية أو المعمرة يبدو من الأفضل استخدام الطرز الوراثية المزهرة المبكرة للمعاملة المطفرة ولحصاد البذور من نباتات M1 في الموسم الأول. يمكن نقل أي صفات طافرة ذات قيمة لاحقًا بسهولة تامة إلى أنماط وراثية متأخرة النضج، إذا كانت ذات قيمة تربية معينة (Wani et al., 2014).

يمكن أن يؤثر تغاير الزيغوت كخاصية وراثية أيضًا على نوع الطفرة وتكرارها. تكون العديد من polyploids أقل حساسية لانحرافات الكروموسوم إذا كانت في حالة متغايرة الزيغوت أو الحالة الهجينة أو الخليطة (Bradshaw، 2016). وكما قال جريجوري (1960) "إن

العامل المحدد الرئيسي في إنتاج الطفرة واستعادة الطفرة هو التنيم اوالمخزون الجيني للكائن التجريبي وليس نوع الطفرات المستخدمة. وبالتالي، بالنسبة لمربي النبات، فإن معرفة ما يمكن أن يسمى توقعات الطفرات في مادته قد تكون أكثر أهمية من حل آلية التغير الطفري على المستوى دون المجهرى.

نوع المطفرة والجرعة

إن الاختلاف في طيف الطفرة بين مصادر التشعيع المختلفة واضح في طيف تغيرات لون الزهرة المستحثة بعد معاملة الطفرات (Jain وآخرون، 2010). على سبيل المثال، تنتج الإشعاعات المؤينة بكثافة مثل المصادر المختلفة لشعاع الأيونات طفرات الكلوروفيل أكثر نسبيًا من النوع ألبينا، والسترياتا، والزانثا (الشكل 5.11)، في حين أن تردد النوع الأخضر هو الأعلى بعد المعاملة بأشعة جاما. وبالتالي، فإن فرصة اختيار الطفرات المرغوبة قد تزداد بشكل كبير عن طريق توسيع نطاق اختيار الطفرات. ومع ذلك، كما نوقش سابقًا، إلى جانب المطفر، هناك عوامل أخرى تؤثر أيضًا على طيف الطفرات ونوعية الطفرات المستحثة.

مشكلة أخرى في جودة الطفرة هي عدد أحداث الطفرات التي تحدث في نفس الخلية المرستيمية في وقت المعاملة والتي تنتقل إلى الأجيال اللاحقة. يكون عدد الأحداث المرغوبة أقل بكثير من الأحداث غير المرغوب فيها، وبالتالي فإن عدد النباتات الطافرة التي تحمل التغييرات المرغوبة فقط سوف يتناقص بشكل أكبر إذا تم إحداث أكثر من طفرة واحدة في كل خلية. ويمكن اتخاذ عدة تدابير لتجنب هذه النتيجة غير المرغوب فيها. أولاً، لا ينبغي للمرء أن يستخدم جرعة عالية جداً من أي

مطفر. ثانياً، ينبغي للمرء أن يأخذ في الاعتبار بجدية أن المطفرات الفائقة، التي تعطي معدلات طفرة لا تقل عن 50 في المائة على أساس سلالات النبات أو السنبل، قد لا تكون مفيدة على الإطلاق لأغراض تربية الطفرات. ثالثاً، إذا تم إحداث معدلات طفرة عالية، فيجب السماح لها بالانعزال، ويجب إجراء اختيار الأنواع المفيدة في M3 أو الأجيال اللاحقة (Hansel, Simon and Ehrendorfer, 1972). ومع ذلك، ينبغي للمرء أن يدرك أن التقنية الأخيرة لن تقضي على تلك الطفرات غير المرغوب فيها والتي ترتبط ارتباطاً وثيقاً بالصفة المرغوبة في نفس الكروموسوم.

في تجارب التشيع المتكررة، يمكن زيادة عدد الطفرات القابلة للاسترداد، ولكن نظراً لزيادة عدد الطفرات المتعددة أيضاً، فقد تنخفض جودة الطفرات من وجهة نظر التكاثر (Micke, 1969). قد يبدو من الحكمة السماح بفصل مادة الطفرة، أو بذل نفس الجهد كما هو الحال في المعالجات المطفرة المتكررة في تهجين النباتات المختارة في جيل M1 لتنتج التراكيب الطافرة، أو نقل الموقع المتحور إلى تراكيب وراثية أخرى. قد يؤدي كلا الإجراءين إلى تغيير جودة الطافرة في الاتجاه المطلوب.

تعدد الأشكال المظهرية والارتباط

بشكل عام، يبدو أنه من المستحيل تقريباً العثور على طفرة في كائن حي تؤدي إلى نمط ظاهري متباين واحد فقط مقارنة بنمطه الجيني البري الأولي. على سبيل المثال، الطفرات الناتجة عن النباتات ذات اللون الأخضر الباهت تؤدي أيضاً إلى انخفاض نمو النبات العام وتأخر النضج، وفي معظم الحالات يمكن ملاحظة مجموعة من المتغيرات

المتميزة وتنتقل هذه المجموعة ككل من جيل متحور إلى الجيل التالي وتظهر في الغالب نسبة الفصل 1:3. ومن الناحية النظرية هناك ثلاثة تفسيرات محتملة لهذا السلوك:

- أ. جين واحد متحول هو المسؤول عن مجموعة الصفات الجديدة بأكملها
- ب. تم فقدان جزء صغير من الكروموسوم الذي يحتوي على عدة جينات
- ج. وقد تحورت العديد من الجينات المرتبطة بشكل وثيق أو المجاورة.

سيحدث الانعزال الأحادي الهجين في جميع هذه الحالات، ولكن الحالة الأولى فقط هي مثال حقيقي على عمل الجينات متعددة السيطرة أو الاتجاهات. الحدثان الآخران يحاكيان التأثير متعدد المظاهر لجين واحد، على الرغم من فقدان العديد من الجينات أو تغييرها. ومن المستحيل عملياً، في معظم الحالات، تحديد أي من هذه الاحتمالات قد تتحقق؛ ولذلك، فإن مصطلح "الفعل الجيني متعدد المظاهر" يستخدم بشكل شائع في الأدبيات لمجموعة كاملة من هذه الظواهر.

في كثير من الأحيان ، على الرغم من وجود الكثير من الأدلة على القدرة التفاضلية على كسر الكروموسومات لمختلف الطفرات، إلا أنه لا توجد حتى الآن دراسات منهجية فيما يتعلق بمدى ارتباط التأثيرات متعددة المظاهر بالطفرات الناجمة عن طفرات معينة. إن التقدم في تسلسل الجينوم الكامل للطفرات والاباء سيمكن من التحديد الدقيق للجينات المتأثرة بالطفرة وربطها بالنمط الظاهري المتحول (Caldwell et al., 2010; Jannink, Lorenz and Iwata, 2004; انظر أيضاً الفصل 8.3).

يعد هذا "التعدد الاشكال المظهرية" عائقاً خطيراً في الأداء العملي لتربية الطفرات. لا يمكن استخدام عدد كبير من الطفرات التقدمية للنباتات

المزروعة المختلفة لأغراض التربية العملية لأن بعض الصفات السلبية يتم دمجها مع المفيدة. إذا كان الطيف الكامل للتغيرات المظهرية يرجع حقًا إلى عمل جين واحد، فقد لا يكون هناك أمل في استخدام الميزة الإيجابية للتربية العملية، لأنه لا يمكن فصلها عن الصفات السلبية.

ومع ذلك، هناك بعض الأدلة من التجارب التي تشير إلى أن التفاصيل المحددة لهذا الطيف متعدد المظاهر الحقيقي يمكن تغييرها عن طريق نقل الجين المتحور إلى تركيب ذوقاعدة وراثية مختلفة بما في ذلك النمط الجيني الأصلي (Gottschalk and Wolff, 2012). لذلك، إذا كانت سمة جديدة مهمة وقيمة حقًا هي جزء من طيف متعدد المظاهر، فيجب تهجين المتحول مع عدد كبير من الأصناف أو الأنماط الجينية المختلفة للأنواع المعنية من أجل تقليل شدة أو قوة الصفات السلبية للصفة.

إذا كانت "الطفرة متعددة الأشكال المظهرية" ناتجة عن نقص، فليس هناك إمكانية للإصلاح الجزئي. ولكن إذا كان مثل هذا المركب ناتجًا عن جينين متجاورين أو أكثر يعملان بشكل مستقل، فمن الممكن، من حيث المبدأ، فصل الصفات الإيجابية والسلبية عن طريق التهجين واختيار الهدف. ومن المعروف بعض الأمثلة التي يمكن من خلالها تحقيق مثل هذا الفصل (Gottschalk and Wolff, 2012). ومع ذلك، فإن تكرار حدث إعادة التركيب هذا سيكون منخفضًا للغاية بسبب الارتباط الوثيق جدًا بين الجينات المعنية. لذلك قد يكون من المفيد فقط البحث عن حدث إعادة التركيب النادر هذا لأهداف تربية مهمة معينة لا يمكن تحقيقها بوسائل أخرى.

أخيرًا، تجدر الإشارة إلى أن العديد من صفات الكائن النباتي يتم التحكم فيها من خلال أنظمة متعددة الجينات وأن الجينات المختلفة لمثل هذا النظام غالبًا ما تطور أطيافًا متعددة المظاهر مميزة، كما يمكن أن يظهر،

على سبيل المثال، في العديد من طرز الشعر (Kuczyńska et al،
2013؛ لوندكفيست، 2014).