كما أن مثلمة الدنا يمكن أن يزيد من إحداث التباينات فى الصفات الكمية بسبب احتمال تأثيره على عديد من الجينات فى آن واحد هذا إلا أن التباينات الناتجة تكون من النوع الـ epigenetic، ولا يترتب على مثلمة الدنا سوى حالة من عدم الثبات الوراثى (عن Brar & Jain ١٩٩٨، و Jain ٢٠٠١، و Chahal & Gosal ٢٠٠٢)

أمثلة لبعض أنواع تباينات المزارع

جُمعَت التباينات الوراثية التى ظهرت فى مزارع الأنسجة لمختلف الأنواع المحصولية بين الصفات النوعية والكمية، ومن أمثلتها ما يلى

١ — العقم الذكرى فى الذرة.

٢ — المحتوى البروتينى المرتفع فى كل من الأرز والترتيكيل

٣ -- محتوى السكر المرتفع فى قصب السكر

٤ - التبكير فى الذرة

٥ — التغيرات فى طول النبات، والسفا، وعدد الخلفات، ولون الحبوب، وموعد ظهور السنابل، والبروتين الجلوتينى gliadin protein، والألفا أميليز فى القمح

٦ — تحمل مبيد الحشائش أترازين atrazine فى الطماطم والذرة، والجلايفوسيت فى التبغ

٧ — المقاومة للأمراض فى الذرة، وقصب السكر، والمسترد، والبطاطا

٨ — تحمل الملوحة فى الأرز.

٩ — ارتفاع محتوى الليسين والثيونين فى الحبوب

١٠ — زيادة قوة نمو البادرات فى الخس.

١١ — انعدام المفصل فى عنق ثمار الطماطم (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢)

ولقد أمكن العثور على تباينات مرغوبة فيما فى مختلف أنواع المزارع، كما يتبين من الأمثلة التالية:

أ — مزارع الخلايا والكالس

انتخبت سلالات طفرية كثيرة من مزارع الخلايا سواء أكان ذلك بعد تعريض المزارع للعوامل المطفرة، أم بدون ذلك التعريض. وكانت أبسط طرق الانتخاب

وأكثرها شيوعًا هى الانتخاب المباشر بتعريض مزرعة الخلايا لمستويات عالية — إلى درجة السمية — من مركبات معينة، بحيث لا تتبقى فى المزرعة سوى الخلايا المقاومة لهذه المركبات، لتتكاثر، وتصبح سلالات طفرية جديدة. ويمكن التأكد من مستوى المقاومة فى هذه الطفرات بإعادة زراعة السلالات الطفرية فى مستويات أعلى من هذه المركبات وقد أمكن — باتباع هذه الطريقة — انتخاب طفرات مقاومة لشابهات الأحماض الأمينية، ومضادات الحيوية، ومبيدات الحشائش، وسموم الفطريات، والبكتيريا المرضية، وكلوريد الصوديوم .. إلخ، وكذلك سلالات أعلى فى القيمة الغذائية ويعيب هذه الطريقة عدم صلاحيتها للانتخاب لعديد من الصفات المحصولية المهمة

وتجدر الإشارة إلى كثرة ظهور الطفرات فى مزارع الخلايا والكالس، دون الحاجة إلى تعريضها للعوامل المطفرة كما لم يمكن — فى بعض الحالات — زيادة معدل حدوث الطفرات بمعاملة مزارع الأنسجة بالعوامل المطفرة. ولمزيد من التفاصيل عن هذا الموضوع يراجع Gonzales & Widholm (١٩٨٥).

٢ مزارع البروتوبلاست.

برغم أن مزارع البروتوبلاست تعد أكثر من مزارع الخلايا والكالس ثباتا من الوجهة الوراثية . إلا أنه تظهر بها أيضًا بعض التغيرات الوراثية التى تعطى عند إكثارها سلالات جديدة، يطلق عليها اسم Protoclones. وقد انتجت بهذه الطريقة سلالات جديدة من صنف البطاطس رصت بربانك Russet Burbank تميزت باختلافات نوعية وكمية عن الصنف الأصلى. وتكمن المشكلة الحقيقية لمزارع البروتوبلاست فى قلة الأنواع النباتية، التى أمكن تمييز نباتات كاملة منها (عن Sink ١٩٨٤). ولمزارع البروتوبلاست أهميتها الكبيرة فى إحداث التباينات الوراثية بالنسبة للنباتات العقيمة التى تكثر خضريًا، والنباتات ذات دورات الحياة الطويلة جدًا، لأن التغيرات الوراثية التى تظهر فى هذه المزارع تكون طفيفة؛ مما يسمح بالاستفادة منها فى تطوير المحصول بصورة تدريجية (Power & Chapman ١٩٨٥). ولمزيد من التفاصيل عن هذا الموضوع .. يراجع Bright وآخرون (١٩٨٣).

وعندما دُرِس معدل ظهور التباينات الوراثية الجديدة فى سلالة الخيار Borszczagowski الذى صاحب خمس طرق مختلفة لتجديد النمو .. كانت النتائج، كما يلى.

طريقة تجديد النمو	التباينات الوراثية الجديدة (% من السلالات)
micropropagation	صفر
direct leaf callus regeneration	قليلة جدًا
callus regeneration	٥,٩
recurrent leaf callus regeneration	٤٢,٨
direct protoplast regeneration	٩٠

هذا .. ولم تظهر النباتات الرباعية التضاعف إلاّ عندما كان تجديد النمو بطريقتى leaf callus regeneration، و recurrent leaf callus regeneration، حيث بلغت نسبة النباتات المتضاعفة ٤,٧، و ٢٨٪، على التوالى (Plader وآخرون ١٩٩٨).

٣ — مزارع الجاميطات:

يطلق على التباينات التى تشاهد بين النباتات التى يتجدد نموها من مزارع الجاميطات اسم تباينات سلالات الجاميطات gametoclonal variation، وذلك مقارنة بتباينات السلالات الجسمية somaclonal variation الذى يُتحصل عليه من مزارع الأنسجة الجسمية. ويمكن الحصول على تباينات سلالات الجاميطات من زراعة الخلايا الجاميطية أو مشتقاتها. وبخاصة مزارع المتوك والـ microspores (عن Chawla ٢٠٠٠).

ولمزارع حبوب اللقاح أهمية خاصة فى هذا الشأن؛ ويرجع ذلك إلى أنها أحادية المجموعة الكروموسومية، وهو ما يعنى ظهور الطفرات المتنحية بمجرد حدوثها، يلزم فى هذه الحالة تعريض حبوب اللقاح للعامل المطفر، ثم زراعتها لإنتاج النباتات الأحادية التى تُقيَّم بدورها لتمييز النباتات الحاملة للطفرات المرغوب فيها، وهى التى تُضاعف — بعد ذلك — بالكولشيسين؛ لإكثارها والمحافظة عليها. وتزداد أهمية النباتات الأحادية عند وجود أكثر من طفرة متنحية فى النبات الواحد؛ حيث تظهر جميعها فى آن واحد، دونما حاجة إلى إجراء التلقيح الذاتى، وزراعة أعداد كبيرة من

نباتات الجيل الطفرى الثانى؛ للتعرف على النباتات التى تحمل جميع الطفرات المتنحية بحالة أصيلة مثلما يتطلب الأمر فى النباتات الثنائية

ومن المزايا الأخرى لمزارع حبوب اللقاح .. أن الطفرات المتكونة تظهر فى جميع خلايا النبات الأحادى، ولا تكون على صورة كيميرا، كما يحدث فى النباتات الثنائية المجموعة الكروموسومية ويمكن إنتاج الطفرات إما بتعريض المتوك للعوامل المطفرة قبل زراعتها، وإما بإنتاج نباتات أحادية من مزارع متوك غير معاملة، ثم تحضير مزارع خلايا أوبلاوتوبلازم منها، ومعاملتها بالعوامل المطفرة؛ لإحداث الطفرات المقاومة لمركبات كيميائية معينة، أو التى تتحمل ظروفاً بيئية خاصة، ثم إنتاج نباتات كاملة منها

وبالنسبة لأصناف برامج التربية التى اعتمدت على تباينات المزارع .. فهى متنوعة كما يتبين من الأمثلة التالية:

● تعددت محاولات استخدام مختلف أنواع المزارع من قبل مربى النبات لانتخاب سلالات مقاومة للآفات، أو لظروف بيئية معينة، وعلى سبيل المثال تمكن Bourgeais (١٩٨٧) من زيادة القدرة على تحمل الملوحة فى مزارع صنف الطماطم St-Pierre بتكرار زراعتها أربع مرات فى بيئات تحتوى على تركيزات متزايدة من كلوريد الصوديوم، وصلت إلى ١٠٠ ملى مول، واستخدام فى هذه المزارع إما القمة الطرفية للسيقان، وإما كالس حصل عليه من جذور وسيقان النباتات. ويذكر Stavarek & Rains (١٩٨٤) أنه أمكن انتخاب سلالات خلايا Cell Lines مقاومة للملوحة من مزارع الخلايا لعدة محاصيل زراعية، منها الفلفل، والبرتقال، وقصب السكر، والبن، والأرز، والقلقاس، والبرسيم الحجازى، والتبغ وتكمن المشكلة — فى برامج التربية التى من هذا النوع — فى صعوبة الحصول على نباتات كاملة من سلالات الخلايا المنتخبة لمقاومة الملوحة (أو غيرها من العوامل البيئية)؛ ففى البرسيم الحجازى كانت المزرعة التى أجرى فيها الانتخاب قديمة، وحدث فيها تغيرات وراثية فى صفات كثيرة إلى درجة لم تسمح بنمو النباتات التى تميزت منها لاختبار مقاومتها للملوحة وإكثارها، وفى الأرز كانت النباتات المقاومة للملوحة الناتجة من سلالات الخلايا عقيمة بدرجة

عالية، ولكن أمكن الحصول على نباتات من مزارع التبغ كانت قادرة على النمو فى محلول مغذ يحتوى على ٦٢ ٢٪ كلوريد صوديوم

• فى مجال التربية لمقاومة التركيزات المرتفعة من عنصر الألومنيوم (حيث يصل العنصر لتركيزات عالية إلى درجة السمية فى الأراضى الحامضية) .. أمكن انتخاب عدة سلالات خلايا Cell Lines من صنف الطماطم مارجلوب Marglobe عند زراعتها فى بيئة مغذية، تحتوى على ألومنيوم فى صورة Al-EDTA بتركيز ٢٠٠ ميكرومول، لكن لم يمكن إنتاج نباتات من هذه المزرعة لأن الكالس كان مسنًّا. وأمكن فى دراسة أخرى انتخاب سلالات خلايا من الجزر مقاومة للتركيزات المرتفعة من الألومنيوم، وهو على صورة كلوريد الألومنيوم، وأمكن إنتاج نباتات كاملة منها وقد لقحت هذه النباتات ذاتيًا، واختبرت بادراتها فى محلول مغذ، يحتوى على تركيز مرتفع من كلوريد الألومنيوم، ووجد أنها كانت على درجة عالية من المقاومة

• أمكن كذلك الاستفادة من مزارع الخلايا فى إنتاج سلالات تبغ مقاومة لفيرس الموزايك وقد تحقق ذلك بعدوى أوراق نبات تبغ أحادى المجموعة الكروموسومية بشكل متجانس تمامًا بإحدى سلالات الفيرس، ثم تعريضها لأشعة جاما. وأخذت بعد ذلك أجزاء من نسيج هذه الأوراق، وزرعت فى بيئة مغذية، تحتوى على تركيز مرتفع من السيتوكينين، وعرضت لإضاءة قوية. سمحت هذه الظروف بحدوث نمو غير متساو للخلايا المحتوية على الفيرس (القابلة للإصابة) والخالية منه (المقاومة التى حدثت بها الطفرات) بحيث أمكن التمييز بين الكالس الأصفر البطئ النمو (المصاب)، والأخضر السريع النمو (المقاوم)، وأمكن من بين ٣٢١٠ calli (جمع كالس) الحصول على سبعة نباتات كانت مقاومة للفيرس، هذا . بينما لم يُحصل على أية نباتات مقاومة للفيرس من الأوراق التى لم تعرض للأشعة. وقد استمرت المقاومة فى نسل هذه النباتات، وظهرت على شكل نقص فى تركيز الفيرس، وضعف حركته فى النبات مما أدى إلى تأخير ظهور الأعراض لمدة ٣–٨ أسابيع، مقارنة بالنباتات غير المقاومة (عن Daub ١٩٨٤)

• استخدمت سموم المسببات المرضية فى انتخاب سلالات خلايا Cell Lines مقاومة

لهذه المسببات وقد جذبت هذه الطريقة الانتباه إليها لسهولتها. ولأن جميع الخلايا تعرض لمستوى واحد من سموم المسببات المرضية، ولكن يعيبها أن نسبة بسيطة فقط من المسببات المرضية هى التى تُنتج سمومًا، وأن قليلاً من هذه السموم هو الذى أمكن عزله وتنقيته، لاستخدامه فى الانتخاب للمقاومة، كما أن بعض السموم تكون خاصة بعوائل معينة hos-specific، وتحدث بها نفس الأعراض التى تحدثها المسببات المرضية ذاتها، بينما تكون سموم أخرى ذات تأثير عام non-host-specific على عدد كبير من الأنواع النباتية. ويكون دورها فى إحداث الأعراض المرضية أقل من سابقتها

ومن أمثلة سلالات الخلايا التى انتخبت لمقاومتها لسموم المسببات المرضية أو راشح بيئاتها Culture Filtrates، والتى تميزت نباتات كاملة منها ما يلى:

أ – المقاومة للبكتيريا *Pseudomonas syringe* فى التبغ

ب – المقاومة لفطرى *Phytopthora infestans*، و *Fusarium oxysporum* فى البطاطس

جـ – المقاومة لفطر *Phoma lingam* فى لفت الزيت *Brassica napus* (عن *Daub* ١٩٨٤)

د – أمكن كذلك عزل سلالات من الذرة، تحتوى على صفة العقم الذكرى السيتوبلازمى مع المقاومة لسموم السلالة T من الفطر *Helminthosporium maydis* المسبب لمرض لفحة الأوراق الجنوبية، بواسطة تعريض مزارع أنسجة من سلالات ذرة، تحمل سيتوبلازم تكساس الخاص بالعقم الذكرى، لسموم الفطر. ووجد أن صفة المقاومة هذه تورث عن طريق السيتوبلازم، وأن النباتات المنتخبة كانت مقاومة لدى اختبارها تحت ظروف الحقل وجدير بالذكر، أن جميع أصناف الذرة التى تحتوى على سيتوبلازم تكساس العقيم الذكر Texas Male Sterile Cytaplasm تصاب بهذا الفطر بدرجة أكبر بكثير من الأصناف الأخرى ويبدو أن سم هذا الفطر يؤثر فى الميتوكوندريا (عن Cooking & Riley ١٩٨١). ولمزيد من التفاصيل عن دور مزارع الأنسجة فى الانتخاب لمقاومة الأمراض .. يراجع Earle & Gracen (١٩٨١)، و Daub (١٩٨٤)