الفصل السادس

الإكثار الدقيق

تمهيد

يتم إكثار السلالات الجديدة من المحاصيل التى لا تتكاثر جنسيًا، إما خضريًا Vegetatively وإما لاإخصابيًا Apomictically، وتفيد كلتا الطريقتين فى إنتاج سلالات متجانسة تمامًا ومشابهة للأصل الذى توصل إلية المربى، والذى استخدم فى الإكثار. ويعطى الإكثار الخضرى سلالات خضرية Clones، بينما يعطى الإكثار اللاإخصابى سلالات لاإخصابية Apomictic Lines.

ويعاب على التكاثر الخضرى أن إنتاج أعداد كبيرة من نباتات الصنف الجديد تصلح للزراعة التجارية على نطاق واسع يستغرق عدة سنوات، لا يستفاد خلالها من الصنف الجديد. كما قد تصاب النباتات خلال عملية الإكثار بالفيروسات، مما يترتب عليه انتشار الإصابة الفيرسية بين نباتات الصنف الجديد.

أما التكاثر اللاإخصابى .. فيعيبه قلة الأنواع النباتية التى تتكون بها الأجنة اللاإخصابية، فضلاً على صعوبة التمييز بين البادرات التى تنمو من أجنة جنسية، وتلك التى تنمو من أجنة لاإخصائية فى حالة التكاثر اللاإخصابى الاختيارى. ومن العيوب الأخرى للتكاثر اللاإخصابى — مقارنًا بالتكاثر الخضرى — طول فترة سكون البذور فى بعض الأنواع، ووجود مرحلة حداثة Juvenile Phase طويلة فى أنواع كثيرة عند إكثارها بالبذور

أما الإكثار الجنسى .. فلا يصلح لهذه الأنواع التى تكثر تجاريًا بوسائل غير جنسية لأنه يؤدى إلى إنتاج نباتات مخالفة للصنف الأصلى، فضلاً على أن كثيرًا من الأنواع النباتية لا تنتج بذورًا بالمرة، مثل الموز، والعنب البناتى، والتين.

تتضح من المناقشة السابقة أهمية الإكثار الدقيق فى إكثار الأصناف الجديدة وإنتاج

آلاف أو ملايين النباتات الصالحة للزراعة من قطعة مجهرية الحجم من النسيج النباتى فى وقت قصير للغاية

إن تطبيق تقنيات مزارع الأنسجة على برامج تربية وتحسين النباتات يعتمد أساسا على توفر التقنيات التى تلزم لتجديد نمو نباتات كاملة من تلك المزارع. ويعرف الإكثار النباتى من خلال مزارع الأنسجة باسم الإكثار الدقيق micropropagation وتعد النباتات التى تنتج بتلك الطريقة — وهى مازالت فى المزارع — مجرد صورة مصغرة جدًا (منمنمة) للنباتات العادية

وقد بدأ استخدام هذه الطريقة مع نبات الأوركيد Orchid ثم انتشر استخدامها فى معظم النباتات الاقتصادية المهمة، التى لا تكثر جنسيًا مثل نخيل البلح والموز ونخيل الزيت وعديد من الفواكه الأخرى، ونباتات الزينة مثل الجربيرا، وبذلك أمكن تقليل الفترة ما بين إنتاج الأصناف الجديدة، وانتشار زراعتها

كما أفادت هذه الطريقة فى التوسع فى زراعة الأصناف الجديدة خارج حدود الدول التى أنتجت فيها؛ نظرًا لسهولة إجراءات الحجر الزراعى على النباتات النامية فى أنابيب الاختبار وكان من المزايا الأخرى للإكثار الدقيق المحافظة على النباتات خالية من جميع الإصابات المرضية، واستمرار عملية الإكثار على مدار العام، دون التقيد بالمواسم الزراعية

ويعّد إنتاج نباتات من الجنس المطلوب من أكبر مزايا الإكثار الدقيق بالنسبة للأنواع الوحيدة الجنس الثنائية المسكن؛ حيث تنتج — مثلاً — نباتات مذكرة فقط من لهليون، ونباتات مؤنثة فقط من نخيل البلح، كما يطمح الباحثون فى إنتاج نباتات مؤنثة فقط من الباباظ

ولاشك فى أن المحافظة على عشرات الآلاف من نباتات المشاتل فى أوعية زجاجية صغيرة فى مساحة من المختبر لا تتعدى عشرة أمتار مربعة يعد أمرا بالغ الأهمية من الوجهة الاقتصادية وإلى جانب ما تقدم . فإن مزارع الإكثار الدقيق يمكن الاستفادة منها فى إكثار هجن بعض الأنواع الجنسية التكاثر المرتفعة الثمن، كهجن القنبيط،

والسلالات العقيمة الذكر المستخدمة كأمهات، بدلاً من اتباع طريقة التهجين الرجعى كما فى البصل.

وفى مجال إكثار الهجن الجنسية تجرى محاولات لإنتاج بذور صناعية artificial seeds من هذه الهجن باتباع طرق الإكثار الدقيق ويعمد العلماء — فى هذه الحالة — إلى إنتاج أجنة جسمية من خلايا الهجين الجنسى مباشرة بزراعة أنسجته (مثل نسيج الأوراق الفلقية) فى البيئات المناسبة، وبذا .. يمكن الحصول على عدد كبير من الأجنة الجسمية من كل نبات هجين جنسى. تغلف هذه الأجنة بعد ذلك بأغلفة مناسبة — وهى العملية التى تعرف باسم encapsulation — ثم تزرع كالبذور العادية.

وللإكثار الدقيق دوره المباشر فى مجال تربية بعض الأنواع الحولية التى يتطلب تقييمها للصفات المرغوبة أن تحصد وتزال من الحقل (كما فى الخس، والكرنب، والكرفس) وهو ما يؤدى إلى فقدان قدرتها على النمو ومن أمثلة ذلك صفات الصلاحية للتخزين، والقدرة على تحمل عمليات التداول والشحن، والمقاومة للعيوب الفسيولوجية والأمراض التالية للحصاد وبرغم أنه يمكن أحيانًا الإبقاء على جزء من النبات فى الحقل لحين إجراء التقييم . إلا أن هذه الطريقة مكلفة. وتتطلب جهدًا إضافيًا وتقدم مزارع الإكثار الدقيق حلاً جيدًا لهذه المشكلة، بإكثار النباتات التى يتم انتخابها — بعد التقييم المختبرى — من القمم النامية، أو البراعم الإبطية لهذه النباتات. وتحقيقًا لهذا الهدف قام Bloksberg & Saltveit (١٩٨٦) بتطوير تقنية إكثار نباتات الخس من البراعم الإبطية التى توجد فى الرؤوس.

ويفيد الإكثار الدقيق كذلك فى التغلب على مشاكل تقييم النباتات التى عمّرت سنوات كثيرة، خاصة أشجار الغابات، ففى هذه الأنواع .. تميل النباتات الجديدة إلى مشابهة النمو النباتى فى الجزء الذى استخدم فى الإكثار الخضرى من النبات الأم، مما يؤدى إلى حدوث تباين واضح فى النمو النباتى بين نباتات السلالة الخضرية الواحدة ويمكن التغلب على هذه المشكلة بالإكثار الدقيق لهذه الأشجار، لأنه يؤدى إلى استعادة مرحلة الحداثة Juvenility فى جميع النباتات الجديدة المكثرة (عن Jensen ١٩٨١).

ويفضل دائمًا استخدام القمة الميرستيمية فى الزراعة، لكى تكون النباتات المنتخبة خالية من الفيروسات. أما إن لم يكن ذلك ضروريًا .. فإن يمكن استعمال أجزاء صغيرة من ساق النبات، تحتوى كل منها على عقدة وبرعم جانبى (nodal segments)، ذلك لأن البراعم الجانبية المفصولة بمفردها من الأشجار البالغة لا تنمو فى معظم الحالات، بينما يساعد النسيج الأمى الموجود مع البرعم الإبطى فى هذه العقل (nodal cuttings) على نمو البرعم وتتحمل البراعم الجانبية عمليات التعقيم أفضل من البراعم الطرفية ويمكن استعمال أى جز نباتى آخر فى التكاثر الدقيق إذا أمكن دفعه لتكوين براعم عرضية، سواء تكونت من خلال نسيج الكالس، أم بدونه. وتستخدم لهذا الغرض أجزاء من الجذور، والسيقان، والأوراق .. ويتوقف الاختيار على قدرة العضو النباتى على تكوين براعم عرضية

ولقد كان أول التطبيقات الواسعة للتكنولوجيا الحيوية فى مجال الإكثار الدقيق لنباتات الزينة، وكانت أكثر التقنيات استخدامًا فى هذا المجال مزارع النموات الخضرية shoot culture، وهى التى تكثر فيها النموات الجديدة (من العقل الصغيرة جدًا microcuttings) من خلال تحفيز نمو براعم إبطية من السيقان المزروعة.

وتعد تكلفة تداول العقل الصغيرة وزراعتها أكبر محددات مزارع النموات الخضرية لأجل الإكثار الدقيق، حيث تشكل العمالة — وحدها — أكثر من ٦٠٪ من تكلفة الإنتاج الكلية، الأمر الذى حدا بالعلماء إلى محاولة أتمتة تلك العملية باستخدام الروبوتات (الإنسان الآلى) وعلى الرغم من نجاح الروبوتات على المستوى التجريبى، فإن تكلفتها العالية أعاقت استعمالها تجاريًا، هذا فضلاً عن الحاجة إلى التقييم النوعى للنسيج المستخدم فى الزراعة، وضرورة تجانس الأجزاء النباتية explants المزروعة

وللتغلب على مشكلة عدم تجانس الأجزاء النباتية المستعملة فى الزراعة (الـ explants) .. كان الاتجاه إلى استخدام الأجنة الجسمية ومزارع العقد nodal cultures (عقدة مع جزء صغير جدًا من الساق) فى بيئات سائلة.

وقد صاحبت تقنيات الإكثار الدقيق تطور تقنيات التخلص من مسببات الأمراض،

مثل: مزارع القمة الميرستيمية، والعلاج الحرارى thermotherapy (عن McCown ٢٠٠٣)

هذا .. ويزيد عدد الأنواع النباتية التى أكثرت بطريقة الإكثار الدقيق عن الآلف. وعلى الرغم من كثرة أعداد معامل وشركات الإكثار الدقيق للأغراض التجارية، فإن الكثير منها لا يقوى على المنافسة، لأسباب كثيرة تتعلق بتكلفة الإنتاج مقارنة بالإكثار بالطرق العادية، وزيادة العرض، وضرورة تسويق ونقل وتوزيع أعداد هائلة من النباتات خلال فترة قصيرة من الزمن، والحاجة إلى الاستخدام الأمثل للقوة العاملة، خاصة وأنها تشكل — غالبًا — حوالى ٥٠٪ من تكلفة الإنتاج فى شركات الإكثار الدقيق (Kitto ١٩٩٧).

مراحل الإكثار الدقيق

يمر الإكثار الدقيق فى مزارع الأنسجة والأعضاء النباتية بخمس مراحل متداخلة فيما بينها، كما يلى:

أولاً: مرحلة التأسيس Establishment Stage (أو Stage I)

إن وظيفة هذه المرحلة هى ثبات واستطراد نمو (تأسيس وترسيخ) جزء نباتى مزروع ومعقم (explant) فى بيئة للزراعة، حيث ينمو طوليًا ويظهر واضحًا للعين

ثانيًا: مرحلة التضاعف Multiplication (أو Stage II)

إن وظيفة مرحلة التضاعف هى زيادة أعداد النموات النباتية تمهيدًا لتجذيرها فى مرحلة لاحقة. يقسم الـ explant — الذى نما طوليًا فى المرحلة الأولى — إلى عدة أجزاء تزرع مستقلة فى بيئة جديدة ويتوقف تضاعف النموات الخضرية المتكونة إما على الإنتاج المستمر للنموات الإبطية، وإما على تكوين نموات عرضية من الكتل الكالوسية التى تتكون عند قواعد الأجزاء النباتية المزروعة. ومن الأهمية بمكان تجديد الزراعة على فترات متقاربة حتى لا ينخفض معدل التضاعف، ويكون من الصعب استمرار النباتات فى النمو عندما تنقل إلى بيئة جديدة. قد يجرى هذا التجديد كل ٢-٤ أسابيع، وأفضل وقت لذلك هو عندما تبدأ النموات فى الزيادة فى الطول