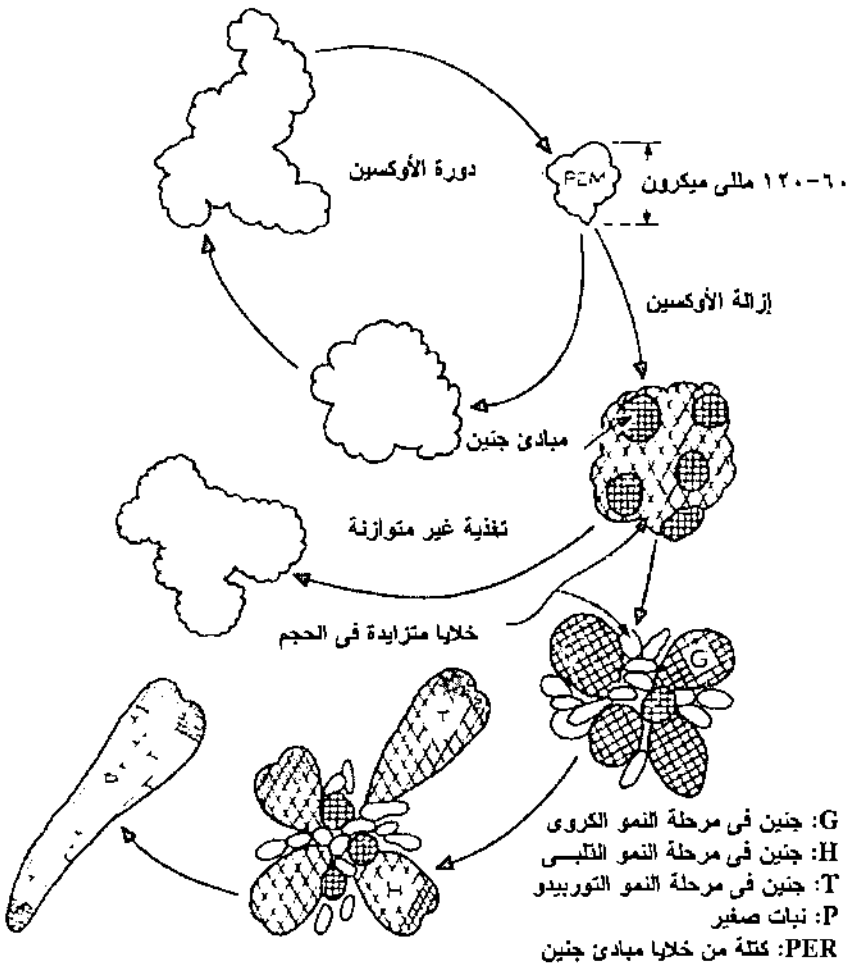
لإنتاج نباتات كاملة – حتى بعد أن تكون هذه الخلايا قد تميزت نهائيًا فى جسم النبات الذى أخذت منه – اسم Totipotency (عن Bhojwani & Razdan ١٩٨٣)



شكل (٦-٥). تخطيط يبين مراحل تكوين الأجنة الجسمية فى مزارع الخلايا المعلقة للجذر (Bhojwani & Razdan ١٩٨٣)

بيئات الزراعة المستخدمة فى الإكثار الدقيق

تتنوع بيئات الزراعة المستخدمة فى الإكثار الدقيق لمختلف الأنواع النباتية، ولكنها تعد – بصورة عامة – تباينات من بيئة موراشيج وسكوج.

وتستخدم فى كثير من الأنواع النباتية ثلاثة أنواع من البيئات لأجل الإكثار الدقيق من خلال التوالد الجنينى embryogensis، تكون الأولى منها لأجل تكوين الكالس واستمراريته، والثانية لأجل تكوين الأجنة الجسمية، والثالثة لأجل السماح لتلك الأجنة بالنمو إلى نباتات كاملة.

يعد تواجد الأوكسين فى البيئة ضروريًّا لبدء تكوين الأجنة، وإذا ما استمر تعرض الأنسجة أو الكالس لبيئة خالية من الأوكسين، فإنه لا تنتج أجنة. يعمل الأوكسين على حث تميز مجموعات من الخلايا الميرستيمة تعرف باسم التجمعات الجنينة embryogenic culumps. وتتطور تلك التجمعات من الخلايا الميرستيمية إلى أجنة مكتملة التكوين لدى نقلها إلى بيئة خالية من الأوكسين، أو ذات تركيز منخفض منه (عن Chawla ٢٠٠٠).

ويبين جدول (٦-١) تركيب المحاليل القياسية المستخدمة فى تحضير بعض بيئات الإكثار الدقيق، كما يبين جدولا (٦-٢)، و (٦-٣) تركيب بيئات الإكثار الدقيق لكل من نخيل التمر، والفراولة على التوالى — كمثالين — علمًا بأن البيئات المناسبة تختلف كثيرًا من نبات إلى آخر.

ولقد كانت أفضل بيئة للإكثار المبدئى من عيون درنات البطاطس (صنف كارا) هى بيئة موراشيج وسكوج المزودة بالسيتوكينين بنزيل أمينوبيورين BAP، والأوكسين نفثالين أسيتك آسيد NAA بتركيز ٢ مجم/لتر، و ٠,٥ مجم/لتر لكل منهما على التوالى، حيث بلغ متوسط عدد العقد المنتجة لكل تكوين نباتى كامل نما على هذه البيئة بعد زراعة العيون ٦,٧ عقدة.

وقد أكثرت السيقان ذات الأوراق الصغيرة الناشئة بإعادة زراعتها خمس مرات متتالية على بيئة إكثار تتكون من بيئة موراشيج وسكوج المزودة بالسيتوكينين BAP، والأوكسين NAA، وحامض الجبريلليك GA_3، وبانتوثينات الكالسيوم calcium pantothenate بتركيز ٢,٠، و ٠,٥، و ٠,٠١، و ٢,٠ مجم/لتر، على التوالى، علمًا بأن معدل تضاعف السيقان ذات الأوراق الصغيرة لم يتأثر سلبيًّا خلال خمس مرات من التقسيم وإعادة الزراعة.

كذلك أمكن تجذير السيقان الصغيرة المتكونة — التى احتوت كل منها على ثلاث

عقد – على بيئة موارشيج وسكوج المزودة بالأوكسين 2,4-D بتركيز ٢ مجم/لتر أو المزودة بالسكروز بتركيز ٨٪. وعقب التجذير نقلت النباتات الجديدة بنجاح إلى خارج المعمل

جدول (٦–١): المحاليل القياسية المستخدمة فى تحضير بعض بيئات الإكثار الدقيق(أ) (عن Hartmann & Kester ١٩٨٣).

مجموعة المحاليل	المركب	Murashige and Skoog (MS)		Woody Plant Medium (WPM)		Anderson (AND)		Gamborg B5	
A	NH_4NO_3	١٦٥,٠٠	جم/لتر	٤٠,٠٠	جم/لتر	٤٠,٠٠	جم/لتر	—	
	KNO_3	١٩٠,٠٠	جم/لتر	—		٤٨,٠٠	جم/لتر	٢٥٠,٠٠	جم/لتر
	$Ca(NO_3.4H_2O)$	—		٥٥,٦	جم/لتر	—		—	
B	K_2SO_4	—		٩٩,٠٠	جم/لتر	—		—	
	$MgSO_4.7H_2O$	٣٧,٠٠	جم/لتر	٣٧,٠٠	جم/لتر	٣٧,٠٠	جم/لتر	٢٥,٠٠	جم/لتر
	$MnSO_4.H_2O$	١,٦٩	جم/لتر	٢,٢٣	جم/لتر	١,٦٩	جم/لتر	١,٠٠	جم/لتر
	$ZnSO_4.7H_2O$	٠,٨٦	جم/لتر	٠,٨٦	جم/لتر	٠,٨٦	جم/لتر	٠,٢	جم/لتر
	$CuSO_4.5H_2O$	٠,٠٠٢٥	جم/لتر	٠,٠٠٢٥	جم/لتر	—		٠,٠٠٢٥	جم/لتر
	NH_4SO_4	—		—		—		١٣,٤	جم/لتر
C	$CaCl_2.2H_2O$	٤٤,٠٠	جم/لتر	٩,٦	جم/لتر	٤٤,٠	جم/لتر	١٥٠٠٠	جم/لتر
	KI	٠,٠٨٣	جم/لتر	—		٠,٠٨٣	جم/لتر	٠,٠٧٥	جم/لتر
	$CoCl_2.6H_2O$	٠,٠٠٢٥	جم/لتر	—		٠,٠٨٣	جم/لتر	٠,٠٠٢٥	جم/لتر
D	KH_2PO_4	١٧,٠٠	جم/لتر	١٧,٠٠	جم/لتر	—		—	
	H_3BO_3	٠,٦٢	جم/لتر	٠,٦٢	جم/لتر	٠,٦٢	جم/لتر	٠,٣٠	جم/لتر
	$Na_2MoO_4.2H_2O$	٠,٠٢٥	جم/لتر	٠,٠٢٥	جم/لتر	٠,٠٢٥	جم/لتر	٠,٠٢٥	جم/لتر
	$NaH_2PO_4.H_2O$	ب		—		٣٨,٠٠	جم/لتر	١٥,٠٠	جم/لتر
E	$FeSO_4.7H_2O$	٢,٧٨٤	جم/لتر	٢,٧٨	جم/لتر	٥,٥٧	جم/لتر	٢,٧٨	جم/لتر
	$Na_2.EDTA$	٣,٧٢٤	جم/لتر	٣,٧٣	جم/لتر	٧,٤٥	جم/لتر	٣,٧٢٥	جم/لتر
F	Thiamin.HCl	٠,١٠	جم/لتر	٠,١٠	جم/لتر	٠,٠٤	جم/لتر	١,٠٠	جم/لتر
	Nicotinic acid	٠,٠٥	جم/لتر	٠,٠٥	جم/لتر	—		٠,١٠	جم/لتر
	Pyridoxine.HCl	٠,٠٥	جم/لتر	٠,٠٥	جم/لتر	—		٠,١٠	جم/لتر
	Glycine	٠,٢٠	جم/لتر	٠,٢٠	جم/لتر	—		—	
G	Myo-inositol	١٠,٠٠	جم/لتر	١٠,٠	جم/لتر	١٠,٠٠ جـ	جم/لتر	١٠,٠٠	جم/لتر

أ – تبلغ قوة هذه المحاليل مائة ضعف التركيز النهائى المطلوب من كل منها يستخدم ١٠ مل من كل محلول قياسى فى تحضير لتر واحد من بيئة الزراعة.

ب – تُزود بها بيئة الزراعة – عادة – بمعدل ٨٥–٢٢٥ مجم/لتر

جـ – يضاف – كذلك – كبريتات الأدنين بمعدل ٨٠ مجم/لتر.

جدول (٦-٢): بيئات الإكثار الدقيق لنخيل التمر.

المكونات	البيئـــة (مجم/لتر) من خلال الكالس	من خلال الأجنة
مركبات غير عضوية		
NH_4NO_3	١٦٥٠	١٦٥٠
KNO_3	١٩٠٠	١٩٠٠
$CaCl_2$	٣٢٢	٣٢٢
$MgSO_4.7H_2O$	١٨١	١٨١
KH_2PO_4	١٧٠	١٧٠
$NaH_2PO_4.2H_2O$	١٧٠	١٧٠
KI	٠,٨٣	٠,٨٣
H_3BO_3	٦,٢	٦,٢
$MnSO_4.H_2O$	١٦,٩	١٦,٩
$ZnSO_4.H_2O$	٨,٦	٨,٦
$Na_2MoO_4.2H_2O$	٠,٢٥	٠,٢٥
$CuSO_4$	٠,٠١٦	٠,٠١٦
$CoCl_2.6H_2O$	٠,٠٢٥	٠,٠٢٥
FeNa.EDTA	٣٦,٧	٣٦,٧
مركبات عضوية		
Inositol	١٠٠	١٠٠
Thiamine HCl	٠,٤	٠,٤
منظمات نمو		
2,4-D	١٠٠	—
2-ip	٣	—
فحم مُنَشطَ neutralized charcoal	٣٠٠٠	٣٠٠٠
آجار	٪٠,٨	٪٠,٨
سكروز	٪٣	٪٣

وقد أدت زيادة تركيز السكروز إلى ٨٪ فى بيئة موراشيج وسكوج — وبدون هرمونات — إلى تحفيز تكوين الدرنات معنويًا وزيادة أعدادها وأحجامها. وبينما قللت الفترة الضوئية القصيرة (٨ ساعات) النمو الخضرى مقارنة بالفترة الطويلة (١٦ ساعة) .. فإن الفترة الضوئية لم يكن لها تأثير معنوى على عدد الدرنات المنتخبة لكل ساق ورقية زرعت معمليًا، إلاّ أنها أثرت فقط على وزن تلك الدرنات. وقد أمكن تنبيت الدرنات الصغيرة بسهولة، حيث أعطت نباتات ذات صفات مطابقة للصنف المستخدم (Ebida & El-Gamal ١٩٩٢).

جدول (٦–٣): بيئات الإكثار الدقيق للفراولة.

المكونات	البيئات (مجم/لتر)		
	التجذير	التكاثر	التهيئة
مركبات غير عضوية			
KNO_3	٢٥٠	٢٥٠	٢٥٠
$MgSO_4.7H_2O$	٢٥٠	٢٥٠	٢٥٠
KH_2PO_4	٢٥٠	٢٥٠	٢٥٠
$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	١٠٠٠	١٠٠٠	١٠٠٠
KI	٠,٨٣	٠,٨٣	٠,٨٣
H_3BO_3	٦,٢	٦,٢	٦,٢
$MnSO_4.4H_2O$	١٦,٩	١٦,٩	١٦,٩
$ZnSO_4.7H_2O$	٨,٦	٨,٦	٨,٦
$Na_2MoO_4.2H_2O$	٠,٢٥	٠,٢٥	٠,٢٥
$CuSO_4.5H_2O$	٠,٠٢٥	٠,٠٢٥	٠,٠٢٥
$CoCl_2.6H_2O$	٠,٠٢٥	٠,٠٢٥	٠,٠٢٥
$FeSO_4.7H_2O$	٢٧,٨	٢٧,٨	٢٧,٨
$Na_2.EDTA$	٣٧,٣	٣٧,٣	٣٧,٣
مركبات عضوية			
Inositol	١٠٠	١٠٠	١٠٠
Nicotinic acid	٠,٥	٠,٥	٠,٥
Pyridoxine HCl	٠,٥	٠,٥	٠,٥
Thiamine HCl	٠,١	٠,١	٠,١
Glycine	٢	٢	٢
منظمات نمو			
BAP	٠,١	١	—
IBA	١	١	١
GA_3	٠,١	٠,١	—
جلوكور	٪٤	٪٤	٪٤
آجار	٪٠,٨	٪٠,٨	٪٠,٨

كذلك أمكن إكثار صنف البطاطس رصّت بيربانك باستعمال أقراص من النموات الجديدة المتبرعمة بالدرنات وزراعتها – بعد تطهيرها سطحيًّا – في بيئة الإكثار،

حيث كونت سيقانًا خضرية صغيرة فى خلال ٢٠ يومًا، ثم أكثرت تلك النموات باستعمال العقل الورقية nodal cuttings وبعد تجذير تلك النموات الجديدة أمكن زراعتها خارج المعمل بنجاح. وفى الوقت ذاته أمكن تكوين درنات صغيرة بمعدل ثلاث درنات صغيرة بكل نبات مزروع explant يحتوى على ثلاث عقد فى بيئة موراشيج وسكوج المزودة بالكينتين والأنسيميدول ancymidol بتركيز ٧,٥، و ١٠,١ مجم/لتر، على التوالى، وذلك فى خلال خمسة أيام من زراعتها (Ebida & Hu ١٩٩٣).

مزارع القمة الخضرية

الجزء النباتى المستخدم فى الزراعة

يكون الجزء النباتى المستخدم فى الإكثار الدقيق فى مزارع القمة الخضرية إما كل النمو القمى أو بعضه (شكل ٦-٦)، وإما النمو الجانبى على ساق (شكل ٦-٧)، وإما قطعة من ساق النبات تحتوى على عدة عقد (شكل ٦-٨أ)؛ أى إن حجم الجزء النباتى المزروع يتباين كثيرًا.

وأكثر الأجزاء النباتية استعمالاً هى القمة الخضرية المندمجة التى يتراوح طولها بين ٠,٥ إلى ٢,٠ سم (شكل ٦-٩). ومن الطبيعى أن هذا الحجم أسهل فى تداوله، ولكنه قد لا يكون خاليًا من الإصابات الفيروسية.

وفى نظام آخر للإكثار الدقيق تستعمل أجزاء بطول ١-٢ سم — أو أطول من ذلك — من قمة خضرية نامية وغير مكتملة التكوين، وتحتوى على أوراق غير مكتملة التكوين. وتلك الأجزاء تكون أسهل فى تداولها، ولكنها غالبًا ما تكون ملوثة بمسببات الأمراض أو مصابة بالفيروسات.

وقد تؤخذ — كذلك — أجزاء نباتية مماثلة — لزراعتها — من نموات البراعم الجانبية — تكون بمثابة عقلاً وحيدة العقدة (شكل ٦-٧، و ٦-٨ب).

تتوطد زراعة القمة الخضرية من خلال استطالة الميرستيم القمى وما يصاحب ذلك من نمو محدود للميرستيمات الإبطية - أما مرحلة التضاعف فإنها تحدث عند توقف