وعادة لا يتم التحكم فى الرطوبة النسبية أثناء تحضين المزارع، وإذا تم التحكم فيها . فإنها تكون غالبًا بين ٦٠٪، و ٨٠٪، والأفضل ضبطها عند ٧٠٪ (Wang & Charles ١٩٩١).

التحديات التى تواجه عمليات الإكثار الدقيق

إن من أهم المشاكل التى قد تواجه عملية الإكثار الدقيق، ما يلى.

١ — التلوث الميكروبى.

يعد التلوث الفطرى والبكتيرى من أكبر المشاكل التى لا تسمح بنمو المزارع وتؤدى إلى حتمية التخلص منها. ويمكن التغلب على تلك المشكلة بتنمية النباتات التى يؤخذ منها الأجزاء التى تستعمل فى زراعة الأنسجة فى غرف نمو، مع التعقيم الجيد لتلك الأجزاء. وإجراء كل عمليات الزراعة فى البيئات فى Laminar Air Flow Cabinets مزودة بمرشحات HEPA (٠,٢ ميكروميتر)، واستعمال أدوات تشريح معقمة ويفيد تبخير حجرات الزراعة باستعمال محلول فورمالين مخفف فى تقليل حالات التلوث الميكروبى

٢ — تلون بيئات الزراعة باللون البنى.

تفرز الأجزاء النباتية المزروعة من بعض النباتات — مثل قصب السكر — مركبات فينولية فى بيئة الزراعة تؤدى إلى اكتسابها لونا بنيًا، وتقليل نمو الأجزاء النباتية المزروعة فيها. ويرجع هذا التلون إلى تأكسد المركبات الفينولية العديمة اللون وتحولها إلى مركبات أخرى بنية اللون. ويمكن الحد من ظاهرة التلون البنى بتزويد بيئة لزراعة بالفحم النباتى النشط بنسبة ٠,١—٠,٢٪، أو بحامض الستريك أو حامض الأسكوربيك بتركيز ٥٠٠—١٠٠٠ مجم/لتر، أو بالبولى فينيل بيروليدون polyvinylpyrrolidone (اختصارًا: PVP)

٣ — تكوين الكالس.

على الرغم من أن تكوين الكالس callusing قد يكون مرغوبًا فيه أحيانًا، إلاّ أنه غالبا ما يكون أمرا غير مرغوب فيه، نظرًا لأن كتلة خلايا الكالس غير المتميزة تؤثر فى

التطور الطبيعى لكل من النمو الخضرى والجذرى، وقد يؤدى إلى ظهور تباينات وراثية فى النباتات التى يتجدد نموها. ومن بين الوسائل التى تحد من ظاهرة تكوين الكالس تزويد البيئة بالـ triiodobenzoic acid، والـ phloroglucinol، والـ phloridzin، أو خفض تركيز الأملاح غير العضوية فى بيئة الزراعة.

٤ — التزجج:

التزجج vetrification هو ظهور نباتات غير طبيعية المظهر (زجاجية المظهر ونصف شفافة) فى بيئة الزراعة، وخاصة عند استعمال بيئات سائلة. تبدو هذه النباتات غير طبيعية المظهر بسبب النمو غير الطبيعى لأوراق نباتات المزارع، وقلة محتواها من الشمع الأديمى، وضعف كفاءتها فى البناء الضوئى، وعدم قيام الثغور بوظائفها. ويمكن الحد من تلك الظاهرة بجعل ظروف الزراعة تسمح بحركة الماء والغذاء والعناصر فى النبات من خلال خفض الرطوبة النسبية فى أوعية الزراعة (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

٥ — حساسية النباتات الصغيرة الناتجة من الإكثار الدقيق لصدمة الشتل:

إن أكبر مشكلة فى عملية الإكثار الدقيق هى موت نسبة كبيرة من النبات فى مرحلة الأقلمة، أى بعد نقلها من مزرعة الإكثار إلى بيئات النمو العادية.

ولزيادة فرصة بقاء النباتات المكثرة خلال مرحلة الـ acclimatization فإن الظروف البيئية فى بدايات تلك المرحلة يجب أن تقترب من ظروف مرحلتى النمو التكاثرى والتجذير فى البيئة الصناعية. ولزيادة فرصة بقاء النباتات المتأقلمة بعد نقلها إلى المكان الدائم لنموها، يجب أن تقترب الظروف البيئية عند اقتراب نهاية فترة الأقلمة من الظروف التى سوف تتعرض لها النباتات بعد النقل الدائم .. هذا فى الوقت الذى يجب فيه تحفيز عملية البناء الضوئى خلال عملية الأقلمة.

ومن أهم العوامل التى يجب توفيرها خلال مرحلة الأقلمة الرطوبة النسبية العالية، وخاصة فى المراحل المبكرة من فترة الأقلمة، ويتحقق ذلك بتغطية النباتات الصغيرة بغشاء بلاستيكى، مع التظليل والتضبيب (misting) المتكرر. ويعد التظليل ضروريًّا لأن ضوء الشمس القوى ذاته قد يضر بالنباتات الصغيرة، كما قد يزيد من فقد النباتات لرطوبتها بسبب رفعه لدرجة الحرارة، ومن ثم خفضه للرطوبة النسبية.

وبينما يعد التضبيب أسهل وسيلة لرفع الرطوبة النسبية، فإنه يضعف عملية البناء الضوئى، ومن ثم يبطئ من عملية تجذير النباتات الصغيرة واعتمادها على ذاتها فى تحضير غذائها وامتصاصها لاحتياجاتها من الماء والعناصر. ومع تقدم عملية الأقلمة تُخفَّض – تدريجيًا – شدة التظليل ومعدلات التضبيب (عن Kozai ١٩٩١)

٦ – التباينات الوراثية التى تظهر فى مزارع الإكثار الدقيق.

بينما قد تكون تباينات مزارع الأنسجة أمرًا مرغوبًا فيه بالنسبة لمربى النبات الذى يسعى – دائمًا – إلى الحصول على تلك التباينات التى قد تفيده فى برامج التربية، إلاّ أنها لا تفيد – أبدًا – فى عملية الإكثار الدقيق التى يجب أن تعطى نباتات متجانسة وصادقة للصنف المكثر (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢).

تطبيقات الإكثار الدقيق فى مجال تربية النباتات وإكثارها

استعراض التطبيقات

إن من أهم تطبيقات مزارع الإكثار الدقيق التى تخدم تربية النبات، ما يلى:

١ – التخلص من الفيروسات

يتبع فى التخلص من الفيروسات الطرق التالية:

أ – المعاملة الحرارية:

تعرف تلك المعاملة باسم thermotherapy، وبمقتضاها تعرض النباتات لحرارة عالية نسبيًا، وهى تستخدم فى التخلص من الفيروسات والميكوبلازما، وقد تستعمل منفردة، أو مع المعاملة الكيميائية، أو مع مزارع القمة الميرستيمية، أو مزارع القمم النامية المجزأة.

ب – استعمال مضادات الفيروسات:

تعرف تلك المعاملة باسم chemotherapy، وبمقتضاها تعامل الأجزاء النباتية التى تؤخذ منها الأجزاء (explants) التى تستعمل فى الزراعة، وذلك قبل فصلها. هذا وقد تضاف تلك المركبات الكيميائية إلى بيئة الزراعة – كذلك – وذلك لأجل دعم عملية التخلص من الفيروسات ويستخدم لهذا الغرض مركبات مثل مالاشايت جرين malachite green، وفيراكسول virazole.