جدول (٨-٣): أمثلة لبعض الحالات الناجحة لتلقيحات نوعية أو جنسية أجريت فى المزارع، ونتجت عنها أجنة حية ومكتملة التكوين (عن Bhojwani & Raste ١٩٩٦).

التهجين	بيئة الزراعة		الإضافات
	الأساسية[أ]	السكروز (٪)	(مجم/لتر)
Brassica napus x *B. campestris*	MS	٢	—
B. campestris x *B napus*			—
B. chinensis x *B. pekinensis*			—
Zea mays x *Z. mexicana*	GP	٥	(١٠) GA_3
Nicotiana tabacum x *N. rustica*	N	٥	—
Melandrium album x *Viscaria vulgaris*	W	٢	—
M. album x *Silene schafta*	W	٢	—

أ – بيئات الزراعة .. MS: Murashige & Skoog، و GP: Green & Phillips، و W: White.
تتوفر المراجع الخاصة بتلك البيئات فى Bhojwani & Raste (١٩٩٦).

● أمكن إجراء التهجين بين النوعين *Cucurbita pepo*، و *C. moschata* من خلال مزارع البويضات ovule culture. وبينما لم تنبت الأجنة التى بداخل البويضات الكاملة عندما زرعت على بيئة صناعية، فإن إنبات الأجنة كان جيدًا عندما قطعت تلك البويضات. وقد كان معدل إنبات الأجنة أعلى فى حرارة ٢٧م منه فى حرارة ٢٣م، وحُصِل على أفضل النتائج فى بيئة موراشيج وسكوج بنصف التركيز، مع تزويدها بالسكروز بتركيز ٣٥ جم/لتر. وقد كان *C. pepo* أفضل كأم فى التهجين عن *C. moschata*، حيث أعطى نسبة أعلى من عقد الثمار، وتطورًا أفضل للأجنة. وبلغت نسبة إنبات الأجنة (للهجن التى استخدم فيها *C. pepo* كأم) التى بعمر ١٠ أيام ٤٠٪، ولكن تلك النسبة تناقصت سريعًا بعد ذلك (Hong وآخرون ١٩٩٤).

مزارع الأجنة

تستخدم مزارع الأجنة Embryo Cultures من قِبَل مربى النباتات لأجل التغلب على المشاكل اللاحقة للإخصاب فى التلقيحات البعيدة.

وتعد عملية فصل الأجنة الصغيرة، وتحديد بيئة الزراعة المناسبة أهم عاملين

يتحكمان فى نجاح مزارع الأجنة كما يجب فصل الأجنة قبل أن تبدأ فى التدهور degeneration والاختفاء فى حالات الهجن النوعية البعيدة التى يحدث فيها عدم توافق بين الجنين النامى والإندوسبرم. وتتحدد المراحل المناسبة لفصل الأجنة بعدد الأيام من التلقيح

نبذة تاريخية

تحقق أول نجاح فى زراعات الأجنة فى سنة ١٩٠٤ حينما حصل Haning على نباتات كاملة من الأجنة المكتملة التكوين لإثنين من الصيليبيات بعد زراعتها على بيئة صناعية تحتوى على سكر وبعض الأملاح المعدنية. وفى عام ١٩٢٤ أثبت Dietrich إمكان استكمال الجنين لنموه فى البيئات الصناعية دون أن يمر بمرحلة سكون. وأجريت أول زراعة لجنين خاص بتهجين نوعى بواسطة Laibach فى عام ١٩٢٥، واستخدم فيها الهجين *Linum perenne* x *L. austriacum* الذى يفقد فيه الجنين حيويته إن لم يزرع فى مرحلة مبكرة من تكوينه على بيئة صناعية وفى عام ١٩٤١ اكتشف van Overbeek وآخرون إمكان زراعة أجنة الداتورة الهجين على بيئات صناعية تحتوى على لبن (إندوسبرم) جوز الهند، وهو الاكتشاف الذى قاد الباحثين إلى فهم أهمية النيتروجين المختزل — فى صورة أحماض أمينية — لمزارع الأجنة (عن Bridgen ١٩٩٤)

بيئات مزارع الأجنة

الاحتياجات الغذائية للأجنة

تتوقف احتياجات الأجنة من الغذاء على مرحلة نموها، وقد أمكن تمييز مرحلتين، كما يلى:

أولاً مرحلة الاعتماد على مصدر خارجى للغذاء heterotrophic phase

يعتمد الجنين الصغير فى هذه المرحلة من نموه على الإندوسبرم والأنسجة الأمية المحيطة به، ويتطلب بيئة مغذية أكثر تعقيدًا وأعلى فى ضغطها الإسموزى عما تتطلبه الأكبر عمرًا ومع استمرار نمو وتكوين الأجنة الصغيرة فإنها تتطلب بيئات معقدة مزودة بتوافيق مختلفة من الفيتامينات، والأحماض الأمينية، وهرمونات النمو، كما تتطلب أحيانًا مستخلصات طبيعية، مثل عصير الطماطم، ولبن جوز الهند.

ثانيًا: مرحلة الاعتماد الذاتى فى التغذية autotrophic phase·

يكون الجنين فى هذه المرحلة — التى تمثل المرحلة الثانية من نموه — قادرًا على تمثيل مركبات لازمة لنموه من الأملاح والسكر المتوفران فى بيئة الزراعة. وفى هذه المرحلة .. يمكن للأجنة أن تنبت وتنمو فى بيئة عضوية بسيطة مزودة بمصدر للكربون، مثل السكروز.

ولقد كانت دراسات van Overbeek وآخرون التى نشرت فى عام ١٩٤٢ — والتى أضافوا فيها الإندوسبرم السائل لجوز الهند (لبن جوز الهند) إلى بيئات زراعة الأجنة التى لم تتعد بعد مرحلة النمو التوربيدى torpedo stage — كانت تلك الدراسات علامة هامة على طريق دراسة مزارع الأجنة، فبتحوير البيئة لتقترب من الإندوسبرم المحيط بالجنين غير المكتمل النمو فى البويضة .. تحقق نجاحًا فى زراعة الأجنة لم يكن ممكنًا من قبل. وقد أُعطى العامل المحفز للنمو فى لبن جوز الهند اسم "عامل الجنين" embryo factor وباستعمال لبن جوز الهند فى بيئة الزراعة أمكن تجنب الإنبات المبكر للأجنة قبل اكتمال تكوينها. وقد أعقب ذلك اكتشاف العديد من المواد الأخرى التى استعملت كبدائل للبن جوز الهند لأجل تحفيز نمو الأجنة فى البيئات الصناعية، مثل: اللبن منزوع الدسم، وخميرة الخبز الجافة، والـ casein hydrolysate، وجميعها تحتوى على الأحماض الأمينية التى تلزم لنجاح زراعة الأجنة وقد أمكن الاستغناء عن لبن جوز الهند تمامًا بتزويد بيئة white بكل من الفوسفات، والجلوتامين، والألانين وخمسة أحماض أمينية أخرى

يعتبر السكروز هو المصدر الرئيسى للطاقة التى تلزم لزراعة الأجنة، ولكنه يفيد — كذلك — فى المحافظة على الضغط الأسموزى لبيئة الزراعة فى المدى المناسب، علمًا بأن الأجنة المكتملة النمو يلزمها ٢–٣٪ سكروز فى بيئات الزراعة، بينما يلزم الأجنة غير المكتملة النمو ٨–١٢٪ سكروز، وهو ما يكون مماثلاً للضغط الأسموزى فى الكيس الجنينى. يفيد الضغط الأسموزى المرتفع فى المراحل المبكرة لنمو الجنين فى منعه من الإنبات المبكر قبل اكتمال تكوينه، ومنع الخلايا — التى تكون فى مرحلة الإنقسام — من الاتجاه نحو الاستطالة.

وتعد نترات الأمونيوم ونترات البوتاسيوم هما أكثر مصادر النيتروجين غير العضوى استخدامًا فى مزارع الأجنة، كما أن الصورة الأمونيومية للنيتروجين تُعد — بوجه خاص — ضرورية للأجنة الصغيرة.

وكثيرًا ما تفيد إضافة الأحماض الأمينية إلى بيئة زراعة الأجنة فى تحفيز نموها، ومن أكثرها فاعلية أحماض: الجلوتامين، والأسباراجين. وكثيرًا ما يستخدم الـ casin hydrolysate الذى يحتوى على مخلوط من ١٨ حمضًا أمينيًا .. وفى هذه الحالة لا تلزم أية إضافات أخرى من الأحماض الأمينية.

ويعتبر الآجار هو أكثر المواد استخدامًا لجعل البيئات صلبة، ويتراوح التركيز المناسب منه — عادة — بين ٥ ٠٪، و ١,٥٪. وقد تؤدى التركيزات العالية من الآجار إلى تثبيط النمو بسبب تقليله لتيسر الماء، أو بسبب رداءة نوعيته وما قد يحتويه من أملاح.

هذا .. ولا تلعب منظمات النمو سوى دورًا صغيرًا فى مزارع الأجنة، ولا يبدو أن الأوكسينات تلزم إضافتها إلى بيئة زراعة الأجنة، كما أن السيتوكينيات — منفردة — تكون قليلة أو معدومة التأثير، ولكنها تحفز نمو وتميز الأجنة إذا أضيفت معها الأوكسينات وعمومًا فإن الأوكسينات والسيتوكينينات لا تضاف إلى مزارع الأجنة إلا إذا رُغب فى حث تكوين الكالس. أما الجبريللين فإنه قد يستعمل لحث الأجنة على الإنبات المبكر، أو للتغلب على حالة السكون إن وجدت (عن Bridgen ١٩٩٤)

أمثلة لبيئات مزارع الأجنة

تعتبر بيئات موراشيج وسكوج Murashige and Skoog، وجامبورج ب٥ Gamborg B5 — مع بعض التحويرات — هما أكثر البيئات استخدامًا فى مزارع الأجنة.

هذا .. إلاّ أن بيئات زراعة الأجنة المناسبة تختلف من نوع نباتى لآخر، ويبين جدول (٨–٤) تركيب أربع بيئات، استخدمت فى زراعة أجنة الشعير، وهى تحتوى — بالإضافة إلى ما هو مبين فى الجدول — على المكونات التالية:

١ — البيئة B-II: تحتوى على ١ جم حامض ماليك مذاب فى ٥٠ مل ماء، مع تعديل الـ pH إلى ٥,٠ باستعمال أيدروكسيد الأمونيوم.

جدول (٨-٤): تركيب بعض البيئات المستخدمة فى مزارع أجنة الشعير (عن Bhojwani & Razdan ١٩٨٣).

المكونات	البيئات (مجم/لتر)			
	B-II	C-17	C-21	C-45
عناصر كبرى				
KNO_3	—	٣٠٠	٣٠٠	٩٠٠
$CaCl_2.2H_2O$	٧٤٠	٢٥٠	--	٤٠٠
$MgSO_4.7H_2O$	٧٤٠	٣٢٥	٣٠٠	٣٠٠
$(NH_4)_2SO_4$	—	—	—	٦٠
$NaH_2PO_4.H_2O$	—	١٠٠	—	٧٥
KCl	٧٥٠	١٥٠	٣٠٠	—
KH_2PO_4	٩١٠	١٥٠	٥٠٠	١٧٠
$Ca(NO_3)_2$	—	—	٥٠٠	٣٠٠
NH_4NO_3	—	٢٠٠	—	٥٠٠
عناصر صغرى				
KI	—	٠,١٠	—	—
H_3BO_3	٠,٥	٠,٥	١٥,٠	١,٠
$MnSO_4.4H_2O$	٣,٠	٠,٥	—	٥,٠
$ZnSO_4.7H_2O$	٠,٥	٠,٢٥	—	٥,٠
$Na_2MoO_4.2H_2O$	٠,٠٢٥	٠,٠١٢	—	٠,٢٥
$CuSO_4.5H_2O$	٠,٠٢٥	٠,٠١٢	—	٠,٠١٢
$CoCl_2.6H_2O$	٠,٠٢٥	٠,٠١٢	—	٠,٠١٢
Ferric citrate	١٠	٣	٢٠	٢٠
Fe-EDTA	—	١٧,٥	١٠	٢٨
فيتامينات				
Nicotinamide	—	—	—	١,٠
Thianine HCl	٠,٢٥	٠,٢٥	١٠	١٠
Pyridoxine HCl	٠,٢٥	٠,٢٥	—	١,٠
Inositol	٥٠	٥٠	١٥٠	١٠٠
Ca-pantothenate	٠,٢٥	٠,٢٥	—	—
Glycine	—	٠,٧٥	—	—
Ascorbic acid	—	٠,٥	—	١,٠
أحماض أمينية			—	
Glutamine	٤٠٠	—	—	٦٠٠

تابع جدول (٨-٤).

المكونات	البيئات (مجم/لتر)			
	B-II	C-17	C-21	C-45
Glutamic acid	—	١٥٠	٣٠٠	—
Alanine	٥٠	٣٠	—	١٠٠
Cysteine	٢٠	—	—	—
Arginine	١٠	٢٠	٥٠	—
Leucine	١٠	١٠	—	—
Phenylalanine	١٠	٢٠	—	—
Tyrosine	١٠	—	—	—
Aspartic acid	—	٣٠	١٠٠	١٠٠
Proline	—	٥٠	٥٠	—
Valine	—	١٠	—	—
Serine	—	٢٥	٢٥	٥٠
Threonine	—	١٠	—	١٠٠
Lysine	—	١٠	—	—
Sucrose	٣٤,٠٠٠	٦٠٠٠٠	٤٥٠٠٠	٤٥٠٠٠
Agar (Difco)	٦٠٠٠	—	—	—
pH	٥	٥,٥	٥,٥	٥,٨

٢ — البيئة C-17 تحتوى على ٥٠٠ مجم حامض ستريك مذاب فى ٥٠ مل ماء مع تعديل الـ pH إلى ٥,٣ باستعمال أيدروكسيد الأمونيوم؛ و ٣٠٠ مجم من سترات ثلاثى البوتاسيوم تضاف إلى البيئة مباشرة، مع تعديل pH البيئة إلى ٥,٥ باستعمال أيدروكسيد البوتاسيوم المعقم بالترشيح.

٣ — البيئة C-21 تحتوى على ٥٠ مجم حامض ستريك مذابة فى ٥٠ مل ماء، مع تعديل الـ pH إلى ٥,٥ باستعمال أيدروكسيد الأمونيوم، وإضافتها إلى البيئة النهائية، مع تعديل الـ pH فيها إلى ٥,٥ باستعمال أيدروكسيد البوتاسيوم المعقم بالترشيح؛ و ٢٥٠ مجم سترات ثلاثى البوتاسيوم، تضاف إلى البيئة النهائية مع تعديل الـ pH إلى ٥,٥

٤ — البيئة C-45 تحتوى على ٣٠٠ مجم حام ماليك مذابة فى ٥٠ مل ماء يحتوى على ٣٠٠ مجم حامض ستريك مع تعديل الـ pH إلى ٥,٠ باستعمال أيدروكسيد الأمونيوم

خطوات زراعة الأجنة

تتضمن مزارع الأجنة عزل الأجنة غير المكتملة التكوين أو الأجنة الكاملة النمو وتنميتها في ظروف معقمة على بيئة صناعية مغذية، بهدف الحصول على نبات كامل منها والفكرة الأساسية وراء هذه النوعية من المزارع هي أن الهيئة الوراثية تبقى محتفظة بكينويتها في الجنين سواء أكان متوقفًا عن إكمال نموه، أم في طريقة إلى الانهيار والتلاشي، وأن قدرة تلك الهيئة الكروموسومية على جعل الجنين يستعيد نموه الطبيعي يمكن أن تتحقق إذا ما زود الجنين بالمواد التي تلزم لنموه

تعتمد هذه التقنية على عزل الجنين دون الإضرار به، وتكوين بيئة مغذية مناسبة، وتحفيز النمو المستمر للجنين إلى حين تكوينه للبادرة.

وتستخدم زراعة الأجنة غير المكتملة النمو لإنقاذ الأجنة التي تموت طبيعيًّا إن لم يتم إنقاذها، أو أنها قد لا تستكمل تطورها الطبيعي تحتاج تلك التقنية إلى مهارة فائقة في عزل الأجنة دون الإضرار بها وتجهيز البيئات المعقدة التي تلزم لاستكمال نموها. ويعتمد نجاح زراعة الأجنة — إلى حد كبير — على مرحلة التكوين التي يعزل عندها الجنين.

كذلك تستعمل مزارع الأجنة المعزولة من البذور المكتملة التكوين لأجل التخلص من المركبات التي تمنع الجنين من الإنبات، أو لتقصير دورة التربية كما في حالات السكون ولا توجد مشاكل تذكر في هذه النوعية من المزارع، حيث تكون الأجنة كبيرة نسبيًّا ومن السهل عزلها، كما أن بيئات الزراعة تكون بسيطة وتحتوى فقط على الآجار، والسكر، والعناصر.

لا تتطلب تقنية زراعة الأجنة تعقيم الأجنة ذاتها بعد عزلها، ذلك لأنها تكون محاطة بأنسجة أمية خالية من الملوثات. هذا إلاّ أنه يتعين تعقيم المبايض الكاملة ovaries أو البويضات ovules قبل عملية عزل الجنين، التي يجب أن تجرى تحت ظروف معقمة تمامًا. ولا يحتاج الأمر إلى تعقيم الأجنة التي تعزل من البذور المكتملة التكوين إلا إذا كان الغلاف البذرى متشققًا. ويحتاج فصل الأجنة الصغيرة إلى الاستعانة بالمجهر

وعلى الرغم من اختلاف طريقة عزل الجنين باختلاف النوع النباتى، فإنه يفيد غالبًا عمل قطع عند فتحة النقير ثم محاولة إخراج الجنين منه بالضغط على البويضة عند الطرف الآخر. ومن الضرورى الإبقاء على الـ suspensors الخاصة بالأجنة كاملة عندما يكون عزلها فى مرحلة النمو القلبى أو قبل ذلك (عن Bridgen ١٩٩٤).

يكتمل نمو الأجنة بعد زراعتها، ثم تنمو معطية نباتات صغيرة، يتم نقلها بعناية إلى أصص معقمة. وجدير بالذكر أن الأجنة الصغيرة لا تكمل تكوينها، وإنما تنمو إلى كالس فى بعض الحالات، ثم تتميز فيه بعد ذلك نباتات صغيرة يحدث ذلك — على سبيل المثال — فى الذرة إذا زرعت الأجنة بعد حوالى ١٨ يومًا من التلقيح

وقد تمكن Harberd (١٩٦٩) من زراعة أجنة بعض الهجن النوعية فى الجنس *Brassica* بطريقة سهلة، إذ قام بحصاد مبايض الأزهار الملقحة فى الوقت المناسب، وعقّمها سطحيًا، وقطعها طوليًا، ثم نقلها إلى بيئة مغذية على جهاز هزاز. أدت الحركة الدائمة للبيئة المغذية إلى خروج عدد من الأجنة من المبايض، حيث نمت فى البيئة المغذية بدرجة مماثلة لما يحدث عند اتباع الطرق الأخرى الأكثر صعوبة.

وأمكن كذلك زراعة أجنة الهجين النوعى *Lycopersicon esculentum* x *L. peruvianum* قبل اكتمال تكوينها بزراعة البذور غير المكتملة التكوين المحتوية على هذه الأجنة فى بيئة خاصة أنتجت البذور نسيج كالس، تميزت فيه نباتات كانت ثنائية أو رباعية المجموعة الكروموسومية، مما يدل على أنها لم تنشأ من نسيج الإندوسبرم الثلاثى. كما استدل على أن هذه النباتات كانت هجنًا نوعية من صفات النوع *L. peruvianum* الذى استخدم كمصدر لحبوب اللقاح، التى ظهرت فى الهجن، مثل وجود صبغة الأنثوسيانين (حيث استخدمت سلالة من الطماطم خالية من الأنثوسيانين كأم فى التهجين)، وشكل الأوراق، والأزهار، والثمار، بالإضافة إلى عقم النباتات الهجين (Thomas & Pratt ١٩٨٢).

العوامل المؤثرة فى نمو الأجنة المزروعة

يعتمد نمو الجنين وتطوره بعد زراعته على عديد من العوامل، منها ما يلى:

١ — التركيب الوراثى للنبات

تختلف الأنواع النباتية فى مدى سهولة نمو أجنتها فى البيئات الصناعية، كما تظهر اختلافات مماثلة — أحيانا — بين أصناف النوع الواحد

٢ - حجم الجنين

تكون الأجنة الصغيرة الحجم أكثر صعوبة فى زراعتها فى البيئات الصناعية عن الأجنة الأكبر حجمًا، وتستخدم تقنيات خاصة لزيادة فرصة نجاح الأجنة المزروعة، مثل استخدام تقنية الإندوسبرم المغذى nurse endosperm، والتى تتضمن إيلاج الجنين الهجين داخل إندوسبرم يُحصل عليه من بويضة نامية طبيعيًا وناتجة من الإخصاب الذاتى لأحد أبوى الهجين، أو لنوع ثالث. ويتم نقل الجنين والإندوسبرم معًا إلى بيئة الزراعة وباتباع هذه الطريقة — التى أدخلت عليها بعض التحسينات — أمكن زيادة فرصة نجاح زراعة الهجن الجنسية إلى ٣٠-٤٠٪، مقارنة بنسبة نجاح مقدارها ١٪ عندما لا تستخدم تقنية الإندوسبرم المغذى (عن Bridgen ١٩٩٤)

ويبين جدول (٨-٥) — كمثال — المراحل التى يصل إليها نمو الجنين قبل انهياره فى بعض الهجن النوعية بالجنس *Phaseolus*

جدول (٨-٥): المراحل التى يصل إليها نمو الجنين فى بعض الهجن النوعية فى الجنس ***Phaseolus*** (عن Mok وآخرين ١٩٨٦)

التهجين	المرحلة التى يصل إليها النمو الجنينى والبذرى
P. vulgaris x *P. coccineus*	أجنة مكتملة النمو وبذور
P. coccineus x *P. vulgaris*	أجنة متغضنة وغير مكتملة التكوين حتى أواخر مرحلة تكوين الفلقات
P. vulgaris x *P. acutifolius*	أجنة غير مكتملة التكوين حتى أوائل إلى أواخر مرحلة تكوين الفلقات
وكذلك التهجين العكسى	
P. vulgaris x *P. lunatus*	أجنة فى المرحلة السابقة لمرحلة النمو القلبى
P. lunatus x *P. vulgaris*	أجنة من أربع خلايا فقط

يتبين من جدول (٨-٥) أن نمو الجنين وتطوره يعد المشكلة الرئيسية فى التهجينات النوعية فى الجنس *Phaseolus* . لذا فإن من الضرورى نقل تلك الأجنة إلى مزارع

الأجنة لكى تكمل نموها. وباستثناء التهجين *P. lunatus* x *P. vulgaris* الذى يستحيل فيه فصل الخلايا الأربع المتكونة، فإن الأجنة فى جميع التهجينات الأخرى المبينة فى الجدول تصل إلى أحجام كبيرة تناسب عملية فصلها وزراعتها دونما مشاكل.

٣ — الضوء ودرجة الحرارة:

تنمو الأجنة أحيانًا بصورة أفضل عندما يُحتفظ بها فى الظلام لمدة أسبوع واحد إلى أسبوعين — بعد زراعتها — وذلك قبل نقلها إلى الضوء للسماح بتكوين الكلوروفيل بها.

وتنمو الأجنة المعزولة — عادة — فى مجال حرارى أوسع مما يمكن أن تتحمله البذور المكتملة التكوين، وغالبًا ما تتم زراعتها فى حرارة ٢٥–٣٠م، ولكن توجد اختلافات بين الأنواع النباتية فى هذا الشأن (عن Bridgen ١٩٩٤).

وسائل حماية الأجنة من الانهيار

كثيرًا ما تنهار الأجنة — فى مزارع الأجنة — إما لكونها تعزل وهى صغيرة للغاية، وإما لكونها تنتج تلقيحات جنسية بعيدة.

وغالبًا .. فإن الأجنة الصغيرة التى تجهض فى المراحل المبكرة لتكوينها يكون من الصعب عزلها وإلى جانب خصوصية الاحتياجات الغذائية لهذه الأجنة الصغيرة، فإن احتمالات الإضرار بها أثناء عزلها تكون كبيرة. وربما يكون من الممكن فى حالات كهذه إنقاذ الجنين من التدهور باستخدام مزارع المبايض (ovary culture) أو البوييضات (البويضات) (ovule culture).

يتم فى مزارع المبايض فصل المبايض بعد التلقيح، ويُزال من حولها الكأس والتويج والأسدية، ثم تعقم المبايض سطحيًّا، وتزرع بغرسها عند الجزء المقطوع من عنق الزهرة فى البيئة المغذية، حيث ينمو المبيض ليعطى ثمرة تحتوى على بذور مكتملة التكوين.

أما فى مزارع البوييضات، فإن المبيض المعقم يشق بمشرط، ثم تخرج منه البوييضات المخصبة وتنقل إلى سطح بيئة الزراعة.

ويعزى نجاح مزارع المبايض أو البوييضات عن مزارع الأجنة إلى عوامل فسيولوجية – خاصة ما يتعلق منها بالتغذية – بالإضافة إلى الحماية التى يوفرها النسيج الأمى للجنين النامى فى مزارع المبايض والبوييضات (عن Bridgen ١٩٩٤).

وقد اتبعت – كذلك – فى المحافظة على الأجنة الجنسية البعيدة من الانهيار طريقة محورة تعرف باسم تقنية in vivo/in vitro transplantation، أمكن عن طريقها إجراء تهجينات بين جنس الشعير *Hordeum* وبعض الأنواع الأخرى، مثل

Hordeum x *Triticum*

Hordeum x *Secale*

Hordeum x *Agropyron*

وبمقتضى هذه التقنية، نُمِّيت الأجنة الهجين على إندوسبرم الشعير فى خارج النبات (in vitro) وحصل على الإندوسبرم من حبوب شعير بعمر ١٤–١٨ يومًا بعد استبعاد أجنتها زرعت تلك الإندوسبرمات فى بيئة صناعية، وزرعت عليها الأجنة الهجين فى مكان الأجنة الأصلية، مع استعمال أجنة هجين بعمر ٩–١٢ يومًا من التلقيح وإذا ما استعملت أجنة هجين صغيرة جدًا، فإنه يمكن زراعة نحو ١٠ أجنة منها على كل إندوسبرم ناضج. وتفيد زراعة أكثر من جنين بالإندوسبرم الواحد فى زيادة فرصة نجاح الزراعة واكتمال نمو الأجنة الهجين. هذا وتستخدم فى تلك التقنية بيئات بسيطة لزراعة الإندوسبرم (عن Sharma وآخرين ١٩٩٦).

أهمية مزارع الأجنة

يستفاد من مزارع الأجنة فى الأمور التالية:

١ – تقصير دورة التربية بالتخلص من حالات سكون البذور التى قد تمتد إلى عدة شهور، وربما إلى سنتين أو ثلاث سنوات كما فى جنس السوسن *Iris*.

٢ – إكثار بعض النباتات التى لا تنبت بذورها، برغم احتوائها على جنين جنسى، كما فى النوع *Musa bulbisiana* القريب من الموز، وهو الذى يمكن إنتاج بادراته بسهولة بزراعة أجنة بذوره فى بيئات صناعية.

ومن المعروف أن بذور نوعا القلقاس *Colocasia esculentum*، و *C. antiquorum* لا يمكنها الإنبات فى الطبيعة، إلا أن أجنتها المفصولة أمكن زراعتها بنجاح فى بيئة مغذية

وفى السحلبية (الأوركيد) orchid تجف البذور وأجنتها مازالت فى مرحلة النمو الكروى، حيث لا يمكنها الإنبات بسبب عدم اكتمال نمو أجنتها فضلاً عن خلوها من الإندوسبرم، ولكن أمكن استنبات أجنة الأوركيد بزراعتها فى بيئة بسيطة

٣ – إنتاج النباتات الأحادية بسبب الاستبعاد الكروموسومى الذى يحدث أحيانًا بعد التهجينات البعيدة كما فى الهجين *Hordeun vulgare* x *H. bulbosum*، حيث تفقد كروموسومات *H. bulbosum* خلال الإنقسامات القليلة الأولى للاقحة، وبمضاعفة النباتات التى تنمو من الأجنة الأحادية بالكولشيسين . يتجمع لدى المربى عدد كبير من النباتات الأصيلة المختلفة عن بعضها وراثيًا، ويمكن انتخاب أفضلها؛ لتصبح أصنافًا جديدة.

٤ – تفيد مزارع الأجنة فى المحافظة على أجنة الأصناف المبكرة جدًّا من بعض محاصيل الفاكهة من التدهور نظرًا لأنها تكون غير مكتملة التكوين وضعيفة الإنبات للغاية، كما فى الأصناف المبكرة من الفاكهة ذات النواة الحجرية والعنب، والكريز، حيث أمكن بزراعة تلك الأجنة فى بيئات صناعية استمرارها فى النمو وإعطائها لنباتات طبيعية وقد استخدمت تلك التقنية فى عديد من الأنواع المحصولية، منها الأفوكادو، والخوخ، والبرقوق، والنكتارين، والعنب، والبلارجونيم *Pelargonium* ولعل أبرز استخدامات تلك التقنية كانت فى تهجين سلالات العنب عديمة البذور، فلكى يكون التهجين بين أصناف العنب ناجحًا لابد أن يكون أحد أبوى التهجين بذريًّا، ولكن أمكن للأجنة إكمال نموها بفصلها من الأصناف البكرية – قبل توقف نموها – وزراعتها فى بيئات صناعية (عن Sharma وآخرين ١٩٩٦).

٥ – إمكانية الحصول على الهجن البعيدة التى يستحيل إنتاجها بالطرق العادية. ويتحقق ذلك فى الحالات التى يبدأ فيها الجنين الهجين فى التكوين بصورة طبيعية بعد التلقيح والإخصاب، إلا أنه يتدهور بعد فترة، ويختفى نظرًا لعدم التوافق بين

الجنين النامى والإندوسبرم. ولقد أمكن الاستفادة من تلك التقنية فى عديد من الأجناس، مثـــل: *Prunus*، و *Carica*، و *Allium*، و *Phaseolus*، و *Brassica*، و *Cucumis*، و *Ulmus*، و *Quercus*، و *Lilium*، و *Viburnum*، و *Nicotiana*، و *Impatiens* وغيرها، كما أمكن — عن طريقها كذلك — الحصول على هجن جنسية مثـل *Hordeum* x *Secale*، و *Hordeum* x *Agropyron*، و *Triticum* x *Aegilops*، و *Triticum* x *Secale* (عن McCown ٢٠٠٣).

ولقد أمكن باستخدام تقنية زراعة الأجنة الحصول على أجنة نوعية وجنسية فى كـل من الأجناس التالية (عن Sharma وآخرين ١٩٩٦):

Solanum	*Lycopersicon*
Oryza	*Phaseolus*
Brassica	*Medicago*
Hordeum	*Agropyron*
Triticum	*Arachis*
Gossypium	*Glycine*
Allium	*Trifolium*
Populus	*Helianthus*
Lotus	*Vitis*
Carica	*Citrus*
Fragaria	*Actinidia*
Vigna	*Trifolium*

ومن بين التهجينات البعيدة فى محاصيل الخضـر التـى أمكـن تحقيقهـا بالاسـتعانة بتقنيات زراعة الأجنة، ما يلى (عن Kalloo ١٩٨٨):

Lycopersicon esculentum x *L. chilense*

L. esculentum x *Solanum lycopersicoides*

L. esculentum x *L. peruvianum*

Abelmoschus esculentus x *A. ficulneus*

A. esculentus x *A. manihot*

A. esculentus x *A. moschatus*

Glycine max x *G. tomentella*

Phaseolus vulgaris x *P acutifolius*

Brassica oleracea x *B. campestris*

B campestris x *B. oleracea*

B. chinensis x *B. pekinensis*

B pekinensis x *B. oleracea*

Cucurbita pepo x *C. moschata*

P acutifolius x *P vulgaris*

P coccineus x *acutifolius*

P coccineus x *P. vulgaris*

P. vulgaris x *P ritensis*

P vulgaris x *P lunatus*

ويبين جدول (٨-٦) نتائج بعض محاولات زراعة الأجنة فى جنس الطماطم *Lycopersicon*

ومن بين أهم الهجن الجنسية التى أمكن الحصول عليها بالاستعانة بتقنية زراعة الأجنة فى محاصيل الحبوب، ما يلى (عن Sharma وآخرين ١٩٩٦)

القمح × الشعير	القمح × الجاودار (الراى) rye
الشعير × الراى	الشوفان (oat) × الذرة
القمح × الذرة	*Lolium* x Festuca
Hordeum x *Elymus*	*Elymus* x *Triticum*

وقد أمكن الاستفادة من مزارع الأجنة فى إنتاج هجن نوعية صعبة فى عدد من الأجناس لنقل صفات هامة من الأنواع البرية إلى الأنواع المزروعة كما يلى:

● فى الجنس *Cucumis* تتوفر المقاومة لنيماتودا تعقد الجذور فى عدة أنواع مثل: *C metuliferus*، و *C anguria*، ولكنها لا توجد فى أى من القاوون *C. melo* أو الخيار *C sativus* وأمكن الحصول على أجنة من التهجين *C. metuliferus* x *C melo* إلا أنه لم يمكن زراعتها لإنتاج نباتات تصلح للشتل، وأعطت التهجينات *C anguria* x *C.*

melo، و *C. metuliferus* x *C. anguria* ثمارًا كانت خالية من البذور الحية، إلاّ أنه أمكن عزل أجنة حية من هذه الثمار قبل اكتمال تكوينها.

● تمكن Fassuliotis & Nelson (١٩٨٨) من الحصول على النباتات الهجين من هذه الأجنة، بزراعتها بعد ٣٤–٩٩ يومًا من التلقيح.

● فى الجنس *Brassica* .. أمكن إجراء التهجين النوعى: *B. napus* x *B. juncea*، باستخدام مزارع الأجنة (Bajaj ١٩٨٦). أما الهجين النوعى *B. napus* x *B. oleracea*، والذى تنتج بذوره بنسبة نجاح تتراوح بين ٠,٠٥٪، و ٠,٣٪ من التلقيحات .. فقد أمكن إنتاجه، بمعدلات وصلت إلى ٢,٦٤٪ باستخدام مزارع الأجنة (Ayotte وآخرون ١٩٨٧).

هذا .. ولمزيد من التفاصيل عن مزارع الأجنة واستعمالها فى مجال تربية النبات .. يراجع Raghavan (١٩٩٣)، و Reed (٢٠٠٥).

مزارع الإندوسبرم وأهميتها

يعد الإندوسبرم نسيجًا ثلاثيًا (٣ن)، يتكون من تزاوج إحدى النواتين التناسليتين الأحاديتين فى حبة اللقاح مع النواتين القطبيتين الأحاديتين فى الكيس الجنينى لتكوين نواة الإندوسبرم الابتدائية؛ لذا .. فإن مزارع الإندوسبرم Endosperm Culture تفيد فى إنتاج نباتات ثلاثية المجموعة الكروموسومية، ويتم ذلك إما بتكوين براعم من الإندوسبرم مباشرة، وإما بعد تكوين نسيج كالس؛ أما تكوين الأجنة .. فلم يتأكد بعد فى مزارع الإندوسبرم.

ويتعين عزل الإندوسبرم الذى يُراد زراعته بعد مدة معينة من التلقيح، تختلف من نوع إلى آخر؛ فهى — مثلاً — ٨–١١ يومًا فى الذرة، و ٤–٧ أيام فى الأرز؛ بينما لا يصلح الإندوسبرم المكتمل النمو للزراعة. وقد نجح إنتاج النباتات الثلاثية من مزارع الإندوسبرم فى عدد محدود نسبيًا من النباتات، منها — على سبيل المثال — الأرز، والكمثرى، والبقدونس، وبعض أنواع الجنس *Citrus*.