زيادة كفاءة استخدام المياه

من الآليات الأخرى التى يمكنها منع فقد امتلاء الخلايا وزيادة كفاءة استخدام المياه زيادة مقاومة الأوراق (بوجود عدد أقل من الثغور، وزيادة مقاومة النسيج الوسطى، وزيادة سمك طبقة الأديم)، وزيادة نسبة الجذور إلى النموات الخضرية (Shannon ١٩٩٧).

ويتبين مما تقدم أن تحمل الملوحة يتوقف على مجموعة من الخصائص، هى:

١- مورفولوجى النبات.

٢- القدرة على تحديد تواجد الأملاح – التى تُعَدل بها جهدها المائى – فى الفجوات العصارية.

٣- القدرة على إنتاج وتراكم المركبات العضوية الذائبة المتوافقة فى السيتوبلازم.

٤- القدرة على تنظيم النتح.

٥- خصائص الأغشية الخلوية.

٦- القدرة على تحمل تواجد نسبة عالية من الصوديوم إلى البوتاسيوم فى السيتوبلازم.

٧- وجود الغدد الملحية التى تمكنها من التخلص من الأملاح المتراكمة فيها (Flowers & Flowers ٢٠٠٥).

اتجاهات التربية لتحمل الملوحة

يمكن تحسين تحمل الملوحة فى النباتات بأى من الوسائل التالية:

١- استئناس وتطوير النباتات المحبة للملوحة halophytes كمحاصيل بديلة، وهو الأمر الذى تناولناه بالشرح من قبل فى هذا الفصل.

٢- اللجوء إلى التهجينات النوعية، ونتناول هذا الأمر بالدراسة تحت مختلف المحاصيل فى الفصل الحادى عشر.

٣- الاستفادة من التباينات المتوفرة بالفعل فى مختلف المحاصيل الزراعة، كما سيأتى بيانه فى الفصل التالى.

٤- إحداث تباينات بالمحاصيل المزروعة باللجوء إلى الانتخاب المتكرر واستحداث الطفرات ومزارع الأنسجة.

٥- التربية للمحصول العالى بدلاً من التربية للتحمل.

٦- الهندسة الوراثية، وهو الأمر الذى نتناوله بالتقديم فى نهاية الفصل التالى.

ولقد جرت محاولات للتربية لتحمل الملوحة فى عدد من المحاصيل، منها: الطماطم، وفول الصويا، والأرز، والبرسيم الحجازى، والذرة الرفيعة، والقمح، والدخُن، والذرة.

علاقة الأساس الفسيولوجى لتحمل الملوحة بالاتجاه الذى يسلكه المربى فى تربية المحصول

يتوقف الاتجاه الذى يسلكه المربى لتحسين تحمل نباتاته للملوحة (أو الأساس الفسيولوجى المناسب لصفة تحمل الملوحة) على تركيز الأملاح فى الوسط أو البيئة التى يُراد زراعة تلك النباتات فيها، كما يلى:

١- عندما تتوفر الأملاح فى البيئة بصورة غير عادية، ولكن بتركيزات منخفضة نسبيًّا:

يكون تحقيق التوازن الأسموزى مع الأملاح الخارجية — فى هذه الحالة — مقبولاً أيضًا؛ ذلك لأن ضرر الملح — عندما يوجد بتركيزات منخفضة فى البيئة الخارجية — يرجع أساسًا إلى امتصاصه بكميات كبيرة، ثم انتقاله إلى مختلف الأنسجة النباتية. ويؤدى مجرد الحد من امتصاص الملح — فى هذه الحالة — إلى زيادة تحمل النبات للملوحة. ويعد الأرز والذرة من المحاصيل التى تستجيب لهذا الاتجاه فى التربية.

٢- عندما تتواجد الأملاح بتركيزات متوسطة:

لا يكفى مجرد التمييز ضد أيونى الصوديوم والكلور فى الامتصاص عندما يتواجدان فى المحلول الأرضى بتركيزات عالية، بل ينبغى أن يكون النبات قادرًا على تحقيق

توازن أسموزى مع الكميات التى تُمتص منهما، والتى يتعين فصلها فى الفجوات العصارية، مع زيادة تركيز المركبات العضوية الذائبة فى السيتوبلازم لتحقيق التوازن المطلوب. ويعد الشعير والقمح وجنساهما (*Hordeum*، و *Triticum*) من النباتات التى تستجيب لهذا الاتجاه فى التربية لتحمل الملوحة، ولكن يحد من التقدم فى التربية — فى تلك الحالات — أن قدرة هذه النباتات على تكوين مزيد من الفجوات العصارية الكبيرة محدودة.

٣- عندما تتواجد الأملاح فى البيئة الخارجية بتركيزات عالية:

يتعين فى هذه الحالات أن تكون النباتات قادرة على تخصيص حجيرات للأملاح مفصولة عن السيتوبلازم، كما فى النباتات العصيرية، أو أن يوجد فيها غدد ملحية للتخلص من الأملاح الزائدة. وخاصة فى النباتات غير العصيرية السريعة النمو. وهذه النباتات تكون بطبيعتها من المحبة للملوحة (Yeo & Flowers ١٩٨٩).

مزارع الأنسجة واستخداماتها فى الانتخاب لتحمل الملوحة

استخدمت تقنيات مزارع الأنسجة بنجاح فى الحصول على سلالات خلايا متحملة للملوحة فى عديد من الأنواع النباتية، مثل التبغ، والبرسيم الحجازى، والأرز، والذرة، والسورجم. وقد أدى اكتساب صفة القدرة على تحمل الملوحة فى سلالات الخلايا — فى كثير من الأحيان — إلى فقد تلك الخلايا لقدرتها على تجديد النمو، كما لم تكن النباتات — التى أمكن الحصول عليها أحيانًا — من سلالات الخلايا المتحملة للملوحة العالية .. لم تكن تلك النباتات متحملة للملوحة، ولم يحصل على تلك الصفة فى نباتات كاملة مع توريثها للنسل إلا فى حالات قليلة.

أمثلة على حالات تحمل الملوحة

نقدم فى جدول (١٠-٣) بعض الأمثلة على حالات تحمل الملوحة التى ظهرت كتباينات فى مزارع الأنسجة.

جدول (١٠-٣): أمثلة لحالات انتخاب لسلالات خلايا كانت قادرة على تحمل الملوحة فى مزارع الأنسجة، وأمكن تجديد نموها وظهرت الصفة فى النباتات الكاملة وانتقلت إلى أنسالها (عن Chawla ٢٠٠٠).

النوع المحصولى	الجزء النباتى المستخدم فى مزارع الأنسجة	الملح المستخدم والتركيز (جم/لتر)
الأرز	الكالس الجنينى	كلوريد الصوديوم (١٠، ٢٠)
	البذور المكتملة التكوين	كلوريد الصوديوم (١٥)
القمح	الجنين غير المكتمل التكوين	كلوريد الصوديوم (٢-٧)
	الجنين المكتمل التكوين	كلوريد الصوديوم (٥)
لفت الزيت	الفلقات	كلوريد الصوديوم (٧,٥-١٠)
	الأجنة الجسمية	كلوريد الصوديوم (حتى ١٢,٥)
	الأجنة الناتجة من الـ microspores	كلوريد الصوديوم (٦-٧)
Vigna radiata	الفلقات من بادرات المزارع	كلوريد الصوديوم (حتى ١٥٠ ملى مول)
البرسيم الحجازى	الكالس الناتج من الأجنة غير المكتملة التكوين	كلوريد الصوديوم (١٠)
التبغ	البروتوبلاست الأحادى	كلوريد الصوديوم (١١,٧)
الكتان	الكالس	ملح كبريتات (٢٦,٨)

ومن بين الحالات الأخرى التى انتخبت فيها تباينات مزارع متحملة للملوحة، ما يلى (عن Remotti ١٩٩٨):

النوع النباتى	معاملة الانتخاب
Beta vulgaris	٧,٦ جم/لتر أملاح
Brassica juncea	٥-٢٠ جم/لتر كلوريد صوديوم
Citrus sinensis	٢,٩٢ جم/لتر كلوريد صوديوم
Coleus blumei	٥,٢٥ جم/لتر كلوريد صوديوم
Colocasia esculenta	أملاح مختلفة
Hordeum vulgare	١٠ جم/لتر كلوريد صوديوم
Linum usitatissimum	٢,٥-٣٪ أملاح
Medicago sativa	١٠ جم/لتر كلوريد صوديوم

النوع النباتى	معاملة الانتخاب
Nicotiana tabacum	٨,٨–٣٣,٤ جم/لتر كلوريد صوديوم
Oryza sativa	١٠–٢٠ جم/لتر كلوريد صوديوم
Poncirus trifoliata	٥–١٠ جم/لتر كلوريد صوديوم
Sorgum bicolor	٥ جم/لتر كلوريد صوديوم

كذلك عزلت سلالات خلايا ذات قدرة أكبر على تحمل الملوحة من عديد من الأنواع النباتية (جدول ١٠–٤)، كما تبين ثبات صفة التحمل أثناء الانقسام الميتوزى فى عديد من الدراسات، والتى أمكن فى بعضها تجديد النمو بتكوين الأجنة أو النباتات. ويجب أن نتذكر أن الافتراض الرئيسى فى هذه النوعية من الدراسات هو أن الأساس الفسيولوجى لصفة تحمل الملوحة يتشابه – جزئيًا على الأقل – على مستوى الخلوى مع نظيره فى النباتات الكاملة النمو.

إن أهم الاستنتاجات التى يمكن استخلاصها من جدول (١٠-٤) ما يلى:

١ – أظهر الانتخاب لتحمل الملوحة فى مزارع الخلايا (الكالس والمعلقات) فاعلية كبيرة فى كل من النباتات وحيدة الفلقة وذوات الفلقتين، والحولية والمعمرة، التى تنتمى لعائلات كثيرة متنوعة.

٢ – أضيف الملح فى معظم الحالات إلى نسيج كالس أو إلى معلقات خلايا سبق تحضيرها.

٣ – اعتمد نجاح انتخاب سلالات خلايا متحملة للملوحة – غالبًا – على التباينات التى تحدث طبيعيًا، ولم يكن تأثير استعمال العوامل المطفرة فى المزارع بذى أهمية كبيرة. هذا .. ويذكر بعض الباحثين أن كلوريد الصوديوم – فى حد ذاته – قد يحفز تكوين تباينات المزارع.

٤ – وجدت علاقة إيجابية بين زيادة إنتاج البرولين والقدرة على تحمل الملوحة فى بعض الأنواع.

٥ – تفيد أقلمة المزارع على الضغط الأسموزى المرتفع باستعمال البوليثيلين جليكول

جدول (١٠-٤): تباينات المزارع المتحملة للملوحة، وظروف الزراعة، وتجديد النمو وانتقال الصفة للنسل جنسيًّا (عن Tal ١٩٩٠).

مسلسل	النوع	المزرعة[أ]	الملح أو الأملاح والتركيز (mM)[ب]	التعرض للملح OS: دفعة واحدة G: تدريجي	الثبات فى بيئة خالية من الملح T: عدد النقلات G: عدد الأجيال	تجديد النمو (R_o)[جـ]	تحمل الـ R_o	الانتقال الجنسى
١	*Avena sativa*	كالس	١٧٠	G		+ (نباتات)		
٢	*Brassica napus*	كالس	(Na_2SO_4)١٧٦	OS، و G		+(جذور)		
٣	*B. napus*	كالس	(Na_2SO_4)١٤٠		+(T ١٣)			
٤	*Capsicum annuum*	كالس ومعلق	١٧١، و ٣٤٢	OS	+(T ٣)			
٥	*Pisum sativum*	كالس ومعلق	(M)٤٢٧	G، و OS		+(جذور)		
٦	*Cicer arietinum*	كالس	(H)١٠٠	OS	+(T ٣)			
٧	*Citrus sinensis*	كالس ومعلق	(M)٢٠٠	G	+(T ٣)	+(أجنة) ونباتات		
٨	*C. aurantium*	كالس ومعلق	(M) ١٥٠	G	+(T ٣)	+(أجنة)		
٩	*Colocasia esculenta*	كالس ومعلق	ماء بحر تركيبى	G		+(نباتات)		
١٠	*Datura innoxia*	كالس (1n)	١٧١	OS	+(شهر واحد)	+(نباتات)	+(كالوس)	
١١	*Daucus carota*	كالس				+(نباتات)	+	
١٢	*D. carota*	كالس	ماء بحر تركيبى					
١٣	*D. carota*	معلق (1n)	DR → SR	G				
١٤	*Glycine max*	1n	($NaNO_3$)٦٤					
١٥	*Ipomoea batatas*	معلق	١٧١	OS	+ (T ٣)			
١٦	*Kickxia ramossima*	أنواع مختلفة	٢٤٠		+(T ٣)	+(نباتات)		
١٧	*Linum usitatissimum*		أملاح كبريتات	OS		+(نباتات)	+	+
١٨	*Lycopersicon esculentum*	معلق	DR → SR					
١٩	*L. esculentum*	فلقات	١٢٨	OS	+ (نموات)			
٢٠	*Medicago sativa*	كالس ومعلق	(H)١٧١	OS		+(نباتات)		
٢١	*M. sativa*	معلق				+(نباتات)	−	
٢٢	*M. sativa*	كالس	٨٥، و ١٧١	G	+(T ٤)	+(نباتات)		

تابع جدول (١٠-٤):

مسلسل	النوع	المزرعة[أ]	الملح أو الأملاح والتركيز (mM)[ب]	التعرض للملح OS: دفعة واحدة G: تدريجى	الثبات فى بيئة خالية من الملح T: عدد النقلات G: عدد الأجيال	تجديد النمو (R_o)[جـ]	تحمل الـ R_o	الانتقال الجنسى
٢٣	*Nicotiana sylvestris*	معلق (1n)	١٧١	G				
٢٤	*N. Sylvestris*	كالس ومعلق	١٧١، و ٣٤٢	OS	(T ٣)+			
٢٥	*N. tabacum*	معلق	(M)١٥٠	G		+(نباتات)	+	+
٢٦	*N. tabacum*	معلق وكالس	(SR→DR)١٣٠	G				
٢٧	*N. tabacum*	معلق	١٧١	G	(Tواحد) -			
٢٨	*N. tabacum*	معلق	٦٠٠، و ٧٧٠	G				
٢٩	*N. tabacum*	معلق	٤٢٨	G	(G ١٠٠) +	+(نباتات)	+	+
٣٠	*N. tabacum*	معلق	٢٠٠، و ٥٠٠	G	(G ٢٤، و G ٥٦) +			
٣١	*N. tabacum*	كالس	(Na_2SO_4)٧٠	OS		+(نباتات)	+	+
٣٢	*N. tabacum*	معلق	Sjelenocystine، و Selenomethioine					
٣٣	*Oryza sativa*	كالس ومعلق	٢٥٦، و ٣٤٢ (H)					
٣٤	*O. sativa*	كالس	ماء بحر	OS			+	+
٣٥	*Pennisetum americanum*	معلق جنينى	٢٠٠	G	(T ٧)+	+(أجنة)		
٣٦	*P. purpureum*	كالس جنينى	٢١٤، و ٣٤٢(H)	OS، و G	-	+ (نباتات)	-	
٣٧	*P. purpureum*					+ (نباتات)	+	
٣٨	*P. purpureum*	كالس	٣٤٢	OS	+	+ (نباتات)	+	
٣٩	*Saccharum*	معلق وكالس	(H)٢٥٧	G				
٤٠	*Solanum melongena*	كالس	(H) ١٧١	G	(٤شهور) +			
٤١	*S. tuberosum*	معلق(2n)	(M)					

تابع جدول (١٠–٤):

مسلسل	النوع	المزرعة[أ]	الملح أو الأملاح والتركيز (mM)[ب]	التعرض للملح OS: دفعة واحدة G: تدريجى	الثبات فى بيئة خالية من الملح T: عدد النقلات G: عدد الأجيال	تجديد النمو (R_o)[جـ]	تحمل الـ R_o	الانتقال الجنسى
٤٢	*S. tuberosum*	كالس ومعلق	(DR→SR)	G، و OS	(T_o)+			
٤٣	*Sorghum bicolor*	كالس	٨٦	OS		+ (نباتات)		؟+
٤٤	*Triticum aesativum*	كالس جنينى	١٠٣	G		+ (نباتات)		
٤٥	*Vitis rupensis*	كالس ومعلق	١٥٠	OS، و G	(T ٣)+	+ (أجنة)		
٤٦	Colt cherry	كالس وبروتوبلاست	٢٠٠(NaCl، و KCl، و Na_2SO_4)	OS		+ (نباتات)		
٤٧	*O. sativa*	كالس	٣٤٢ (M)	OS		+ (نباتات)		+

أ – الأنواع ١ إلى ٣٤: كونت كالس فى بيئة ملحية؛ النوع ٣: سلالات الخلايا التى أنتجت برولين بكثرة كانت أكثر تحملاً لكبريتات الصوديوم؛ النوع ٤١: سلالات الخلايا المقاومة للـ hydroxyproline أظهرت تحملاً أكبر لكل من كلوريد الصوديوم والصقيع.

ب – كان الملح المستخدم هو NaCl إلا إذا ذكر خلاف ذلك. التركيز المشار إليه هو إما التركيز الوحيد الذى تم استعماله أو أعلى تركيز استعمل فى سلسلة من التركيزات. M تعنى معاملة لاستحداث الطفرات mutagenic treatment. SR→DR، و DR→SR تعنى أن الخلايا المتأقلمة على الملوحة عرضت لشد جفافى أو العكس. H تعنى استجابة الخلايا كانت مماثلة لاستجابة الأنواع المحبة للملوحة halophytic response.

جـ – النوع ٢٠: كانت النباتات متقزمة وضعيفة وبطيئة النمو؛ النوع ٢٢: الشكل المظهرى للنباتات غير طبيعى، مع عدم توازن كروموسومى وعقم؛ النوع ٢٦: شيخوخة وموت مبكرين؛ ٢٨: تباين فى القدرة على تحمل كلوريد الصوديوم بين أجزاء الجنين، و ٢٩: صفات كثيرة متغيرة، و ٣٤: ضعف الخصوبة وعدم ثبات صفة التحمل، والنوع ٤٣: فُقدت نباتات أثناء أقلمتها، وكان بعضها ألبنيو، وكانت الخضراء ضعيفة الخصوبة.

أو الملى بيوز milibiose– قبل تعريضها لتركيزات عالية من الأملاح — يفيد ذلك فى زيادة فرصة عزل سلالات خلايا متحملة للملوحة.

٦ — بناء على دراسات أجريت على مزارع خلايا التبغ فإن التركيز المعتدل من ملح الطعام (١٧١ ملل مولار) يؤدى إلى عزل سلالات متأقلمة على الملوحة تكون قادرة على العودة إلى حالتها الطبيعية بمجرد وقف التأثير الملحى؛ هذا .. بينما يؤدى تعريض المزارع إلى تركيز عالٍ من نفس الملح (٤٢٨ ملل مولار) إلى عزل سلالات على درجة عالية من تحمل الملوحة نتيجة للجمع ما بين خاصيتى التأقلم (وهى التى تفقد بزوال المؤثر) وازدياد فى أعداد الخلايا المتحملة وراثيًا للملوحة من بين تلك التى كانت متواجدة طبيعيًا فى مزرعة الخلايا منذ البداية، وهى خاصية لا تفقد عند تجديد نمو الخلايا وزوال المؤثر.

٧ — تضاربت آراء الباحثين بشأن كيفية تعريض مزارع الخلايا للتركيزات العالية من الأملاح .. أيكون مرة واحدة على صورة صدمة أسموزية، أم يجرى بصورة تدريجية؟ ولكن يعتقد بأن إعطاء المعاملة بالتركيز المرتفع مرة واحدة يزيد من نسبة الخلايا "المقاومة" على حساب الخلايا التى يحدث فيها "تأقلم" مؤقت.

٨ — كان مقياس تحمل التركيزات العالية من الأملاح فى معظم الدراسات هو أعداد الخلايا أو وزنها الطازج أو الجاف خلال فترة زمنية معينة؛ نظرًا لتأثر معدل النمو بمدى مقاومة الخلايا للملوحة أو تأقلمها عليها.

٩ — تُقاس خاصية ثبات القدرة على تحمل الملوحة بتجديد زراعة المزرعة عدة مرات فى بيئة خالية من الملح، ثم إعادة زراعتها فى وجود الملح، علمًا بأن هذا الاختبار يميز بسهولة بين خاصيتى "المقاومة" و "التأقلم"؛ نظرًا لأن الأخيرة تفقد سريعًا خلال فترة تجديد النمو فى غياب الملح.

١٠ — على الرغم من السهولة التى يتم بها عزل سلالات خلايا متحملة للملوحة العالية، فإن نسبة ما أمكن تجديد النمو منها قاربت من النصف، بينما لم تنتقل تلك الخاصية جنسيًا — عن طريق البذور — سوى فى حالات قليلة فقط، ويعد السبب

الرئيسى فى ذلك هو تردى نمو النباتات التى يتجدد نموها من تلك المزارع وانخفاض نسبة الخصوبة فيها. وبينما يكون من الصعوبة بمكان الاحتفاظ بالنباتات التى تعانى من الاضطرابات الكروموسومية بما تسببه من مشاكل فى النمو والخصوبة، فإن كثيرًا من حالات اضطرابات النمو الأخرى قد ترجع إلى أسباب تقنية تتعلق بالبيئات المستخدمة ومكوناتها وظروف عمليات تجديد النمو والأقلمة، وهى أمور يمكن — غالبًا — التحكم فيها (عن Tal ١٩٩٠).

هذا .. ومازالت الجدوى الاقتصادية للنباتات المتحملة للملوحة المنتخبة من مزارع الأنسجة أمرًا مجهولاً، حيث لا يعرف على وجه التحديد الثمن الذى يدفعه النبات — فى صورة نقص فى معدل النمو — عندما يُصبح متحملاً للشدِ الملحى (عن Remotti ١٩٩٨).

طريقة معاملة المزارع بالأملاح لأجل الانتخاب لتحمل الملوحة

تتباين آراء الباحثين بشأن طريقة معاملة مزارع الأنسجة بالأملاح لأجل الانتخاب لتحمل الملوحة بين من يرى ضرورة إجراء المعاملة بالتركيز المطلوب (وهو الذى يكفى لقتل ٥٠–٩٥٪ من الخلايا) مرة واحدة، ومن يرى ضرورة الوصول لهذا التركيز بصورة تدريجية. يدافع أصحاب الرأى القائل بضرورة تعريض المزرعة للتركيز الملحى العالى مرة واحدة بأن ذلك يسمح بقصر الانتخاب على الخلايا ذات القدرة العالية على تحمل الملوحة، بينما يعطى تعريض المزرعة لتركيزات متزايدة من الأملاح الفرصة للخلايا لأن تتأقلم على الملوحة العالية — وهو أمر يحدث بصورة طبيعية عند التعرض التدريجى لأى شدٍ بيئى — وبذا .. فإن كثيرًا من الخلايا الحساسة أصلاً للملوحة العالية قد يتم انتخابها على أنها متحملة. هذا .. بينما يرى أصحاب الرأى الثانى أن التعرض الفجائى للتركيز العالى من الأملاح قد لا يعطى الخلايا ذات القدرة الوراثية العالية على تحمل الملوحة الفرصة لأن تهئ نفسها لتحمل تلك التركيزات الملحية العالية؛ فتموت قبل أن تُظهر تلك القدرة. ولا شك أن ترجيح أحد الرأيين على الآخر يتطلب فهمًا أفضل لظاهرة التأقلم (عن Gulati & Jaiwal ١٩٩٧).

إن الانتخاب لتحمل الملوحة فى مزارع الأنسجة يؤدى — فى كثير من الأحيان — إلى حدوث تأقلم مؤقت للتركيزات العالية من الأملاح؛ حيث تكون الخلايا قادرة على تخزين الملح الزائد فى الفجوات العصارية، وتحتفظ بقدرتها على البقاء بتعديل الضغط الأسموزى. ويؤدى هذا التأقلم إلى تقليل الانقسام الخلوى وزيادة مدته. وفى إحدى الدراسات حُصل على سلالات خلايا تبغ متحملة لتركيز ١٠ جم/لتر من كلوريد الصوديوم، ولكنها عادت إلى حالتها الطبيعية باختفاء حالة الشدِّ الملحى. وبزيادة تركيز كلوريد الصوديوم إلى ٢٥جم/لتر حُصل على سلالات متحملة للملوحة وثابتة (Jain ٢٠٠١).

وتتأثر الاستجابة للشدِّ الملحى فى مزارع الأنسجة بكل من العوامل التالية:

١ — نوع الملح المستخدم.
٢ — مدة التعرض للشدِّ الملحى.
٣ — تركيب بيئة الزراعة.
٤ — الظروف البيئية التى تتعرض لها المزرعة.
٥ — مصدر الجزء النباتى المستخدم فى الزراعة (الـ explant).
٦ — تركيز المعلق الخلوى.
٧ — مرحلة النمو الزرعى.

وللتفاصيل المتعلقة بدور كل واحد من تلك العوامل .. يراجع Gulati & Jaiwal (١٩٩٧).

مستوى التعبير عن تحمل الملوحة .. التعبير على المستويين الخلوى والنبات الكامل

عند الانتخاب لتحمل الملوحة فى مزارع الأنسجة يجب أن تكون خاصية التحمل فى النباتات المكتملة النمو قائمة على أساس خلوى، أى أن تكون تلك الخاصية متماثلة على كل من المستويين: الخلوى والنبات الكامل، وهو أمر قد لا يتحقق فى كثير من الحالات، ولعل ذلك هو السبب فى أن الانتخاب لتحمل الملوحة فى مزارع

الأنسجة لا يقود — غالبًا — إلى تحسين تلك الخاصية فى النباتات البالغة (Dracup ١٩٩٣).

وعندما يوجد ارتباط موجب بين تحمل مزارع الخلايا للملوحة وتحمل النبات الكامل، فإن ذلك يكون دليلاً على اعتماد كليهما على خاصية واحدة مشتركة تكون هى المسئولة عن تحمل الملوحة. ولكن عندما يكون الارتباط سالبًا — كأن يكون النبات الكامل متحملاً للملوحة، بينما تكون الخلايا المفردة حساسة — فإن ذلك يكون دليلاً على أن خاصية تحمل الملوحة تعتمد على انتظام الخلايا على صورة أنسجة والأنسجة على صورة أعضاء فى النبات الكامل.

ومن الأمثلة التى حُصل فيها على مختلف حالات الارتباط بين تحمل الملوحة فى كل من النبات البالغ وحالات الخلايا، ما يلى (عن Tal ١٩٩٠).

١ — الارتباط موجب.

أ — النبات مُتحمل والخلايا متحملة: *Lycopersicon pennellii*، و *L. peruvianum*، والبنجر، والبرسيم الحجازى، ولفت الزيت.

ب — النبات حساس والخلايا حساسة: الطماطم، والفاصوليا، والشعير.

٢ — الارتباط سالب.

أ — النبات مُتحمل والخلايا حساسة: *L. pennellii*.

ب — النبات حساس والخلايا متحملة: الفاصوليا، والأرز.

الأساس الفسيولوجى لتحمل الملوحة المنتخبة فى مزارع الأنسجة

يتراكم البرولين فى مزارع أنسجة كلا من النباتات العادية glycophytic، والنباتات المحبة للملوحة halophytic عندما تتعرض لتركيزات عالية من أى من كلوريد الصوديوم أو كبريتات الصوديوم. وتؤدى إضافة البرولين إلى بيئات زراعة الأنسجة المحتوية على تركيزات ملحية عالية إلى تحفيز نمو وبقاء الخلايا والأنسجة والنباتات الكاملة. ويستدل من ذلك على أن البرولين ربما يوفر الحماية للأنسجة النباتية من حالات الشدّ الملحى

بالعمل كمركب خازن للنيتروجين، وكمحلول أسموزى، وكحامٍ للإنزيمات والتركيب الخلوى. ولذا .. فإن الطفرات التى تُنتج البرولين بوفرة ربما تكون أكثر تحملاً للملوحة. وقد أمكن عزل طفرات كهذه بتعريض الخلايا لنظائر البرولين proline analogues، التى تسبب تثبيطًا لعمل الإنزيمات المنظمة لتمثيل البرولين. كما قد يُنتج البرولين بوفرة نتيجة لزيادة نشاط الإنزيمات المسئولة عند تمثيله، أو تثبيط الإنزيمات التى تعمل على تحلله.

ولقد أمكن الحصول على قدر أكبر من المقاومة للملوحة العالية فى سلالات خلايا طفرية يتراكم فيها البرولين فى عديد من الأنواع النباتية، منها: الشعير، والجزر، والبطاطس، و *Nicotiana sylvestris*، و *Vigna radiata*، و *Arabidopsis thaliana*. ووجد أن سلالات القمح التى كانت مقاومة للهيدروكسى برولين hydroxyproline تراكم بها البرولين بتركيزات وصلت إلى ١٧ ضعف التركيز العادى وكانت متحملة للصقيع. هذا .. إلاّ أن سلالات الأرز المقاومة للهيدروكسى برولين والتى تراكم فيها البرولين بتركيزات وصلت إلى ١٥–٣٠ ضعف التركيز العادى لم تكن متحملة للشدّ الناتج من أى من الملوحة، أو المانيتول، أو الـ PEG، أو الصقيع.

وقد انتخبت تباينات مزارع من *Brassica juncea* كانت ذات محتوى أعلى من البرولين الحر تحت ظروف الشدّ الملحى عن النباتات الأصلية، وكانت تلك الزيادة فى مستوى البرولين راجعة إلى زيادة فى نشاط الإنزيم pyrroline-5-carboxylate reductase الذى يحفز الخطوة الأخيرة فى مسار تمثيل البرولين.

وعلى خلاف ما تقدم بيانه .. فإن السلالات المتحملة للملوحة من كل من *N. sylvestris* والباذنجان لم يتراكم بها البرولين بدرجة أكبر عما فى السلالات غير المنتخبة؛ بما قد يعنى أن البرولين لا يلعب دورًا فى عملية الأقلمة على الشدّ الملحى (أو البيئى عمومًا)، وأنه ربما يكون مجرد مظهر من مظاهر الشدّ (عن Gulati & Jaiwal ١٩٩٧).

كذلك لوحظ فى بعض تباينات المزارع المتحملة للملوحة تراكمًا فى بروتين معين (٢٤ كيلودالتون) أطلق عليه اسم أوزموتين ١ (Osmotin-I)، وفى حالات أخرى كانت صفة التحمل مصاحبة بتغيرات إنزيمية، أو بتواجد تركيز عالٍ من البرولين. كذلك وجدت حالات تَتَحمل الملوحة العالية نَشَطَت فيها جيناتٌ استبعاد الكلورين chlorine-excluder genes، وتواجدت فيها مركبات حامية من الضغط الأسموزى العالى (osmoprotectants) مثل الجليسين بيتين glycene-betaine (عن Remotti ١٩٩٨).

وللإطلاع على نتائج مزيد من الدراسات التى أجريت فى هذا المجال .. يراجع — كذلك — Gulati & Jaiwal (١٩٩٧).

تقييم النباتات لتحمل الملوحة

يُواجه المربى الذى يهتم بتحسين تحمل النباتات للملوحة بمشكلة كبرى، وهى أن صفة التحمل ليست صفة بسيطة، وإنما هى محصلة لعدة صفات تعتمد على أسس فسيولوجية مختلفة يصعب — غالبًا — تحديدها. إن الشكل الظاهرى النهائى للنبات (والمتمثل فى استجابته للملوحة) ربما لا يكون دليلاً على قيمته الوراثية الحقيقية — بالنسبة لتحمله للملوحة — لأن الصفات المفيدة يمكن أن يختفى دورها فى وجود عوامل أخرى؛ فيبدو النبات حساسًا.

إن تقييم النباتات لتحمل الملوحة — بزراعتها فى وسط ملحى — قد يترتب عليه إظهار بعض الاختلافات المورفولوجية المتوفرة، ولكن عدم ظهور اختلافات مورفولوجية لا يعنى عدم وجود تباينات مفيدة. ومن الأهمية بمكان التعرف على تلك التباينات؛ ليمكن جمعها فى تركيب وراثى واحد (Yeo & Flowes ١٩٨٩).

صعوبات التقييم لتحمل الملوحة

يواجه الانتخاب المباشر للتراكيب الوراثية المتحملة للملوحة — التى تقيم فى ظروف الحقل الطبيعية — مشاكل عدة، منها: عدم تجانس التربة فى ملوحتها، والتأثير الكبير