١١ - **التكاثر بواسطة زراعة الأنسجة** : بغرض الإكثار السريع للنباتات المرغوبة ، ولإنتاج نباتات خالية من الفيروسات ، وهو الأمر الذى نتناوله بالتفصيل فيما تبقى من هذا الفصل .

التكاثر الخضرى بواسطة زراعة الأنسجة

يعد التكاثر بواسطة زراعة الأنسجة Tissue Culture إحدى طرق التكاثر الخضرى التى تتبع إما لإنتاج نباتات خالية من الفيروسات بإكثارها من القمة الخضرية الميرستيمية ، وإما لغرض الإكثار السريع الدقيق لأى نبات ، أو صنف ذى صفات مرغوبة ؛ فنحصل فى خلال فترة وجيزة على عدد ضخم من النباتات المثيلة له .

مزارع القمة الخضرية الميرستيمية

يستفاد من مزارع القمة الخضرية الميرستيمية Meristem Shoot Tip Culture فى إنتاج نباتات خالية من الإصابات الفيروسية ، ويعد ذلك أمراً بالغ الأهمية فى المحاصيل التى تتكاثر خضرياً ، والتى تنتقل فيها الفيروسات تلقائيا مع الأجزاء الخضرية المستخدمة فى التكاثر .

وبرغم أن النباتات تكون مصابة جهازياً بالفيروسات .. إلا أن القمة النامية تكون غالباً خالية تماماً من الفيروسات ، أو لاتحتوى إلا على قليل جداً منها ، ويرجع ذلك إلى الأسباب الآتية :

١ - خلو القمة الميرستيمية من الأنسجة الوعائية التى يكون انتقال الفيروسات فيها سريعاً ، بينما يكون انتقالها خلال الروابط البروتوبلازمية أبطأ من سرعة نمو القمة النامية .

٢ - يكون النشاط الأيضى فى الخلايا الميرستيمية عالياً بدرجة يقل معها تكاثر الفيروس فيها .

٣ - تكون نظم المقاومة لتكاثر الفيروسات أعلى فى الأنسجة الميرستيمية مما فى أى نسيج آخر .

٤ - قد يثبط التركيز العالى للأكسين الطبيعى فى القمة النامية نشاط الفيروسات فيها .

ولهذه الأسباب مجتمعة .. فإن فصل القمة الميرستيمية وزراعتها فى بيئة صناعية يؤدى إلى إنتاج نباتات خالية من الإصابات الفيروسية . وقد استخدمت هذه التقنية تجارياً ، لإنتاج نباتات خالية من الإصابات الفيروسية من عديد من الأنواع النباتية ؛ مثل : الشليك ، والبطاطس ، والبطاطا ، والروبارب ، والكاسافا ، والكرسون المائى ، واليام ، وقصب السكر ، والتفاح ، والموز ، وعديد من نباتات الزينة التى تتكاثر خضرياً .

ويفضل استعمال مصطلح مزارع القمة الميرستيمية Meristem - Tip Culture فى حالة استعمال القمة الميرستيمية فى الزراعة ، وهى التى يكون عرضها – عادة – حوالى ١٠٠ ميكرون ، وطولها حوالى ٢٥٠ ميكروناً . وبرغم أن هذا الجزء ينتج – غالباً – نباتات خالية من الفيروس .. إلا أنه قد يصعب فصله ؛ لذا .. تستعمل – أحياناً – القمة النامية كلها ، وهى التى يكون عرضها – عادة – ١٠٠ ميكرون ، وطولها ٥٠٠ ميكرون . ويطلق على المزارع فى هذه الحالة ١سم Shoot - Tip Culture . وهى تنتج كذلك نباتات خالية من الفيرس فى أغلب الأحيان .

تفصل القمم النامية تحت المجهر . ويعد فصل القمة النامية سريعاً – دون إحداث أضرار بها – من أهم مقومات نجاح مزارع القمة الميرستيمية . هذا .. بالإضافة إلى أهمية بيئة الزراعة التى يجب أن تكون محفزة لتكوين الجذور والأوراق من القمم الميرستيمية المزروعة (عن Ohojwane & Razden ١٩٨٣) . ولمزيد من التفاصيل عن مزارع القمة الميرستيمية وتطبيقاتها .. يراجع Ingram & Helegson (١٩٨٣) .

مزارع الإكثار الدقيق

يستفاد من مزارع الإكثار الدقيق فى إنتاج سلالات خضرية تحتوى على عشرات الآلاف من النباتات الصغيرة خلال فترة وجيزة . ويفضل دائماً استخدام القمة الميرستيمية ؛ لكى تكون النباتات المنتجة خالية من الفيروسات . أما إن لم يكن ذلك ضرورياً .. فإنه 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 جزء 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 الاختبار على قدرة العضو النباتى على تكوين براعم عرضية .

يحدث التكاثر الدقيق فى المزارع بواحدة من ثلاث طرق ، هى :

١ - من خلال الكالس

إن القدرة الفائقة للخلايا النباتية على التكاثر فى المزارع وإنتاج نسيج كالس Callus Tissue .. تعطى فرصة كبيرة لإنتاج أعداد كبيرة من النباتات من هذه الخلايا لدى حدوث التميز النباتى بها . ويحدث التميز إما بتكوين الجذور والنموات الخضرية مباشرة ، وإما من خلال تكوين الأجنة الجنسية ، ويعد الإكثار من خلال نسيج الكالس أسرع طرق الإكثار الدقيق ، إلا أن هذه الطريقة غير مفضلة ؛ لما هو معروف عن الكالس من عدم ثباته الوراثى؛ حيث تظهر به حالات مختلفة من التضاعف الكروموسومى ، كما أن الكالس لم تتميز به نموات نباتية فى عديد من المحاصيل الهامة إلى الآن .

٢ - من خلال تكوين البراعم العرضية

على الرغم من أن النباتات التى تتميز من أنسجة الكالس تعد عرضية المنشأ .. إلا أنه يُعنى بالبراعم العرضية .. تلك التى تتكون من العضو النباتى مباشرة ، دون أن يفصل بينهما نسيج كالس . وتتكاثر أعداد كبيرة جداً فى النباتات الاقتصادية بهذه الطريقة .

٣ - من خلال تحفيز التفرع الجانبى

يتم تحفيز التفرع الجانبى فى المزارع بتوفير السيتوكينين بها بتركيز معين ، إما مع الأوكسين ، وإما بدونه . ويؤدى استمرار توفر السيتوكينين فى المزرعة إلى نمو البراعم الجانبية التى تتكون فى القمة الميرستيمية التى تنمو من البراعم المزروعة (أى من الـ nodal segments) ، ثم تنمو البراعم الجانبية التى تتكون فى القمم الميرستيمية الجديدة .. وهكذا يؤدى استمرار هذه العملية - عدة مرات - إلى تكوين كتلة من النموات الجديدة .

وبرغم توقف تكاثر المزرعة الواحدة بهذه الطريقة بعد فترة .. إلا أنه يمكن استمرار التكاثر – فى هذه المرحلة – بنقل أجزاء من المزرعة إلى مزارع أخرى جديدة ؛ وبذلك يمكن استمرار التكاثر إلى مالانهاية ، إلى درجة أنه يمكن – على سبيل المثال – إنتاج ١٥ – ٢٥ مليون نبات شليك من نبات واحد فى العام ، لأن كل نبات يكون قادراً على إنتاج ١٠ نباتات جديدة كل أسبوعين .

تعد عملية التجذير ضرورية فى الحالات التى لا تنمو فيها النباتات من الأجنة الجسمية ، بينما توجد الجذور – طبيعياً – فى حالة التميز من الجنين الجنسى الذى يحتوى – بطبيعته– على جذير . ولإحداث التجذير .. يلزم نقل النموات المتكونة إلى بيئة أخرى ، تختلف فى مكوناتها الهرمونية عن بيئة التكاثر . ويكون نقل النموات الخضرية – عادة – إلى هذه البيئات وهى بطول حوالى سنتيمتر واحد ، ثم تنقل النباتات بعد أن تتكون جذورها بحرص تام إلى أصص معقمة ، وتتعهد بالرعاية إلى أن تكبر ، حيث تنقل بعد ذلك إلى البيوت المحمية .

ويبين جدول (٣ –١) تركيب بيئات الإكثار الدقيق لنبات الشليك – كمثال – علماً بأن البيئات المناسبة تختلف كثيراً من محصول لآخر .

ولمزيد من التفاصيل عن أساسيات مزارع الإكثار الدقيق يراجع Hartmann & Kester (١٩٨٣) . وعند تطبيقات الإكثار الدقيق لمختلف المحاصيل .. يراجع Yang (١٩٧٧) بالنسبة للهليون ، و Bottino (١٩٨١) بالنسبة لمعظم محاصيل الخضر ، وGeorge (١٩٨٦) ، و Wooster & Dixon (١٩٨٧) بالنسبة للبطاطس .

جدول (٣ – ١) : بيئات الإكثار الدقيق للشليك .

المكونات	البيئات (مجم / لتر)		
	التهيئة	التكاثر	التجذير
مركبات غير عضوية			
KNO_3	250	250	250
$MgSO_4 . 7H_2O$	250	250	250
KH_2PO_4	250	250	250
$Ca(NO_3)_2 . 4H_2O$	1000	1000	1000
KI	0.83	0.83	0.83
H_3BO_3	6.2	6.2	6.2
$MnSO_4 . 4H_2O$	16.9	16.9	16.9
$ZnSO_4 . 7H_2O$	8.6	8.6	8.6
$Na_2MoO_4 . 2H_2O$	0.25	0.25	0.25
$CuSO_4 . 5H_2O$	0.025	0.025	0.025
$CoCl_2 . 6H_2O$	0.025	0.025	0.025
$FeSO_4 . 7H_2O$	27.8	27.8	27.8
$Na_2 . EDTA$	37.3	37.3	37.3
مركبات عضوية			
Inositol	100	100	100
Nicotinic acid	0.5	0.5	0.5
Pyridoxine HCI	0.5	0.5	0.5
Thiamine HCI	0.1	0.1	0.1
Glycine	2	2	2
منظمات نمو			
BAP	0.1	1	-
IBA	1	1	1
GA_3	0.1	0.1	-
جلوكوز	4 %	4 %	4 %
آجار	0.8 %	0.8 %	0.8 %