جدول (٥-٢) : تأثير تخزين بذور بعض محاصيل الخضر فى النتيروجين السائل على نسبة الإنبات .

المحصول	نسبة رطوبة البذور (٪)	نسبة الإنبات الأولية (٪)	الإنبات (٪) بعد الحفظ فى النيتروجين السائل لمدة		
			أسبوع	شهر	٦ شهور
الفاصوليا	٧	١٠٠	-	١٠٠	-
البنجر	٦,٣	٩٦	٩٦	٩١	-
الكرنب	٦,٢	٩٨	٩٤	٩٥	٩٢
القاوون	٥	٩٠	٨٩	٨٩	٩٢
الجزر	٦,١	٨٧	٨٢	-	-
الخيار	٥,١	٩٥	٩٤	٩٥	٩٢
الباذنجان	٦,٢	٩٥	٩٥	٩٤	٩٢
الخس	٨,٠	٩٩	٩٩	٩٩	-
البصل	٦,٢	٩٨	٩٩	٩٩	٩٨
البسلة	٧,٢	٩١	-	٩٦	-
الفلفل	٦,٢	٩٣	٩١	٩٥	٩٣
الكوسة	٦,٧	٨٢	٧٣	٧٧	٧٩
الطماطم	٥,٣	٩١	٩٦	٩٢	٩٣
البطيخ	٩	٩٤	٩٥	-	-

حفظ جيرميلازم النباتات الخضرية التكاثر

تتبع عدة طرق فى حفظ جيرميلازم النباتات التى تتكاثر خضريا ، منها مايلى :

١- الإكثار الخضرى :

يتطلب حفظ الجيرمبلازم - بطريق الإكثار الخضرى - إعادة زراعة السلالات الخضرية سنويا بالنسبة للمحاصيل الحولية مثل البطاطس ، وكل عدة سنوات بالنسبة للمحاصيل المعمرة . وفضلاً عن أن هذه الطريقة تعد مكلفة للغاية ، وتتطلب جهداً كبيراً ، ومساحات كبيرة لتنفيذها .. فإن الجيرمبلازم يتعرض للإصابة بالأمراض الفيروسية التى تلازمه بعد ذلك ، مما يتطلب جهوداً كبيرة إضافية ؛ للمحافظة عليه .

٢- تخزين الطعوم :

يمكن تخزين الطعوم scions التى تؤخذ من السلالات الخضرية فى درجة حرارة ، تتراوح من الصفر إلى ٥° م ، ولكن يعاب على هذه الطريقة أن فترة التخزين لا تدوم سوى بضعة شهور ، أو سنوات قليلة .

٣- تخزين بذور السلالات الخضرية :

برغم أن البذور الحقيقية (الجنسية) لاتعطى - عند زراعتها - نباتات مشابهة للسلالات الخضرية التى أخذت منها .. إلا إنها تحتوى على جميع الجينات ، التى يظهر تأثيرها فى السلالة الخضرية . وتتبع هذه الطريقة - حاليا - فى حفظ سلالات بعض المحاصيل الخضرية التكاثر ؛ مثل البطاطس . ولقد وجد Barker & Johnston (١٩٨٠) أن بذور البطاطس الحقيقة يمكن تخزينها لمدة ١٠ سنوات تحت الظروف العادية ، دون أن يحدث لها أى نقص فى نسبة - أو قوة - الإنبات ، كما ظلت نسبة إنبات البذور عالية بعد ١٥-٢٠ سنة من التخزين ، إلا أنها كانت أبطأ فى الإنبات ، وأقل فى قوة نمو البادرات . وكما هى الحال بالنسبة لبذور النباتات التى تتكاثر جنسيًا .. فإن بذور السلالات الخضرية يمكن أن تُخزَّن فى النيتروجين السائل (Cryptopreservation) لأمد بعيد .

وتتميز طريقة حفظ جيرمبلازم النباتات الخضرية التكاثر بتخزين البذور بسهولتها وقلة تكلفتها ، كما تفيد فى التخلص من العدد الأكبر من الفيروسات التى تصيبها ؛ إذ لاتنتقل بطريق البذور سوى نسبة قليلة جداً من الفيروسات ؛ بالإضافة إلى سهولة نقل الجيرمبلازم بهذه الطريقة من دولة إلى أخرى (Foldo ١٩٨٧) .

٤- تخزين حبوب اللقاح :

يمكن تخزين حبوب لقاح السلالات الخضرية ؛ إما فى درجات الحرارة المنخفضة ، وإما فى النيتروجين السائل . ويعاب على الاعتماد على حبوب اللقاح - فى حفظ الجيرمبلازم - أنها لاتمثل سوى نصف الجينات التى يحملها الفرد ، فهى لابد أن تستخدم فى تلقيح نباتات أخرى من نفس النوع لدى إخراجها من المخازن ، نظرا لعدم توفر الطور الجاميطى المؤنث لنفس السلالة حينئذ .

٥- تخزين مزارع القمة الميرستيمية :

تتميز طريقة حفظ جيرمبلازم السلالات المخضرية - على صورة مزارع أنسجة - بإمكان تخزين أعداد ضخمة من السلالات فى حيز بسيط ، مقارنة بالزراعة الحقلية . فيمكن - على سبيل المثال - تخزين ٨٠٠ سلالة عنب ؛ بواقع ٦ مكررات لكل منها فى مساحة ٢م٢ ، مقارنة بالحاجة إلى نحو هكتار من الأرض لزراعة نفس العدد من النباتات . ويعاب على هذه الطريقة أن إنتاج مزارع الأنسجة يتطلب وقتاً طويلاً ، كما أن زراعة النباتات بعد ذلك تتطلب وقتا طويلاً أيضا حتى تزهر وتثمر . ولاتخفى علينا الأخطار التى تواجه مجموعات الجيرمبلازم المخزنة من جراء الكوارث الطبيعية ، أو انقطاع التيار الكهربائى أو الإصابة ببعض آفات المزارع ، مثل العناكب mites (Brooks & Barton ١٩٨٣) .

وتعد مزارع القمة النامية الميرستيمية أفضل مزارع الأنسجة لحفظ جيرمبلازم السلالات الخضرية . وتكون النباتات المتحصل عليها - بهذه الطريقة - صغيرة جدا ، وأوراقها دقيقة ، وسيقانها رفيعة للغاية . وبرغم أن نموها يكون سريعاً فى البداية إلا أنه يصبح بطيئاً بمجرد استنفاد العناصر المغذية فى بيئة الآجار ، وتبقى النباتات حية على هذه الصورة - دون نمو يذكر - لعدة شهور . ويمكن استمرار حفظها فى أنابيب الاختبار على بيئة مغذية لمدد غير محدودة ، بتجديد المزارع كل ٦ أشهر إلى١٢ شهراً ؛ ويجرى ذلك بقطع أجزاء صغيرة من المزارع ، تحتوى كل منها على عقدة من الساق ، والورقة التى توجد عندها ، ثم نقلها إلى مزارع جديدة .

تتبع طريقة مزارع القمة الميرستيمية على نطاق واسع لإكثار وحفظ سلالات العنب . تزرع القمة النامية لساق العنب فى أنابيب اختبار تتوافر بها بيئةمغذية ، تحتوى على تركيز مرتفع من أيون البوتاسيوم ، وتركيز منخفض (١ . ٠ جزءاً فى المليون) من منظم النمو إندول حامض الخليك IAA . تحفظ الأنابيب فى حرارة ٢٠°م ، وتعرض لإضاءة ضعيفة (٣٠٠ lux) لمدة ١٢ ساعة يوميًا . تنمو الساق ، وتتكون الجذور فى خلال ٢٠ يوماً ، ويعقب ذلك نقل النباتات الصغيرة Plantlets إلى بيئة تحتوى على تركيز أقل من أيون البوتاسيوم (مثل محلول نوب Knop المغذى) ، وخالية من الأوكسين ، حيث يصل طولها إلى نحو ١٠ سم فى حوالى ١٠ شهور ، ويمكن إكثار هذه النباتات بعد ذلك بالعقل

الساقية ، حيث تؤخذ النباتات الصغيرة من أنبوبة الاختبار ، وتقطع إلى أجزاء صغيرة يحتوى كل منها على عقدة وورقة ، وتنقل هذه الأجزاء – بعد ذلك – إلى بيئة جديدة ، فى درجة حرارة ٢٠°م ؛ حيث تنتج كل منها نباتاً جديداً فى غضون ٥٠ يوماً ، ثم تنقل – بعد ذلك – إلى حرارة ٩م° ؛ حيث يقل معدل نموها تدريجيًا إلى أن يتوقف . وبرغم توقف نمو النباتات إلا أنها تبقى حية . ولو أخذت منها عقل بعد فترات طويلة تصل إلى ٢٩٠ يوماً ، ووضعت فى بيئة جديدة فى حرارة ٢٠°م .. فإنها تبدأ فى النمو فى الحال ، وهو ما يعنى إمكان حفظ النباتات بهذه الطريقة ، مع إعادة زراعتها فى بيئة جديدة سنويًا .

تتميز مزارع القمة الميرستيمية بإمكان استخدامها فى الإكثار الخضرى ، وإنتاج أعداد هائلة من النباتات فى فترة قصيرة ، فيمكن – فى حالة مزارع العنب – الحصول على ٥ أجزاء cuttings من النباتات الصغيرة شهريًا ، وهذا يعنى أنه يمكن إنتاج أكثر من ١٠ مليون نبات صغير من قمة ميرستيمية واحدة فى السنة (تسمى السلالات المنتجة بهذه الطريقة mericlones) . وفضلاً على أن مزارع القمة الميرستيمية تكون خالية من الإصابات الفيروسية .. فإن بقاءها فى بيئة معقمة يحميها من التعرض للإصابة بالفيروسات أو الآفات الأخرى . وتعد هذه المزارع مناسبة لحفظ جيرمبلازم النباتات التى لاتتحمل بذورها التجفيف ، وهى التى لايمكن أن تخزن بذورها . كما تتوفر النباتات الصغيرة طوال العام ، ويمكن نقلها من دولة إلى أخرى دون مشاكل فى الحجر الزراعى .

هذا .. ويلاحظ أن معظم النباتات الصغيرة تعطى – عند زراعة ميرستيمها القمى فى بيئات مغذية – نموات تشبه الكالوس Callus-like outgrowth ، أو سيقاناً مشوهة ، وصفراء ، ولايحدث التميز differentiation إلا عند توفر بعض المواد فى البيئة ، وأهمها حامض الجبريلليك بتركيز ٠,١ جزءاً فى المليون وأيون البوتاسوم بتركيز مرتفع يصل إلى ١٠ ملى مكافئ / لتر ؛ مقارنة بتركيز ٠,٨ ملى مكافى / لتر فى بيئة White ، و ٢,١ ملى مكافى / لتر فى بيئة Gautkeret ، وهى بيئات تستعمل فى مزارع الأنسجة الأخرى (Morel ١٩٧٥) .

وقد تمكن العلماء – بنجاح – من حفظ مزارع القمة الميرستيمية لبعض النباتات فى النيتروجين السائل على درجة – ١٩٦°م (Cryptopreservation) ؛ فمثلا .. تمكن Reed & Lagerstedt (١٩٨٧) من حفظ القمم الميرستمية لخمس سلالات من الـ *Rubus* .

تنتمى لأربعة أنواع ؛ بتبريدها ببطء ؛ بمعدل ٨ و٠°م كل دقيقة إلى أن وصلت حرارتها إلى - ٤٠°م ، ثم بردت بسرعة - بعد ذلك - حتى - ١٩٦°م فى وجود مواد حامية cryptoprotectants . وقد أمكن - بعد ذلك تبريدها بسرعة إلى درجة حرارة الغرفة ، واستعادت القمم الميرستيمية نموها فى بيئة أجار بعد ذلك ، إما بشكل منتظم ، وإما فى صورة كالوس ، وقد كانت أفضل المواد الحامية خليطاً من البلوليثليين جليكول ، والجلوكوز ، والـ dimethylsulfoxide . ولمزيد من التفاصيل عن تخزين جيرمبلازم السلالات الخضرية .. يراجع Henshaw وآخرون (١٩٨٠) بخصوص تخزين مزارع أنسجة البطاطس ، و Withers (١٩٨٠ ، ١٩٨٥) بالنسبة لحفظ مزارع الخلايا والأنسجة فى النيتروجين السائل ، و Brooks & Barton(١٩٨٣) ، و Towill (١٩٨٨) .

التغيرات الوراثية المصاحبة لتخزين الجيرمبلازم

يصاحب تخزين الجيرمبلازم - عادة - نوعان من التغيرات الوراثية ، هما : التغيرات الوراثية التى تحدث بشكل تلقائى ؛ مثل الطفرات العاملية ، والتحورات الكروموسومية ، والتغيرات التى تحدث فى الجينات gene pool ؛ نتيجة الانحراف الوراثى genetic drift وما قد ينتج عنه من تغيرات فى نسب الجينات ، أو فقدان بعضها. هذا .. ويحدث استبعاد تلقائى لحالات التحورات الكروموسومية ؛ لفشل الانقسام الطبيعى فى الخلايا التى تحدث فيها تلك التحورات ، وبذا .. فإن النباتات التى توجد فيها هذه التحورات لاتشترك فى إنتاج البذور للجيل التالى ، أما الطفرات العاملية .. فإنها تعد مفيدة ، وتسهم فى زيادة الاختلافات الوراثية فى الجيرمبلازم . أما الانحرافات الوراثية ، واستعمال عينات صغيرة من البذور فى إكثار السلالات .. فإنها تسهم بشكل خطير فى تغيير نسب الجينات فى العشيرة ، وهو أمر يجب تجنبه تماماً . ولمزيدٍ من التفاصيل عن هذا الموضوع .. يراجع Roos (١٩٨٨) .

مصادر إضافية

سبقت الإشارة إلى عديد من المصادر التى تتناول شتى جوانب عملية استكشاف الجيرمبلازم وجمعه ، وتقييمه ، وتوثيقه ، وحفظه . وبالإضافة إلى ما تقدم .. فإن المراجع التالية تتناول الموضوع بشكل عام ، وتغطى كافة جوانبه ، ويفيد الرجوع إليها فى معرفة