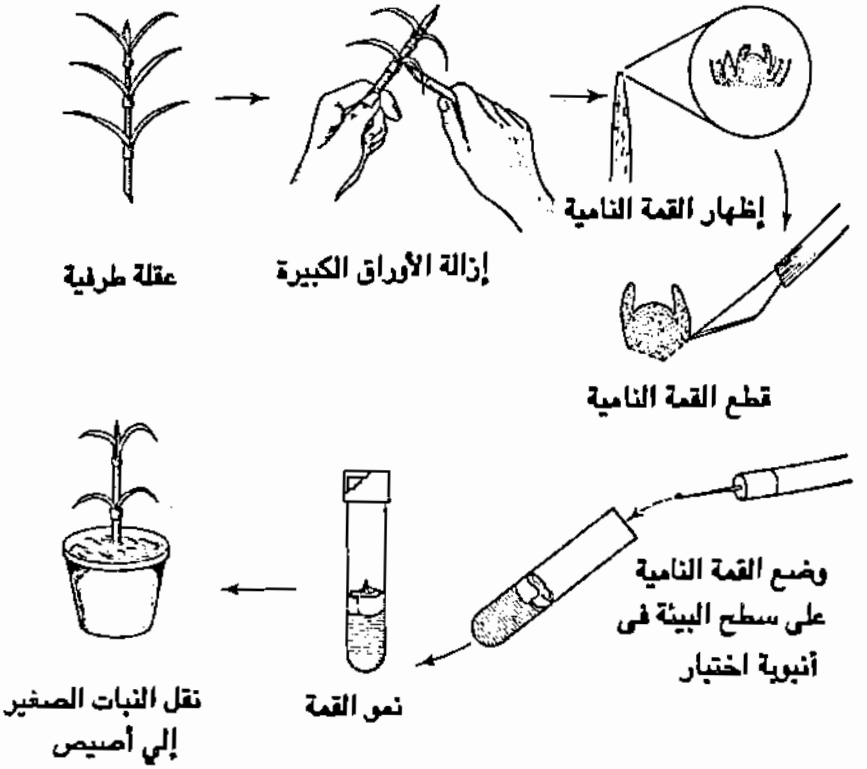
وتزداد فرصة تميز النباتات فى المزرعة كلما ازداد حجم القمة الميرستيمية المزروعة ؛ ذلك لأن القمم الصغيرة تنتهى غالباً بتكوين جنور وكالس ، وربما لاتعطى جنوراً ألبتة إن كانت صغيرة جداً ، فى حين أن القمم الخضرية الكبيرة ربما تكون خالية من الفيرس ؛ لـذا .. فإن القاعدة هى أن تكون القمم الميرستيمية المزروعة صغيرة بالقدر الذى يضمن خلوها من الفيرس ، وكبيرة بالقدر الذى يسمح بتميزها إلى نباتات مكتملة النمو .

وقد وجد أن النباتات المصابة جهازيًا بالفيروسات تعطى عند زراعة أى من أنسجتها المصابة خلايا كالس ، تختلف فى محتواها من الفيرس ، وأمكن الحصول على نباتات خالية من الفيرس من خلايا الكالس السليمة فى هذه المزارع . كذلك .. وجد أن نسبة النباتات الخالية من الفيرس كانت أعلى بكثير من النباتات التى تميزت من الكالس فى مزارع القمة الميرستيمية عما فى النباتات التى تميزت من القمة الميرستيمية مباشرة . وربما يرجع السبب فى ذلك إلى أن سرعة تكاثر الفيرس تكون أقل من سرعة تكاثر الخلايا فى نسيج الكالس . هذا .. إلا أن كثيراً من الأنواع النباتية الهامة لم تتميز فيها نباتات من نسيج الكالس ، كما أن هذا النسيج لايكون ثابتاً وراثيًا .

ولمزيد من التفاصيل عن مزارع القمة الميرستيمية .. يراجع Langhans وآخرون (١٩٧٧) ، و Ingram (١٩٨٠) .

مزارع الإكثار الدقيق

يستفاد من مزارع الإكثار فى إنتاج سلالات خضرية تحتوى على عشرات الآلاف من النباتات الصغيرة خلال فترة وجيزة . ويفضل دائمًا استخدام القمة الميرستيمية ؛ لكى تكون النباتات المنتخبة خالية من الفيروسات . أما إن لم يكن ذلك ضروريًا .. 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 لاتنمو 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 .



شكل (١٧ – ٧) : زراعة القمة النامية Shoot Tip Culture فى القرنفل .

وتستخدم لهذا الغرض أجزاء من الجذور ، والسيقان ، والأوراق .. ويتوقف الاختيار على قدرة العضو النباتى على تكوين براعم عرضية .

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

١– من خلال الكالس :

إن القدرة الفائقة للخلايا النباتية على التكاثر فى المزارع وإنتاج نسيج كالس .. 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 تكون الأجنة الجسمية ، ويعد الإكثار من خلال نسيج الكالس أسرع طرق الإكثار الدقيق ، إلا أن

جدول (١٧ – ١٤) : تركيب بعض البيئات التي استخدمت ، من قبل باحثين مختلفين في مزارع القمة الخضرية الميرستيمية ، لأنواع مختلفة من النباتات .

المكونات	البيئات (مجم / لتر)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
NH_4NO_3	—	—	—	—	—	60	60	—
KNO_3	125	125	125	200	125	—	—	125
$(NH_4)_2SO_4$	—	—	—	—	1000	—	—	—
KCl	—	—	—	—	1000	80	80	—
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	—	500	500	—	—	—	—	—
$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	500	—	—	800	500	170	170	600
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	125	125	125	200	125	240	240	125
KH_2PO_4	125	125	125	200	125	40	40	125
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	—	—	—	—	1	—	—	—
Fe-citrate	—	—	—	—	5	5	—	—
$Fe(SO_4)_3$	—	25	—	—	—	—	27.8	25
Na_2-EDTA	—	—	—	—	—	—	37.3	—
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$		0.8		—	0.1	—	22.3	1
$ZnSO_4 \cdot H_2O$		0.04		0.2	1	0.05	8.6	0.05
$NiCl_2 \cdot 6H_2O$		0.025		0.3	—	—	—	0.025
$MnCl_2 \cdot H_2O$		—		1.8	—	0.4	—	—
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	(10 drops of	0.025	(10 drops of	—	—	—	0.025	0.025
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	Berthelot	0.025	Berthelot	0.08	0.03	0.05	0.025	0.025
$AlCl_3$	soln.)[b]	—	soln.)[b]	—	0.03	—	—	—
$H_2MoO_4 \cdot H_2O$		—		0.02	—	0.02	—	—
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$		—		—	—	—	0.025	—
KI		0.25		—	0.01	—	0.83	0.25
H_3BO_3		0.025		2.8	1	0.6	6.2	0.025
Myo-inositol	0.1	0.001	0.1	—	100	0.1	0.1	—
Ca-pantothenate	10	0.001	10	—	1	10	10	—
Nicotinic acid	1	—	1	5	1	1	1	—
Pyridoxine-HCl	1	—	1	1	1	1	1	—
Thiamine-HCl	—	0.001	—	1	1	1	1	1
Biotin	0.1	0.001	0.01	—	0.01	0.01	0.01	—
Cystein	—	0.001	10	—	1	10	10	—
Adenine	—	—	—	—	0.1	5	5	—
$AdSO_4$	—	—	—	—	—	—	—	8
Casein hydrolysate	—	—	1	—	—	1	1	—
Sucrose	20 000	—	20 000	30 000	20 000	—	—	—
Glucose	—	40 000	—	—	—	10 000	30 000	40 000

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 ؛ وتعد هذه الطريقة هى الوحيدة المستخدمة لإكثار أنواع مهمة مثل الموالح ، والنخيل ، والقهوة .

٢- من خلال تكوين البراعم العرضية :

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

٣- من خلال تحفيز التفرع الجانبى :

يتم تحفيز النمو 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 - لعدة مرات - إلى تكون 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 من ١٥-٢٥ مليون نبات شليك من نبات واحد فى العام ؛ لأن كل نبات يكون قادرا على إنتاج ١٠ نباتات جديدة كل أسبوعين .

تعد عملية التجنير ضرورية فى الحالات التى لاتنمو فيها النباتات من الأجنة الجسمية ، بينما توجد الجذور- طبيعيًا - فى حالة التميز من الجنين الجسمى الذى يحتوى - بطبيعته - على جذير . ولإحداث التجنير .. يلزم نقل النموات المتكونة إلى بيئة أخرى ، تختلف فى مكوناتها الهرمونية عن بيئة التكاثر . ويكون نقل النموات الخضرية - عادة - إلى هذه البيئات وهى بطول حولى ١ سم ، ثم تنقل النباتات بعد أن تتكون جذورها إلى أصص معقمة بحرص تام ، وتتعهد بالرعاية إلى أن تكبر ،

حيث تنقل بعد ذلك إلى البيوت المحمية .

ويبين جدولا (١٧-١٥) ، و (١٧-١٦) تركيب بيئات الإكثار الدقيق لكل من نخيل التمر ، والشليك على التوالي -كمثالين- علما بأن البيئات المناسبة تختلف كثيراً من نبات إلى آخر .

ولمزيد من التفاصيل عن أساسيات مزارع الإكثار الدقيق .. يراجع Hussey (١٩٨٠ ، ١٩٨٣) ، و Wetherell (١٩٨٢) ، و Hartmann & Kester (١٩٨٣) .

جدول (١٧ - ١٥) : بيئات الإكثار الدقيق لنخيل التمر .

المكونات	البيئة (مجم / لتر)	
	من خلال الكالس	من خلال الأجنة الجسمية
مركبات غير عضوية		
NH_4NO_3	1650	1650
KNO_3	1900	1900
$CaCl_2$	322	322
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	181	181
KH_2PO_4	170	170
$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$	170	170
KI	0.83	0.83
H_3BO_3	6.2	6.2
$MnSO_4 \cdot H_2O$	16.9	16.9
$ZnSO_4 \cdot H_2O$	8.6	8.6
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25	0.25
$CuSO_4$	0.016	0.016
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025	0.025
FeNa-EDTA	36.7	36.7
مركبات عضوية		
Inositol	100	100
Thiamine HCl	0.4	0.4
منظمات نمو		
2,4-D	100	—
2-ip	3	—
فحم منشط eutralized charcoal	3000	3000
أجار	0.8%	0.8%
سكروز	3%	3%

جدول (١٧ - ١٦) : بيئات الإكثار الدقيق للشليك .

المكونات	البيئات (مجم / لتر)		
	التهيئة	التكاثر	التجذير
مركبات غير عضوية			
KNO_3	250	250	250
$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$	250	250	250
KH_2PO_4	250	250	250
$Ca(NO_3)_2 \cdot 4\ H_2O$	1000	1000	1000
KI	0.83	0.83	0.83
H_3BO_3	6.2	6.2	6.2
$MnSO_4 \cdot 4\ H_2O$	16.9	16.9	16.9
$ZnSO_4 \cdot 7\ H_2O$	8.6	8.6	8.6
$Na_2MoO_4 \cdot 2\ H_2O$	0.25	0.25	0.25
$CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$	0.025	0.025	0.025
$CoCl_2 \cdot 6\ H_2O$	0.025	0.025	0.025
$FeSO_4 \cdot 7\ H_2O$	27.8	27.8	27.8
$Na_2 \cdot EDTA$	37.3	37.3	37.3
مركبات عضوية			
Inositol	100	100	100
Nicotinic acid	0.5	0.5	0.5
Pyridoxine HCl	0.5	0.5	0.5
Thiamine HCl	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%

مصادر إضافية

لمزيد من التفاصيل عن أساسيات مزارع الأنسجة .. يمكن الرجوع إلى المصادر التالية التي تتناول الموضوع بشكل عام : Paul (١٩٧٠) ، و Murashige (١٩٧٤) ، و Ingram & Butcher (١٩٧٦) ، و Amer . Soc . Hort . Sci (١٩٧٧) ، و Helgeson (١٩٨٠) ، و Sala وآخرون (١٩٨٠) ، و Vasil (١٩٨٠) ، و Thorpe (١٩٨١) ، و Reinert & Yeoman (١٩٨٢) ، و Bhojwani & Razdan (١٩٨٣) ، و Mamtell & Smith (١٩٨٣) ، و Dixon (١٩٨٥ أ ، ١٩٨٥ ب) .