مزارع الأجنة

استخدمت مزارع الأجنة Embryo Cultures من قِبَل مربى النباتات منذ أكثر من نصف قرن . وتفيد هذه المزارع فى 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 . أما البيئة المناسبة .. فهى تختلف من نوع إلى آخر . ويبين جدول (١٧-١١) 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 .

٢- البيئة C - 17 : تحتوى على ٥٠٠ مجم حامض ستريك مذاب فى ٥٠ مل ماء مع تديل 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 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 حامض ماليك مذابة فى ٥٠ مل ماء يحتوى على ٣٠٠ مجم حامض ستريك مع تعديل الـ pH إلى ٥,٠ باستعمال أيدروكسيد الأمونيوم .

ونظراً لأن الأجنة تكون محاطة بأنسجة المبيض ؛ لذا .. فإنها لاتكون معرضة للتلوث ، ولاتحتاج إلى تعقيم ويكتفى بتطهيرها سطحياً . ويحتاج فصل الأجنة الصغيرة إلى

جدول (١٧ – ١١) : تركيب بعض البيئات المستخدمة في مزارع أجنة الشعير .

المكونات	البيئات (مجم / لتر)			
	B-H	C-17	C-21	C-45
عناصر كبري				
KNO_3	—	300	300	900
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	740	250	—	400
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	740	325	300	300
$(NH_4)_2SO_4$	—	—	—	60
$NaH_2PO_4 \cdot H_2O$	—	100	—	75
KCl	750	150	300	—
KH_2PO_4	910	150	500	170
$Ca(NO_3)_2$	—	—	500	300
NH_4NO_3	—	200	—	500
عناصر صغري				
KI	—	0.10	—	—
H_3BO_3	0.5	0.5	15.0	1.0
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	3.0	0.5	—	5.0
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.5	0.25	—	5.0
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.025	0.012	—	0.25
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025	0.012	—	0.012
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025	0.012	—	0.012
Ferric citrate	10	3	20	20
Fe-EDTA	—	17.5	10	28
فيتامينات				
Nicotinamide	—	—	—	1.0
Thiamine HCl	0.25	0.25	10	10
Pyridoxine HCl	0.25	0.25	—	1.0
Inositol	50	50	150	100
Ca-pantothenate	0.25	0.25	—	—
Glycine	—	0.75	—	—
Ascorbic acid	—	0.5	—	1.0
أحماض أمينية				
Glutamine	400	—	—	600
Glutamic acid	—	150	300	—
Alanine	50	30	—	100
Cysteine	20	—	—	—
Arginine	10	20	50	—
Leucine	10	10	—	—
Phenylalanine	10	20	—	—
Tyrosine	10	—	—	—
Aspartic acid	—	30	100	100
Proline	—	50	50	—
Valine	—	10	—	—
Serine	—	25	25	50
Threonine	—	10	—	100
Lysine	—	10	—	—
Sucrose	34 000	60 000	45 000	45 000
Agar (Difco)	6000	—	—	—
pH	5	5.5	5.5	5.8

الاستعانة بالمجهر . ويكتمل نمو الأجنة بعد زراعتها ، ثم تنمو معطية نباتات صغيرة ، يتم نقلها بعناية إلى أصص معقمة . وجدير بالذكر أن الأجنة الصغيرة لاتكمل 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 يوما 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 البنور غير المكتملة التكوين المحتوية على هذه الأجنة فى بيئة خاصة . أنتجت البنور 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 هجنا 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) . ولمزيد من التفاصيل عن مزارع الأجنة .. يراجع Raghavan (١٩٨٠) .

مزارع البروتوبلازم

تعد مزارع البروتوبلازم Protoplast Culture (مزارع الخلايا بدون جدرها السيلولوزية) ضرورية لكل من عملية دمج البروتوبلازم Protoplasm fusion – عند الرغبة فى إجراء تهجينات نوعية بعيدة – وعملية إدخال أجزاء غريبة من الحامض النووى دى إن أى DNA ، أو عضيّات خلوية Cell Organells أو بكتيريا ، أو فيروسات معينة فى حالات