بقطف القمم النامية القوية النمو بحيث يكون بها حوالى ٤-٥ عقد. تُزال الورقتان القاعديتان، وتطمر قاعدة ذلك النمو القمى فى البرليت perlite فى أصص صغيرة (٥ × ٥ × ١٠ سم). ثم توضع تحت المست المتقطع إلى أن تبدأ فى التجذير، الأمر الذى يحدث عند مكان القطع أو عند العقد المطمورة فى البرليت. يمكن شتل تلك النباتات بسهولة بعد ذلك فى التربة.

وجدير بالذكر أن معاملة قواعد العقل الساقية القمية بإندول حامض البيوتريك بتركيز ١٠٠ جزء فى المليون كمحلول، أو ٠.٥٪ كمسحوق جاف فى التلك توثر إيجابيًّا على معدل التجذير وسرعة نمو الجذور. كما تحفز المعاملة تكوين الجذور على السلاميات ذاتها بالإضافة إلى تكونها عند العقد وكالوس الجروح (Khan وآخرون ١٩٨٨).

دراسة الكروموسومات مجهريًّا

تتطلب دراسة الكروموسومات مجهريًّا إعداد التحضيرات الميكروسكوبية بطريقة تسمح بدراستها بوضوح.

ويمر إعداد التحضيرات الميكروسكوبية بالخطوات التالية:

أولاً: معاملات ما قبل التثبيت

تجرى معاملات ما قبل التثبيت لتحقيق واحد أو أكثر من الأهداف التالية:

١ - تأمين حدوث نفاذية سريعة للمثبت فى النسيج النباتى الذى يُراد دراسته:

يتحقق ذلك من خلال إزالة المركبات التى يفرزها النسيج النباتى، والتى تعيق نفاذ المثبت خلاله؛ فمثلاً .. يستخدم Carony's fluid - الذى يحتوى على الكلوروفوم - فى إزالة الترسبات الزيتية.

٢ - إذابة الصفيحة الوسطى:

يستخدم لذلك إنزيمات معينة، مثل البكتينيز pectinase، والسيليوليز cellulase.

٣ - تنقية السيتوبلازم من محتوياته الثقيلة بهدف زيادة شفافيته: ويتحقق ذلك بغسيل النسيج جيدًا بالماء المقطر. وبالمعاملة بأيدروكسيد الصوديوم أو كربونات الصوديوم.

٤ – تحسين تباعد الكروموسومات وتوضيح تحززاتها:

يتحقق انتشار الكروموسومات وتباعدها عن بعضها البعض بإحداث تغيرات فى درجة لزوجة السيتوبلازم (وهى الخاصية التى تؤثر فى تكوين خيوط المغزل)؛ مما يؤدى إلى ترك الكروموسومات حرة فى طور metaphase. كذلك تؤثر التغيرات فى لزوجة السيتوبلازم فى زيادة وضوح التحززات الكروموسومية – وخاصة عند موقع السنترومير – من خلال ما تحدثه تلك التغيرات من تشبع غير متجانس بالماء فى الأجزاء المختلفة من الكروموسوم الواحد.

ومن أهم المركبات المستخدمة فى معاملات ما قبل التثبيت، ما يلى:

Colchicine
Para-dichlorobenzene
8-Hydroxyquinoline
α-Bromonaphthalene
Acenaphthene
Chloral hydrate
Coumarin
Aesculine

ثانياً: التثبيت

يعمل التثبيت fixation على قتل الأنسجة المراد دراستها عند مختلف مراحل الانقسام دون التأثير على الكروموسومات أو مكونات الخلية الأخرى.

ومن أهم الصفات التى يجب توفرها فى المثبت الجيد، ما يلى:

١ – القدرة على ترسيب الكروماتين.

٢ – سرعة النفاذية خلال النسيج لتأمين حدوث قتل فورى، ووقف فورى للانقسام الخلوى.

٣ – منع تحلل النسيج.

ومن أكثر المثبتات استخداماً، ما يلى:

Flemming's fixative
Carnoy's fixative

وللمثبت الأخير تركيبات كثيرة جدًّا. هي بمثابة تحورات في تركيبه المثبت الأصلي.

ثالثًا: الصبغ Staining:

لا يمكن دراسة الكروموسومات بالميكروسكوب الضوئي العادي إلاّ إذا كانت مصبوغة. أما عند فحصها بالـ phase contrast microscope فلا يحتاج الأمر إلى أي صبغ.

ومن أهم أنواع الصبغات المستعملة في صبغ الكروموسومات، ما يلي:

Feulgen solution

Acetocarmine

Acetoorecin

Acetolacmoid

Crystal violet

Chlorazol Black E

Azure E

رابعًا: توضيح الكروموسومات طوليًّا Chromosome banding

تُدرس الكروموسومات – تقليديًا – على أساس صفاتها المورفولوجية. مثل الطول. ونسب الأذرع، وموضع السنترومير، والتحززات الثانوية ... إلخ. ويفيد التوضيح الطولي للكروموسومات في إظهار علامات أخرى بها. فمثلاً .. إذا ما صبغت الكروموسومات بصبغات فلورية وفحصت تحت ميكرسكوب فلوري fluoresent microcope. فإنها تظهر كشرائط مفلورة متبادلة مع شرائط داكنة. ولكل كروموسوم نظامًا لظهور تلك الشرائط خاصًا به. مما يجعل تلك الحقيقة مفيدة للغاية في تعريف الكروموسومات.

ويرجع الاختلاف في طراز الشرائط banding pattern بين الكروموسومات إلى اختلافها فيما يلي:

١ – مدى حدوث التكرار في الدنا.

٢ – تركيب قواعد الدنا الكروموسومي.

٣ – المكون البروتينى للكروموسومات.

٤ – درجة اندماج الدنا.

ومن أهم تقنيات الـ banding المستعملة فى التعرف على الكروموسومات النباتية، ما يلى:

Quinacrine banding
Hoechst 33258 banding
Giemsa banding
Reverse florescent banding
C-banding
Feulgen banding
Silver banding
N-banding
Orcein banding

خامساً: التقنيات الجزيئية

أمكن من خلال التقنيات الجزيئية molecular techniques الحديثة دراسة التركيب الكيميائى للكروموسومات.

ومن أهم تلك التقنيات، ما يلى:

١ – تقنية in situ hybridization (اختصارًا: ISH):

تفيد تلك التقنية فى التعرف على الكروموسومات. وتمييز أى تغيرات قد تطرأ عليها، وتحديد مواضع ترتيبات معينة لقواعد الدنا، والتى يمكن الاستفادة منها فى عمل الخرائط الجينية.

٢ – تقنية fluorescence in situ hybridization (اختصارًا: FISH).

٣ – تقنية multilocular fluorescence hybridization (اختصارًا: McFISH).

٤ – تقنية genome in situ hybridization (اختصارًا: GISH).

وللتفاصيل المتعلقة بجميع العمليات، والمركبات، والتحضيرات، والتقنيات التى أسلفنا الإشارة إليها تحت هذا الموضوع .. يراجع Gupta (٢٠٠٠).

وكمثال .. يعطى Skorupska & Allgood (١٩٩٠) الخطوات العملية لتجهيز التحضيرات الميكروسكوبية التى تلزم لفحص كروموسومات البطيخ مجهريًا، مع سبق معاملة الأنسجة بالـ P-dichorobenze وصبغها بالـ Feulgen stain.

تدريبات تناسب الدروس العملية فى مقررات التربية

الاستعانة بالنباتات "المينى" السريعة النمو فى الدراسات الوراثية وممارسات التربية

تتوفر لأغراض التدريس فى مجالى الوراثة وتربية النباتات طرزًا من مختلف أنواع الجنس *Brassica* تكمل دوره حياتها فى خلال خمسة أسابيع، وتعرف باسم Wisconsin Fast Plants. يمكن زراعة ثلاث أجيال من تلك النباتات خلال الفصل الدراسى الواحد، بحيث يمكن دراسة وراثة الصفات، وتأثير الانتخاب، وبدء مختلف برامج التربية، فضلاً عن التدرب على طرق الخصى وإجراء التلقيحات (Goldman ١٩٩٩).

كذلك يمكن استخدام صنف الطماطم ميكروتوم Micro-Tom كنموذج للدراسات الوراثية ودراسات تربية النبات، فهذا الصنف يمكن زراعته بكثافة تصل إلى ١٣٥٧ نباتًا/م^{٢}، وتتراوح فترة حياته من زراعة البذرة إلى حين نضج الثمار بين ٧٠-٩٠ يومًا. ويمكن تحويله وراثيًا باستعمال الأوراق الفلقية مع الاستعانة بالـ *Agrobacterium*، وهو لا يختلف عن أصناف الطماطم العادية سوى فى زوجين من الجينات الرئيسية. وبذا .. يمكن دراسة تأثير أى طفرة، أو عامل مطفر، أو أى تحول وراثى بسهولة فى هذا الصنف، ثم نقل الجين المعنى - عند الرغبة فى ذلك - إلى أى صنف قياسى (Meissner وآخرين ١٩٩٧).

التدريب على تطبيقات مزارع الأنسجة

مزارع الأجنة

يمكن التدريب على زراعة الأجنة باستعمال البذور الطازجة القريبة من النضج الكامل من كل من الفاصوليا والبسلة والذرة، حيث يسهل فصل أجنتها نظرًا لكبر حجمها.