الفصل الخامس عشر

أساسيات بعض الجوانب العملية التى يُستفاد منها فى برامج التربية

ليس من أهداف هذا الفصل التطرق إلى الجوانب العملية التى يمارسها المربى عند التربية لأغراض معينة. مثل المقاومة للأمراض والآفات، أو تحمل الظروف البيئيه القاسيه، أو تحسين صفات الجودة . إلخ، فلتلك الأمور مراجعها المتخصصة. نذكر منها – على سبيل المثال – لا الحصر - حسن (١٩٩٣)، وحسن (١٩٩٥)، و Gupta (٢٠٠٠)، وهى مراجع تهتم بالأهداف الثلاثة التى أسلفنا بيانها، على التوالى أما اهتماماتنا فى هذا الفصل فهى تنصب على بعض الجوانب العملية التى يُستفاد منها فى برامج التربية بصوره عامة

وسائل تقصير فترة الجيل الواحد فى النباتات الشجيرية، والتغلب على مشكلة تعدد الأجنة فى بعضها

التفاحيات (التفاح، والكمثرى)

إن من أهم مشاكل التربية فى الفواكه التفاحية طول الفترة التى يستلزمها برنامج التربية، فيلزم – عادة – ما بين ١٠، و ١٥ سنة من وقت زراعة البذور لحين وصول الأشجار إلى مرحلة من الإثمار يمكن معها تقييمها جيدًا، علمًا بأن تلك الفترة أطول كثيرًا من تلك التى تلزم للوصول إلى مرحلة الإثمار ذاتها فى حالات الإكثار الخضرى ولإكثار واختبار تركيب وراثى جيد يلزم – عادة – نحو ١٠-١٢ سنة أخرى وبعد التوصل إلى الصنف الجديد، فإنه تلزم سنوات أخرى قبل وصول البساتين التجارية منه إلى مرحلة الإثمار ولذا فإنه يلزم – عادة – ما بين ٣٠، و ٤٠ سنة من وقت إجراء التلقيحات إلى حين وصول ثمار الأصناف الجديدة للمستهلك من البستان التجارى

ومن أهم الوسائل التي اتبعت للتغلب على مشكلة عامل الزمن في برامج تربية الفاكهة التفاحية، ما يلي:

١ – تطعيم البادرات الناتجة من التلقيحات على أشجار صغيرة:

يمكن اختصار الوقت وتوفير المساحة البستانية بتطعيم براعم أو أفرع خضرية من بادرات التفاح أو الكمثرى التى يُراد تقييمها على أشجار أكبر عمرا، حيث يمكن تطعيم عدة براعم أو سيقان على شجرة تفاح واحدة بعمر ٤ ٦ سنوات. يفضل عند اتباع هذه الطريقة أن تكون جميع التطعيمات بالشجرة الواحدة من تلقيح واحد وعادة يمكن الحصول على budwood أو عقل للتطعيم من النباتات الناتجة من التلقيحات فى نهاية موسم النمو الأول

ومن الأهمية بمكان أن تكون الأشجار المطعم عليها صغيرة وبعمر ٤–٦ سنوات، ليكون من السهل إجراء التطعيمات عليها، وليسهل تقييم الثمار عليها – فيما بعد – وهى مازلت صغيرة

يمكن عند اتباع هذه الطريقة الحصول على إثمار جيد بعد ٣–٤ سنوات من التطعيم، وبذا يمكن تقييم المحصول بعد ٥ سنوات من إجراء التلقيح، أى يتم توفير نحو ٣-٥ سنوات

ويعاب على هذه الطريقة أنها لا تسمح بتقييم الشجرة من حيث قوة النمو، وتكلفة العام، ومقاومتها للأمراض (عن Magness ١٩٣٧)

٢ - إسراع الإثمار خلال العمليات البستانية

ومن أهم الوسائل البستانية التى تفيد فى هذا الشأن، ما يلى

أ - تشجيع النمو الشجرى القوى فى السنوات الأولى بزيادة مسافة الزراعة

ب تقليم الجذور

جـ تحليق الفلف فى جذوع الأشجار، وهو أمر لا يجدى إلاّ فى الأشجار التى يزيد عمرها عن أربع سنوات

د - التطعيم على أصول مقصرة (Way ١٩٧١)

٣ – الاستفادة من حالات الارتباط بين بعض الصفات الخضرية وبعض الصفات الثمرية

من أمثلة حالات الارتباط بين صفات النمو الخضرى وصفات النمو الثمرى، ما يلى:

● وجد ارتباط عالٍ بين pH أوراق أشجار التفاح الصغيرة – وهى بعمر سنتين – و pH ثمار ذات الأشجار عندما أصبحت بعمر ٦–٧ سنوات، إلى درجة إمكان اتخاذ تلك العلاقة وسيلة للانتخاب لصفة pH الثمار. وقد تبين أنه عند استبعاد كل البادرات ذات الـ pH الأعلى من المتوسط (٤٠٪ من المجموع الكلى للبادرات)، فإن ذلك يؤدى فى الوقت ذاته إلى استبعاد نحو ٧٤٪ من النباتات التى تنتج ثمارًا ذات pH ٣ ٨ أو أعلى، وهى ثمار قليلة الحموضة وغير مرغوب فيها. هذا إلاّ أن تلك الطريقة لم تكن فعالة فى خفض نسبة الأشجار التى تحمل ثمارا ذا حموضة عالية إلى درجة غير مرغوب فيها (pH ≥ ٢,٩). وجدير بالذكر أن pH ثمار التفاح صفة وراثية بسيطة ذات سيادة لرقم الـ pH المرتفع، ولكن مع وجود مؤثرات أخرى وراثية تجعل وراثة الصفة أكثر تعقيدًا (Visser & Verhaegh ١٩٧٨).

● وجد أن رقم ترتيب البرعم المتفتح على الفروع الكاملة التى تبلغ سنة من العمر ببادرات التفاح يمكن أن يتخذ – فى الظروف الطبيعية – كوسيلة انتخاب مبكرة ضد فترات السكون الطويلة، ولأجل تحسين التأقلم على ظروف الشتاء المعتدل البرودة (Labuschagné وآخرون ٢٠٠٣).

الموالح

إن من أهم مشاكل تربية الموالح ووسائل التغلب عليها، ما يلى:

١ – يلزم – عادة – مرور نحو ٦–١٠ سنوات بين زراعة البذور إلى حين إثمار النباتات، إلاّ إذا أخذت طعوم من النباتات الناتجة من البذور وطعمت على نباتات أكبر سنًّا؛ حيث يمكن فى هذه الحالة اختصار الوقت إلى النصف

٢ – قد تحتوى البذرة الواحدة – بالإضافة إلى الجنين الجنسى – على ما قد يصل إلى ١٥ جنينًا لاإخصابية تنتج من نسيج النيوسيلة فى الكيس الجنينى، وهى تعطى نباتات مماثلة للنبات الأم، علمًا بأنه لا يمكن التمييز بين الجنين الجنسى والأجنة اللاإخصابية فى مرحلة مبكرة من النمو إلا إذا اختلف الأبوان فى بعض الصفات الخضرية التى يسهل التعرف عليها فى طور البادرة؛ الأمر الذى يعنى ضرورة زراعة

ورعاية عددا كبيرا من البادرات (هى كل التى تنتج من زراعة البذرة الواحدة) الى حين إمكان التمييز بين النبات الناتج من الجنين الجنسى، وتلك التى تنتج من الأجنه اللاإخصابية (عن Traub & Robinson ١٩٣٧)

ولقد استخدمت لسنوات عديدة صفة الورقة الثلاثية trifoliate leaf التى يتميز بها النوع *Poncirus trifoliata* – كجين معلم سائد – لتمييز البادرات الناتجة من الأجنة الجنسيه فى التلقيحات الجنسية بين الجنسين *Citrus*، و *Poncirus*، لكن لا يتوفر جين كهذا فى التقليحات النوعية الأخرى، أو فى أصناف محاصيل الحمضيات المختلفه، ولذا اتجه الباحثون نحو الصفات الفسيولوجية

ومن بين الصفات الفسيولوجية الهامة التى قد تفيد فى هذا الشأن صفة مظهر مستخلص النموات الخضرية الحديثة، والتى قد يكون بنى اللون بعد فترة وجيزة (صفة الـ browning)، أو قد يبقى كما هو (صفة الـ non browning) يحتوى المستخلص فى الحاله الأولى على ماده فينولية أو أكثر تتأكسد بفعل إنزيم البولى فينول أوكسيدير polyphenol oxidase عند هرس النسيج النباتى، أما فى الحالة الثانيه فلا يحتوى المستخلص على المادة الفينولية أو أى نشاط إنزيمى وقد تبين من الدراسات الوراثية أن التلون البنى صفه بسيطة وسائدة على صفة عدم التلون البنى وتعد أسرع وسيلة للتمييز بين التراكيب الوراثية فى تلك الصفة هى بفحص لون البقع المتكونة على ورق ترشيح بعد تنقيط المستخلص عليها، ويمكن استعمال تلك الخاصية بسهولة فى تمييز البادرات الناتجة من الأجنه الجنسية فى التلقيحات التى تختلف أصلا فى تلك الصفة (Esen وآخرون ١٩٧٥)

وسائل إكثار النباتات الحولية المنتخبة الصعبة التجذير

يحتاج المربى أحيانا إلى إجراء اختبارات متعددة على النباتات الفردية المنتخبة، ولا سبيل لتحقيق ذلك إلاّ باللجوء إلى وسائل الإكثار الخضرى، الأمر الذى يصعب غالبا – تحقيقه فى النباتات الحولية التى تتكاثر بذريًا، والتى قد يكون من الصعب تجذيرها

هذا إلاّ أنه يمكن – أحيانا – التغلب على مشكلة التجذير بإجراء معاملات خاصة، فعلى سبيل المثال يمكن تجذير القاوون – وهو محصول صعب التجذير

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 ٥٠ ٪ كمسحوق جاف فى التلك توثر إيجابيًا 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 مجهريًا

تتطلب دراسة الكروموسومات مجهريًا 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؛ فمثلا .. يستخدم Carony's fluid - الذى يحتوى على الكلوروفورم - 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 استخدامًا، ما يلى:

Flemming's fixative
Carnoy's fixative

وللمثبت الأخير تركيبات كثيرة جدًا، هى بمثابة تحورات فى تركيبه المثبت الأصلى

ثالثاً: الصبغ Staining:

لا يمكن دراسة الكروموسومات بالميكروسكوب الضوئى العادى إلاّ إذا كانت مصبوغة أما عند فحصها بالـ phase contrast microscope فلا يحتاج الأمر إلى أى صبغ

ومن أهم أنواع الصبغات المستعملة فى صبغ الكروموسومات، ما يلى:

Feulgen solution

Acetocarmine

Acetoorecin

Acetolacmoid

Crystal violet

Chlorazol Black E

Azure E

رابعاً: توضيح الكروموسومات طولياً Chromosome banding

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

ويرجع الاختلاف فى طراز الشرائط banding pattern بين الكروموسومات إلى اختلافها فيما يلى:

١ – مدى حدوث التكرار فى الدنا.

٢ – تركيب قواعد الدنا الكروموسومى

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 (اختصارا FISH)

٣ – تقنية multilocular fluorescence hybridization (اختصارا McFISH)

٤ – تقنية genome in situ hybridization (اختصارا GISH)

وللتفاصيل المتعلقة بجميع العمليات، والمركبات، والمحضيرات، 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 مجال 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، فضلا 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^2. وتتراوح فترة حياته من زراعة البذرة إلى حين نضج الثمار بين ٧٠-٩٠ يوم، 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

يلى فصل الأجنه تعقيمها سطحيًا فى هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز ٢٠٪ لمدة ٢٠ دقيقة، ثم شطفها ثلاث مرات فى ماء مقطر ومعقم ويراعى إضافة نقطتان من منظف صناعى لكل ٢٥٠ مل من محلول التعقيم السابق.

توضع الأجنة بعد ذلك على بيئة موراشيج وسكوج Murashige & Skoog - تحتوى على ٢٠ جم سكروز/لتر – فى أطباق بترى يحتوى كل منها على ٢٥ مل من البيئة (تباع هذه البيئه تجاريًا عل صورة مسحوق) توضع ثلاثة أجنة من كل نوع محصول فى كل طبق (٩ أجنة بكل طبق بترى)، وتوضع أجنة الكنترول على ورق ترشيح مبلل، كما تزرع البذور ذاتها فى تربة معقمة للمقارنة

يحكم إغلاق أطباق بترى وتحفظ فى الضوء العادى فى حرارة الغرفة أو فى حجره نمو

يمكن ملاحظة بزوغ جذير الأجنة المزروعة فى خلال ٢٤ ساعة من زراعتها، حيث تستمر فى النمو لتصبح ملتفة حول المحيط الداخلى للطبق فى خلال ٣ أسابيع (Goldy & Moxley ١٩٩١)

مزارع المتوك

يمكن زراعة متوك سلالات البطاطس الثنائية التضاعف - التى سبق انتخابها للمقدرة على النمو فى مزارع المتوك – يمكن زراعتها فى بيئة بسيطة، لتعطى أجنه فى خلال خمسة أسابيع يتطلب نمو النباتات منها ٣-٤ أسابيع أخرى، حيث تصبح كبيرة بالقدر المناسب لفحص مستوى التضاعف بعد أسبوعين من نقلها إلى بيئة أساسية ويجرى الفحص عن طريق عدّ الكروموسوم فى القمة النامية للجذور. وعدّ البلاستيدات الخضراء فى الخلايا الحارسة للثغور (Veilleux ١٩٩٩)

التدريب على دراسة مستوى التضاعف

يمكن التدريب على دراسة مستوى التضاعف فى النباتات بأى من الطرق الآتية (Cramer ١٩٩٩)

١ – فحص القمة النامية للجذور ميكروسكوبيًا.

٢ - فحص الخلايا الأمية لحبوب اللقاح ميكروسكوبيًا

٣ -- تقدير حجم حبوب اللقاح (يزداد بالتضاعف)

٤ تقدير عدد ثقوب الإنبات بحبوب اللقاح (يزداد بالتضاعف)

٥ – تقدير حجم الثغور (يزداد بالتضاعف)

٦ - دراسة كثافة الثغور (تزداد بالتضاعف)

٧ – فحص الشكل العام.

٨ تقدير عدد البلاستيدات الخضراء في الخلايا الحارسة.

يوجد قدر عال من الارتباط بين عدد البلاستيدات الخضراء في الخلايا الحارسه للثغور بالأوراق ومستوى التضاعف في النبات؛ ففي البروكولي، كانت العلاقة كما يلي (Choi وآخرون ١٩٩٧)

متوسط عدد البلاستيدات الخضراء/خلية حارسة	مدى عدد البلاستيدات الخضراء/خلية حارسة	مستوى التضاعف
٨,٣	١٢-٦	١ ن
١٣,٦	١٨-١٠	٢ ن
٢٢,١	٢٩-١٣	٤ ن
٣٠,٧	٤٦-٢٠	٥ ن

ولعدّ البلاستيدات الخضراء بصورة دقيقة، تنقع أجزاء من الأوراق في ٢٠٪ سكروز لمدة ٤ ـ ٨ ساعات، ثم تسلخ البشرة بسهولة ويلي ذلك صبغ التحضير النجهري باستعمال ١٪ نترات فضة لجعل البلاستيدات الخضراء أكثر دكنة؛ مما يجعل من السهل ملاحظتها.