﴿ الباب الخامس عشر ﴾

زراعة الأنسجة

Tissue Culture

obeikandl.com

obeikandl.com

زراعة الأنسجة

Tissue Culture

ويكون النسيج عبارة عن جزء صغير يتراوح طوله من أقل من ١ مم إلى ٥ مم ، يؤخذ من قمة نامية أو برعم جانبى ، أو يؤخذ من ساق أو جذر ، وتزرع هذه الأنسجة فى بيئات In vitro culture معقمة لتكوين نباتات جديدة كاملة.

وزراعة الأنسجة ليست حديثة العهد حيث كانت وسيلة لعلماء فسيولوجيا النبات. وفى الوقت الحاضر تستعمل زراعة الأنسجة على نطاق تجارى فى إكثار الكثير من النباتات ، وتعرف هذه الطريقة باسم Micropropagation .

طرق التكاثر بواسطة زراعة الأنسجة :

١- بواسطة تحفيز تكوين سوق جانبية من براعم جانبية ، وذلك بزراعة قمة الساق النامية (٣-٥ مم). وهى أكثر الطرق استعمالا فى تكاثر الكثير من النباتات ، وذلك لسرعة التكاثر ، ولكون النباتات المنتجة متشابهة فيما بينها ، ومشابهة للنبات الأم.

٢- القواعد الخازنة بالأبصال ، لنباتات الزينة وغيرها ، وتستخدم فى تكاثر بعض نباتات العائلة الزنبقية Liliaceae والنرجسية Amaryllidaceae .

٣- سوق عرضية من نسيج الكالس ، من أسرع وأسهل الطرق لإنتاج نباتات كثيرة ولكن الاختلافات الوراثية بين النباتات المنتجة والنبات الأم تجعل استعمال هذه الطريقة محدودا لتكاثر النباتات.

وعموما كلما كان الجزء النباتى المفصول من النبات الأم صغيرا ، كلما قل حدوث تغييرات وراثية ، وقلما ازدادت احتياجاته الغذائية. ولكن معدل سرعة التكاثر وعدد النباتات المنتجة يزداد كلما كان الجزء المفصول أكبر (موراشيجى ١٩٧٤).

أطوار إنتاج نباتات بواسطة زراعة الأنسجة :

١- **الطور الإنشائى Establishment stage** : وفيه يتم زراعة أجزاء نباتية explant معقمة قادرة على النمو. وفى هذا الطور يجب العناية بمصدر النسيج، ونوع وطبيعة بيئة الزراعة. وتستخدم المضادات الحيوية فى تعقيم الأجزاء النباتية قبل زراعتها. ويجب الاهتمام بدرجة الحرارة والضوء فى غرفة الحاضنة لنمو الأجزاء النباتية.

وتبقى الأجزاء النباتية تحت هذه الظروف لمدة تتراوح من ١-٢ أسبوع تنقل بعدها إلى البيئة الزراعية المستخدمة فى الطور التكاثرى.

٢- **الطور التكاثرى Multiplication stage** : وفيه يتضاعف عدد النباتات Plantlets وتكون عديمة الجذور ، ويجب توفير العوامل الضرورية لذلك خاصة بيئة الزراعة والحرارة والضوء.

٣- **طور التقسية Hardening stage** : وفيه تتم تقسية النباتات وتهيئتها للنقل من أنابيب الاختبار أو القوارير الزجاجية إلى التربة. وتستخدم منظمات النمو لتنشيط تكوين الجذور ، وتوضع النباتات تحت ضوء كثافته عالية نسبياً (٣٠٠٠ قدم/ شمعة) وحرارة عالية (حوالى ٣٠ °م) لتهيئة النباتات قبل نقلها إلى التربة.

العوامل التى تؤثر على تكوين نباتات بواسطة زراعة الأنسجة :

١- **مصدر النسيج** : قد يكون براعم إبطية أو قمة الساق ، جزء من أوراق لحمية ، جذر أو ساق أو القواعد الورقية فى الأبصال.

٢- **عمر النبات الأم** : نسبة النجاح أكبر فى حالة استعمال نسيج من شتلات شابة Juvenile ، بالمقارنة مع نسيج من نباتات ناضجة Mature أو مسنة.

٣- توفر المتطلبات الموسمية من حرارة وضوء ودور سكون.

٤- نوع البيئة الزراعية - كيميائيا وطبيعياً.

٥- نوع القوارير الزجاجية.

٦- درجة الحرارة والضوء أثناء فترة التحضين.

جدول مكونات العناصر المعدنية لبيئة موراشيجى وسكوج (Murashige and Skoog, 1962) وبيئة هوايت (White, 1943)

التركيب المعدنى		موراشيجى وسكوج مجم / لتر	هوايت مجم / لتر
نترات أمونيوم	NH_4No_3	١٦٥٠	
نترات بوتاسيوم	KNO_3	١٩٠٠	
نترات كالسيوم	$Ca(NO_3)_2$		٢٠٠
كبريتات صوديوم	Na_2SO_4		٢٠٠
كبريتات مغنسيوم (مائية)	$MgSO_4.7H_2O$	٣٧٠	٣٦٠
كبريتات الحديدوز (مائية)	$Fe_2So_4.7H_2O$	٢٧٫٨	
كبريتات الزنك (مائية)	$ZnSO_4.7H_2O$	٨٫٦	١٫٥
كبريتات نحاس (مائية)	$CuSo_4.5H_2O$	٠٫٠٢٥	
كبريتات منجنيز (مائية)	$MnSo_4.H_2O$	١٦٫٩	٤٫٥
يوديد بوتاسيوم	KI	٠٫٨٣	٠٫٧٥
فوسفات بوتاسيوم (ثنائى الهيدروجين)	KH_2PO_4	١٧٠	٨٠
كلوريد كالسيوم (مائى)	$CaCI_2.2H_2O$	٤٤٠	
كلوريد كوبالت	$CoCI_2.6H_2O$	٠٫٠٢٥	
فوسفات أحادى الصوديوم (ثنائى الهيدروجين)	NaH_2PO_4		١٦٫٥
موليبدات الصوديوم	$Na_2MoO_4.2H_2O$	٠٫٠٢٥	
صوديوم مخلبى	Na_2-EDTA	٣٧٫٣	
حمض بوريك	H_3Bo_3	٦٫٢	١٫٥
كلوريد بوتاسيوم	KCI		٨٠

بيئات زراعة الأنسجة :

١- ماء مقطر.

٢- عناصر معدنية كبرى وصغرى مهمة لنمو وتكشف الأنسجة النباتية.

٣- مصدر للطاقة - عادة سكر القصب Sucrose.

٤- مواد عضوية وتشمل هرمونات نباتية وفيتامينات وأحماض أمينية.

٥- إضافة أو عدم إضافة مادة هلامية (آجار).

ولتكاثر معظم النباتات تحتوى بيئة الزراعة على :

(أ) مكونات أساسية :

١- العناصر المعدنية وتختلف باختلاف نوع البيئة المستعملة كما يتضح من الجدول السابق.

٢- سكر قصب (٣%) (Sucrose).

٣- فيتامين ب (Thiamine HCL).

٤- اينوسيتول (Inositol).

(ب) مكونات ثانوية :

١- فوسفات صوديوم ثنائى الهيدروجين $NaH_2 PO4 H_2O$

٢- كبريتات الأدينين Adenine sulphate

٣- اكسينات Auxins .

٤- سيتوكينين Cytokinins .

٥- آجار Agar .

فوائد واستعمالات زراعة الأنسجة :

١- إكثار بعض نباتات الزينة ، التى يصعب إكثارها بالطرق التقليدية مثل نباتات الأوركيد Orchids .

٢- إنتاج نباتات خالية من الأمراض ، خاصة الأمراض الفيروسية ، كما فى الموالح والعنب والفراولة.

٣- تسرع من إكثار النباتات ، التى يمكن تكاثرها بالطرق الخضرية مثل العقل والتفصيص والتقسيم وغيرها كما فى نباتات الفراولة وبعض أبصال الزينة.

٤- تستعمل فى المشاتل التجارية فى حفظ النبات الأم فى حيز صغير .

٥- تفيد فى براسج تربية النبات ، حيث تساعد فى إسراع وزيادة إمكانية الحصول على أصناف جديدة بالانتخاب وإكثار النباتات المنتجة .

٦- تسهيل وسرعة تبادل النباتات الخالية من الأمراض بين الدول المختلفة علاوة على تقليل تكاليف نقلها من مكان إلى آخر .

مساهمة تكنيك زراعة الأنسجة
فى بحوث الحاصلات البستانية وإنتاجها

تعتبر الأوركيد من أوائل النباتات البستانية التى استخدمت زراعة الأنسجة فى إكثارها . وتعتبر الطرق الحديثة المستخدمة فى زراعة الأنسجة من الأهمية بمكان فى تكاثر الأوركيد خلال ثلاثة أرباع القرن الحالى (Arditti, 1977) والإكتشاف الأول فى ذلك هو تلقيح الأنابيب بالأوركيد والفطر (Bernard, 1908) . وفى عامى ١٩٢١ و ١٩٢٢ ، وجد Knudson أن بذور الأوركيد يمكن إنباتها فى بيئة محتوية على سكر بسيط . ويعزى النجاح الكبير فى تكاثر سلالات الأوركيد إلى Morel فى عامى ١٩٦٠ و ١٩٦٣ ، وفيه استخدمت طريقة زراعة النسيج المرستيمى Meristem Culture كوسيلة لتكاثر الأوركيد خضرياً . وأمكن استعمال هذه الطريقة فى إكثار الأوركيد على نطاق تجارى ، وبذلك أصبح الأوركيد فى متناول الشخص العادى .

وأعقب هذه الثورة فى تكاثر وزراعة الأوركيد بهذا التكنيك إكثار كثير من نباتات الزينة وأصبحت عملاً تجارياً كبيراً . وبدأ استخدام زراعة الأنسجة تجارياً فى إنجلترا فى إكثار نباتات كثيرة بخلاف الأوركيد ، إلا أن التوسع الكبير حدث فى السبعينيات حيث قام موراشيجى Murashige بدور كبير فى تحسين وتطوير زراعة الأنسجة وتطويعها فى الإنتاج التجارى لكثير من النباتات الاقتصادية .

واستخدام زراعة الأنسجة فى إكثار الأنواع الخشبية أدى إلى تطور كبير فى إكثار هذه الأنواع. وكانت أولى النبتات Plantlets التى حصل عليها فى نبات الحور Aspen فى عام ١٩٧٠ وذلك بطريقة زراعة الكلس Callus Culture. وحتى عام ١٩٧٤ ، امكن إنتاج أشجار الإلم Elm والشوح Birch بطريقة مماثلة. وفى عام ١٩٧٥ وضع برنامج لإكثار الكافور Eucalyptus. وحتى عام ١٩٧٧ أمكن استحداث طرق مناسبة من زراعة الأنسجة فى إكثار الصنوبريات Pines والدرداء Dougla الشابة Juvenile (Mott and Zimmerman, 1981). وقدمت بحوث عديدة فى إكثار الأشجار الخشبية فى المؤتمر الدولى الرابع لزراعة الأنسجة والخلايا ، والذى عقد فى كندا عام ١٩٧٨ ، منها حوالى العشرون بحثاً فى المخروطيات Conifers.

وبدأ إكثار أشجار الفاكهة تجاريا باستعمال زراعة الأنسجة منذ بضعة سنوات مضت. ويعتبر الموز والموالح والعنب والفراولة من الفواكه التى أمكن إكثارها بنجاح باستعمال زراعة الأنسجة. وتجرى محاولات كثيرة لإكثار نخيل البلح (نخيل التمر) بواسطة زراعة الأنسجة إلا أن النتائج جميعها سلبية ولا تبشر بنجاح حتى وقتنا الحالى كما اتضح من البحوث التى قدمت فى الندوة الأولى والندوة الثانية لزراعة النخيل وإنتاج التمور واللتين عقدتا فى جامعه الملك فيصل بالمملكة العربية السعودية فى عامى ١٩٨٢م (١٤٠٢ هـ) و ١٩٨٦م (١٤٠٦ هـ).

تطبيقات استعمال زراعة الأنسجة فى إنتاج المحاصيل البستانية :

١- إنتاج نباتات صحيحة وخالية من الفيرس وخاصة الكامنة Latent Virus والتى يصعب التعرف عليها لعدم ظهور أعراضها. ووجدت طرق للتخلص من واحد أو أكثر من هذه الفيروسات وهى : المعاملة بالحرارة أو زراعة النسيج المرستيمى أو هما معاً (Quak, 1977).

واستخدام زراعة الأنسجة جعلنا على وعى تام بتلوث النباتات بعدد كبير من الميكروبات. وفى هذا المجال تفيد زراعة النسيج المرستيمى فى بعض الحالات

كما فى الجرانيا Pelargonium (Beauchesne et al., 1977, Theiler, 1977).
واستخدام المضادات الحيوية يكون ذات أهمية محدودة جداً (Bastiaens et al., 1982). إلا أن زراعة النباتات الأم تحت ظروف صحية دقيقة يساعد كثيراً على التغلب على هذه المشاكل (Knauss, 1967, Debergh and Maene, 1981) وفائدة خلو النباتات من الفيروس والبكتيريا اكتشفت بعد إنتاج سلالات خالية من البكتيريا أو الفيروس أو هما معاً. ونباتات الروبارب Rhubarb الخالية من الفيروس يزيد محصول أعناقها من ٦٠-٩٠% ونباتات الجرانيا Pelargonium تعطى عقلاً تزيد بحوالى ٢٠-٣٠% (Quak, 1977).

ومن ناحية أخرى يوجد دليل على أن وضع بكتريا معينة مع النبات فى بيئة الزراعة تؤدى إلى تحفيز نمو النبات (Ball, 1978).

٢ - تضاعف النباتات : The multiplication of plants

تساهم زراعة الأنسجة وبدرجة كبيرة فى مضاعفة عدد النباتات وبأوجه مختلفة : (أ) تكاثر سلالات الأصناف الجديدة بسرعة ؛ (ب) تكاثر النباتات التى يصعب إكثارها بالطرق التقليدية ؛ (ج) إنتاج سلالات من النباتات النادرة ؛ (د) إنتاج نباتات صحيحة بكميات كبيرة.

٣ - توفير الجهد Energy saving :

يمكن إحلال بيت زجاجى مكيف مساحته ٢٥٠٠ متر مربع بغرفة خاصة بزراعة الأنسجة مساحتها ١٠ متر مربع. ويعتبر ذلك خير دليل على أهمية زراعة الأنسجة فى توفير الجهد.

٤ - الأهداف الاقتصادية Economical aspects :

يمكن أن تكون النباتات الناتجة بزراعة الأنسجة أرخص منها تحت الظروف التقليدية. وعند مقارنة التكلفة السعرية يجب الأخذ فى الاعتبار قيمة النباتات الناتجة بزراعة الأنسجة وخواصها خصوصاً فيما يتعلق بخلوها من الأمراض المختلفة.

٥ - الإدارة Management :

يصعب التحكم فى النباتات الناتجة فى المشاتل خاصة إذا كانت المشاتل متعددة ، هذا بالإضافة إلى صعوبة إدارة المشاتل مع قلة رأس المال. وباستخدام زراعة الأنسجة يمكن وضع برامج لإنتاج نباتات بكميات كبيرة وذات مواصفات خاصة فى أى وقت.

٦ - التربية Breeding :

تفيد زراعة الأنسجة فى اكتشاف التصنيفات الوراثية وإمدادنا بالمعلومات الوراثية.

٧ - التجارة الدولية International Trade :

غالباً ما تكون نباتات زراعة الأنسجة هى المحور الرئيسى لتبادل النباتات بين الدول المختلفة.

٨ - حفظ الأصول الوراثية Germplasm Reservation فى حيز صغير.

زراعة الأوركيد Orchid Growing :

وفى فرنسا كان Vacherot and Lecoufle أول من استخدم طريقة زراعة المرستيم فى إكثار نباتات معينة على نطاق تجارى. وهذه الطريقة تعتبر صحية لضمان إنتاج نباتات متماثلة. وفى معمل Twyfords أمكن إنتاج مئات الآلاف من الأوركيد فى أجناس متعددة منها :

(Cattleya, Cymbidium, Odontoglossum, Phalaenopsis and Vanda)

ولكن لوحظ وجود طفرات قليلة وقاصرة على الأوراق المبرقشة العارضة (Holdgate, 1977). وكثير من منتجى الأوركيد عندهم نفس الخبرة.

وهناك جنس واحد لا ينجح إطلاقاً Recalcitrant بالتكاثر بزراعة الأنسجة هو الجنس Paphiopedilum.

نباتات القصارى وأزهار القطف Pot plants and cut flowers :

كان التكاثر بطريقة زراعة الأنسجة قاصراً على الأوركيد حتى عام ١٩٧٠ وفى السنوات القليلة الماضية سادت طريقة زراعة الأنسجة فى إكثار العديد من نباتات القصارى وأزهار القطف. وفى عام ١٩٧٩ أمكن إكثار أكثر من مائة مليون نبات فى الولايات المتحدة الأمريكية (أساساً نباتات القصارى). وفى هولندا قدر عدد نباتات القصارى وأزهار القطف فى معامل زراعة الأنسجة بحوالى خمسة ملايين فى عام ١٩٨٠ (Pierik, 1981). وفى الحقيقة يمكن إكثار نباتات القصارى وأزهار القطف بزراعة الأنسجة.

والمعلومات والخبرة المكتسبة من نباتات الزينة غير الخشبية (non-woody) مهدت الطريق لإكثار النباتات الأخرى بزراعة الأنسجة. واستخدمت الطرق التى استحدثها Murashige عام ١٩٧٤ بواسطة معظم العاملين الآخرين فى مجال زراعة الأنسجة وتشتمل طرق موراشيجى على ثلاثة مراحل :

مرحلة ١ : تأسيس establishment البيئة المعقمة.

مرحلة ٢ : تضاعف وزيادة عدد أنسجة التكاثر Multiliplcation of propagula.

مرحلة ٣ : إعداد وتهيئة النباتات للزراعة فى التربة بنجاح.

وسرد موراشيجى (١٩٧٨) ثلاثة أنواع من الأجزاء النباتية propagula للتضاعف بواسطة زراعة الأنسجة هى :

١- تفتح البراعم الجانبية.

٢- إنتاج براعم عرضية.

٣- تكشف الخلايا الجسمية.

وفى حالة تفتح البراعم الجانبية ، فإن عدد الأفرخ الناتجة يتوقف على عدد البراعم الجانبية فى كل من الأنسجة المزروعة. وفى حالة إنتاج البراعم العرضية فإنها تعطى قدراً كبيراً من الأفرخ لأن الأفرخ تنتج من أى منطقة فى

النسيج المزروع. أما فى حالة تكشف الخلايا الجسمية فإنها تنتج عددا كبيرا من نباتات كاملة (Anderson, 1980). ويراعى أن النباتات غير الصادقة لصنفها تكون مرتبطة بالبراعم العرضية وتكشف الخلايا الجسمية. وأكثرها ثباتا (النباتات الصادقة للصنف) تكون ملازمة للبراعم الجانبية.

وقام كل من موراشيجى (١٩٧٤) وبيرك Pierik (١٩٧٩) بنشر قوائم نباتات القصارى وأزهار القطف التى نجح إكثارها بطريقة زراعة النسيج والمراجع الخاصة بها.

زراعة الفواكه Fruituculture :

أحدثت زراعة الأنسجة ثورة كبيرة فى إنتاج الفراولة. إلا أنه نتج عن ذلك بعض أنواع جديدة من النباتات وعلى أصحاب المشاتل أقلمة هذه الأنواع الجديدة، واستعمال هذه الأنواع كأمهات لإنتاج النباتات المدادة تحت ظروف الحقل. وفى الحقيقة تنتج هذه النباتات أعداد كبيرة من المدادات runners والنباتات المدادة runner plants. واستخدام نباتات الأنسجة مباشرة فى الإنتاج ليست اقتصادية لأن هذه النباتات غاليا ما يكون محصولها قليلا بمقارنتها بالنباتات التقليدية (Damiano, 1980, Swartz, 1981).

وتحت ظروف الحقل ، فالنباتات الناتجة من أمهات ناتجة من زراعة الأنسجة ، سواء كانت طازجة أو مخزنة فى ثلاجات تعطى محصولا غزيرا عنه فى النباتات المتكاثرة بالطرق التقليدية. وهذا ليس صحيحا عند زراعة النباتات فى بيوت بلاستيكية (Aerts, 1979, Damiano, 1980).

وعلى الرغم من أن زراعة الأنسجة تؤدى دائما إلى زيادة المحصول ، إلا أن استعمالها يكون مربحا حيث أن النباتات الناتجة تكون صحيحة وخالية من الأمراض بصفة دائمة وتسمح بالتخطيط السليم للإنتاج وتفتح آفاقا جديدة فى حفظ النباتات وتبادلها (Boxus et al, 1977) كما أن استخدام زراعة الأنسجة فى إنتاج النباتات ينتج عنه تماثل النباتات بدرجة كبيرة ونجاح هذه النباتات فى الحقل (Swartz, 1981).

ويبدو أن التفاوت بين سلوك نباتات زراعة الأنسجة لا يرجع إلى الطفرات ، ولكن زراعة الأنسجة غيرت من الحالة الفسيولوجية. ويمكن تقليل هذا التفاوت ببعض المعاملات مثل المعاملة بالهرمونات وغيرها.

والهدف الرئيسى من إكثار نباتات الفراولة بزراعة الأنسجة أنها تؤدى إلى تحسين إنتاج النباتات الأساسية Prebasic ففى فرنسا تمكنت هيئة C.T.I.F.L من إنتاج ٤٠٠ نبات فى عام ١٩٧٥ بالطرق التقليدية ، ٢٨٠ ألف نبات فى عام ١٩٧٩/١٩٨٠ بزراعة الأنسجة. كما أنها تقلل عدد دورات التكاثر من ٤ إلى ٢ وهذا بدوره يقلل من التعرض لتلوث النباتات بالفطر والفيروس. وهكذا فى عام ١٩٨٠ أمكن تلبية حوالى ٩٠% من احتياج المزارعين من النباتات المعتمدة رسميا certified مقارنة بحوالى ١٠% فى حوالى عام ١٩٧٧ (Navatel, 1980).

وبالإضافة إلى الفراولة أمكن زراعة حوالى ١٥ فاكهة أخرى بطريقة زراعة الأنسجة. وفى بعض الدول (أمريكا وسويسرا وغيرها) يزداد الطلب على النباتات الخالية من الأمراض للفواكه الصغيرة Small fruits .. وكانت النتائج مشجعة جدا ولم يلاحظ أى آثار جانبية لذلك (Zimmerman, 1980).

وهناك أقطار أخرى فى حاجة إلى إكثار أشجار الفاكهة بزراعة الأنسجة. زراعة الأنسجة تسرع كثيرا من إنتاج الأصول. ومعظم أصول جنس التفاح Malus وجنس الفواكه الحجرية النواة Prunus يمكن إنتاجها فى مدة قصيرة وهناك دلائل على أنها تنمو أسرع. ونتيجة لذلك يمكن للمشاتل إنتاج أشجار مطعومة فى وقت أقصر بحوالى عام. كما يمكن إجراء التطعيم على مدار السنة وهذا يقلل الأعباء الكثيرة عند التطعيم فى أوقات محددة (Faust and Fogle, 1980).

والاتجاهات الحديثة فى زراعة بساتين الفاكهة هو زراعة الأشجار متكاثفة وهذا بالتالى يحتاج إلى عمليات خدمة مكثفة سواء فى إنتاج الأشجار أو زراعتها أو تقليمها أو حصادها وتحت هذه الظروف تكون التكلفة هى العامل المحدد ، وزراعة الأنسجة من الكفاءة بمكان لإنتاج أشجار ذات صفات جيدة بأقل تكلفة.

وعادة تتكاثر أشجار الفاكهة بواسطة التطعيم. وكثير من الأمراض الفيروسية تنتقل بواسطة التطعيم ويتزايد إصابة الأشجار بالأمراض الفيروسية من جيل إلى آخر بواسطة التطعيم (Fridlund, 1980). وبالإضافة إلى ذلك فإن منطقة الإلتحام تؤثر على الأشجار المطعومة مثل انتقال الكالسيوم (Faust and Fogle, 1980).

وإنتاج أشجار نامية على جذورها يعتبر هدفاً هاماً للتغلب على الأضرار الناتجة من التطعيم سواء المرضية منها أو الفسيولوجية. وهناك عدد كبير من أصناف التفاح مثل Jonathan, Golden Delicious وأصناف أخرى تكون نصف مقصرة على جذورها وهذا هو الحجم المطلوب من الأشجار. كما يمكن الاستغناء عن استخدام الأصول وذلك بزراعة أصناف الفاكهة تحت الظروف المناسبة سواء الجوية أو المتعلقة بالتربة وزيادة على ذلك يمكن إنتاج سلالات تتلاءم مع البيئات المختلفة new ecotypes من نفس الأصناف للتغلب على استعمال الأصول.

ويصعب الكشف عن الاختلافات الظاهرية بين الأشجار فى مبدأ حياتها فى البستان ، كما نحتاج إلى معلومات كافية عن ذلك فى إنتاج الثمار. كما أن أداء الأشجار perform يكون متماثلاً تقريباً فى الأشجار الناتجة بالطرق التقليدية وزراعة الأنسجة.

وحيث أن النباتات الناتجة بطرق زراعة الأنسجة تكون خالية من الفيرس وتميل أن تكون شابة بدرجة كبيرة ، فالأشجار الناتجة منها تكون كبيرة الحجم وتحتاج إلى وقت طويل بين زراعتها وإثمارها كما فى الفراولة مثلا. وليس لدينا معلومات كافية عن هذه النقطة ويجب علينا البحث عن طرق لدفع مثل هذه الأشجار النامية على جذورها إلى الإثمار المبكر.

وفى الموالح تنتج البذور العديدة الجنة أعداداً كبيرة من النباتات الخالية من الفيرس والمطابقة لأمهاتها فى صفاتها. وهذه النباتات يظهر عليها بعض صفات غير مرغوبة متعلقة بدور الشباب Juvenile مثل

كثرة الأشواك وتأخر إثمارها وصفات أخرى مثل ضخامة الأفرع وكبر أجنحة الأوراق وغيرها. ولهذه الأسباب تجرى محاولات عديدة لتطعيم أطراف الأفرخ كوسيلة للتخلص من الفيرس بدون الرجوع إلى سن الشباب rejuvenation (Button and Kochba, 1977).

إنتاج الخضر Vegetable growing :

هناك تجارب عديدة توضح أهمية استعمال زراعة الأنسجة فى زراعة وإنتاج الخضر. وتستعمل زراعة الأنسجة بكثرة فى البطاطس والخرشوف لغرض إنتاج تقاوى خالية من الأمراض المختلفة وخاصة الفيروسية (Dore, 1980, Harbaoui and Debergh, 1980, Moncousin, 1981).

وتفيد زراعة الأنسجة فى برامج تربية محاصيل كثيرة من الخضر وفى ذلك توفير للوقت والمساحة وزيادة التصنيفات الوراثية.

وأكثر محاصيل الخضر استفادة من زراعة الأنسجة هو الأسبرجس Asparagus officinalis. والهدف الرئيسى من تحسين الأسبرجس هو زيادة الإنتاجية والتبكير فى النضج مع نوعية عالية.

وترجع مشاكل الأسبرجس إلى أنه ثنائى المسكن علاوة على كونه معمراً perennial. وزراعة النسيج المرستيمى وكذلك العقل يمكن بها إكثار أى نبات وخاصة آباء الهجن الجيدة. ومن ناحية أخرى تعطى زراعة المتوك نباتات متجانسة (وهذه هى الطريقة الوحيدة لإنتاج الذكور عالية الكفاءة والنوعية والتى تستعمل كآباء لهجن الجيل الأول). ومنذ عام ١٩٧٥ ، استخدم هذا التكنيك لإنتاج خمسة سلالات هجينة على نطاق تجارى هى : Bruneto, Citσ, Aneto, Desto steline, (Dore, 1977, Dore and Corriols, 1980) وفى الجزر Daucus carota, L. ، نبات خلطى التلقيح ، تستخدم زراعة الأنسجة لحفظ سلالات الآباء خاصة السلالات العقيمة الذكر male sterile. وفى اللفت Brassica ، تنحصر زراعة الأنسجة فى التكاثر.

وفى الطماطم ، أجريت عليها تجارب كثيرة بواسطة زراعة الأنسجة إلا أن النتائج التى حصل عليها لا زالت فى دور البحث ولا تسمح باستعمال أى منها على نطاق تجارى. وهناك بعض نتائج تبشر باستخدام تكنيك زراعة الأنسجة فى تكاثر الطماطم فى المستقبل القريب. وهناك تجارب لا زالت تحتاج إلى وقت طويل ، ترمى إلى اتحاد البروتوبلاست Protoplast fusion لغرض الحصول على سلالات مقاومة للأمراض مع صفات جيدة أخرى من النباتات البرية القريبة من الطماطم والتى لا يمكن تهجينها مع الطماطم Lycopersicon esculentum. (Meredith and Lawrence, 1981)

ويعتقد أن زراعة الأنسجة سوف تلعب دوراً رئيسياً فى موضوع مقاومة الأمراض. وحتى وقتنا الحاضر يوجد نقص كبير فى المعلومات وتشخيص السموم النباتية Characterization of phytotoxins وإيجاد طرق انتخاب فعالة (Meredith and Lawrence, 1981) وهذا هو السبب فى أهميتها الكبيرة لمحاصيل الخضر ، أكثر منه فى أى محاصيل أخرى ، حيث تحفز حفظ المادة الوراثية Stimulate germplasm preservation . كما أن الاختفاء السريع لأصناف البطاطس البرية أدى إلى إنشاء مركز هام لتجميع أعداد كبيرة من المادة الوراثية germplasm فى المركز الدولى للبطاطس فى بيرو. وتكاليف حفظ أعداد كبيرة من السلالات الخضرية مكلفة جداً ، كما أن هناك بعض الاحتمالات فى فقد بعض السلالات. وحفظ المواد materials فى زراعة الأنسجة يعتبر بديلاً للطرق التقليدية (Westcott et al, 1977).

كما أن تكنيك زراعة الأنسجة سيكون وسيلة فعالة فى إيجاد تصنيفات وراثية كثيرة. وفى هذا المجال استحدث Shepard et al. عام ١٩٨٠ ، نظاماً لحفظ السلالات الأولية Protoclone فى البطاطس. وعادة يفصل البروتوبلاست من نسيج الميزوفيل فى البطاطس ثم يحفز البروتوبلاست لتكوين كالس. والنباتات التى تنمو من الكلس تظهر مجالاً كبيراً من الاختلافات فى الصفات المختلفة.

أشجار الزينة الخشبية Woody ornamentals :

تدل التجارب المختلفة أنه يصعب إلى الآن معرفة أى الأجزاء النباتية أكثر ملاءمة لاستعمالها فى زراعة الأنسجة (Mott and Zemmerman, 1981)• وهذا خلق مجالاً جديداً فى البحث لمعرفة الحالة الفسيولوجية للنبات الذى يؤخذ منه النسيج لزراعة الأنسجة وكذلك التحكم فيها•

ويصعب جداً اختيار الجزء النباتى explant فى الأشجار عنه فى الشجيرات• وقد يرجع ذلك جزئياً إلى ظاهرة السيادة القمية Correlative inhibition وبالإضافة إلى ذلك فالتغيرات الموسمية (Altman and Goren, 1974) وظاهرة الشباب Juvenility (Franclet, 1979) تتحكم جميعها فى تفاعل الجزء النباتى الأولى initial explants فى بيئة زراعة الأنسجة•

وسهولة استجابة الأنسجة الشابة Juvenile مثل الأجنة والشتلات البذرية الصغيرة السن (على عكس الأنسجة الناضجة mature) ثبت صحتها كذلك من نتائج الأبحاث التى قام بها (Sommer and Caldas, 1981, Duran and campbell, 1974) وتجرى أبحاث كثيرة على الأشجار والشجيرات الناضجة Mature لإيجاد طرق مناسبة للإحتفاظ بالأفرخ أو الأنسجة فى مرحلة الشباب أو استعادة هذه الأفرخ أو الأنسجة لمرحلة الشباب• وفى هذه الحالة تكون جميع التجارب والأبحاث على مثل هذه الأنسجة أو الأفرخ الشابة• ويمكن الوصول إلى ذلك بالتطعيم على الأنسجة الشابة ، أو تغيير نسبة السيتوكينين إلى الإكسين فى صالح السيتوكينين•

وهناك حاجة ماسة إلى التكاثر من الأشجار الناضجة لدراسة صفات المحصول أو الناحية الجمالية ، أو بمعنى آخر الحكم على هذه الصفات• والبديل لإجراء التجارب على أنسجة من الأشجار الناضجة هو استحداث طرق زراعة أنسجة يمكن بها الحكم فى وقت مبكر على هذه الصفات (Mott and Zimmerman, 1981)•

وزيادة على مجاميع النباتات الأخرى ، فالمركبات الفينولية تعوق هذه العملية. وفى الأطوار المبكرة لزراعة الأنسجة تقتل هذه المركبات الفينولية الأنسجة المستعملة فى زراعة الأنسجة explant ، وفى الأطوار المتأخرة تقلل الإنتاج. والتجارب الحديثة هو استحداث طرق مناسبة للتحكم فى إنتاج وتراكم هذه المركبات (Rhodes and Wooltorton, 1978; Vande Casteele et al., 1981; Yeaoman and Mcleod, 1977) ويعتبر الورد من أكثر شجيرات الزينة التى أجريت الأبحاث عليها .Martin وآخرون عام ١٩٨١ قاموا بتقييم ٢١٢٥ شجرة ورد بطريقة زراعة الأنسجة بدرجة كبيرة. وكان سلوك النباتات النامية بعد ستة أشهر من استخراجها من الأنابيب يماثل تماماً النباتات البالغة (الناضجة) adult. وأزهرت جميع النباتات فى السنة الأولى ، وفى السنة الثانية من الزراعة كان عدد الأزهار يزيد بمقدار ٢٠% عنه فى المقارنة (الكنترول). وبينت هذه التجارب أنه يمكن إنتاج زهور أرخص فى ستة أشهر مقارنة بعامين ونصف فى الطرق التقليدية. وكانت النتائج إيجابية كذلك فى أشجار الزينة التى تتبع العائلة الوردية جنسى Malus و Prunus (Duart, 1980).

ووجد كذلك أن شجيرات عديدة يمكن تطعيمها بنجاح باستعمال زراعة الأنسجة باستعمال نباتات بالغة (ناضجة). ومعظمها أنواع يسهل إكثارها بالطرق التقليدية : Buddleia و Deutzia و Forsythia و Hydrangea و Ribes و Weigelia.

وحديثاً أمكن الحصول على نتائج إيجابية فى الأنواع التى يصعب إكثارها مثل Magnolia و Hammamelis (Maene and Debergh, 1982).

ويحتاج الأمر إلى الإكثار السريع لبعض الأشجار والشجيرات المنتخبة كما أن التحكم فى استعادة الأنسجة الناضجة إلى مرحلة الشباب يساعد كثيراً على حل كثير من المشاكل.

دور زراعة الأنسجة فى البحوث البستانية :

١ - التحكم فى استعادة النمو Control of regeneration :

يمكن اعتبار طرق زراعة الأنسجة وسيلة هامة فى إنتاج سلالات cloning والتكاثر التجارى mass propagation لنباتات مفيدة ويجب ألا ننسى أن كل نوع من انواع النباتات الجديدة يمثل مشكلة بحثية مستقلة فيما يتعلق باستعادة النمو . وهذه الصعوبات أدت إلى اكتشاف هذه المجموعة الجديدة من مواد النمو "السيتوكينين" Cytokinins (Skoog and Miller, 1957) .

وهناك منتجات كثيرة تحت الدراسة وذلك لتأثيرها على نمو الأعضاء Organogenic potential : مثل phloroglucinol (Jones and Hatfield, 1976) و polyamines (Galston, 1978) .. الخ وليس من المستبعد أنه بزراعة الأنسجة يمكن اكتشاف مجاميع جديدة من مواد النمو Growth substances .

الظواهر الفسيولوجية الخاصة بمرحلة الشباب Juvenility والسيادة القمية Correlative inhibition والسكون Dormancy ترتبط ارتباطاً وثيقاً بالحالة الهرمونية فى النبات ، ولذلك فإن معرفتنا التامة بهذه الظواهر والحكم فيها يساعد بدون شك على زيادة معلوماتنا عن ظاهرة استعادة النمو Regeneration .

وفهمنا الجيد لظاهرة Rhizogenesis نتجت من الدراسات العديدة على الـ peroxydases (Gaspar et al., 1982) وهذه المعلومات سوف تؤدى إلى تنمية استراتيجيات للوصول إلى التطبيق العملى .

وكل ما تحتاج إليه تكنولوجيا زراعة الأنسجة هو استحداث وسائل للتشخيص diagnostic والتحليل يمكن استخدامها فى وصف الاختلافات الجزينية والفسيولوجية من النظم التى تؤدى إلى استعادة النمو Regeneration وتلك النظم التى تثبطها (Jaworski, 1978) .

٢ - أمراض النبات Plant Pathology :

إن دراسة العلاقة بين المسببات المرضية Plant pathogen أصبحت سهلة بدرجة كبيرة باستخدام زراعة الأنسجة أو زراعة البروتوبلاست. والملاحظات على الأنسجة أو الخلايا فى بيئات زراعة الأنسجة تعطى وسائل سريعة لتقييم الإصابة بالفيروس Virus indexing وعزل screening التراكيب الوراثية genotypes المقاومة.

٣ - وراثة الخلايا Cell Genetics :

إن دراسة وراثة الخلايا الجسمية Smatic cell genetics لازالت فى مراحلها الأولى ولكن وجد أن لها أبعادا مذهلة.

وتكنولوجيا زراعة الخلايا تقدم قاعدة وراثية عريضة لتحسين المحاصيل. ويقدم البروتوبلاست وسائل مختلفة تهدف إلى تغيير التركيب الوراثى وينحصر ذلك فى مجالين رئيسيين هما : ١- استخدام البروتوبلاست فى دراسات التحويل Transformation ؛ ٢- الحصول على تراكيب وراثية Genetic recombination أو تصنيفات وراثية جديدة بامتزاج البروتوبلاست Protoplast fusion (Constabel, 1980).

وفى كلا الحالتين يحدث انتخاب الصفات المرغوبة على مستوى الخلايا إلا أنه يجب الإجابة على السؤال الهام عن مدى ظهور هذه الصفات الوراثية فى النبات النامى.

ومن المشاكل الرئيسية الأخرى المتعلقة باستعادة نمو النبات Regeneratin ، أنه توجد أنواع عديدة يمكنها الاستمرار فى النمو. إلا أن هناك بعض عائلات أو مجاميع لا تستجيب إطلاقا تحت أى من الظروف (الحبوب ، بعض البقوليات، العائلة الوردية ، المخروطيات).

وزراعة المتوك أو الجرثومة microspore لازالت صعبة ولا يمكن الاعتماد عليها كأداة لمربى النبات يمكن استعمالها ، ولازالت هذه الدراسات متعثرة.