

إكثار الموالح باستخدام طرق زراعة البويضات



أجريت هذه الدراسة بمعمل زراعة الأنسجة - قسم البساتين - بكلية الزراعة بمشتهر خلال الفترة من ١٩٩٧-١٩٩٩ بهدف دراسة أنسب طرق زراعة البويضات وحبوب اللقاح لإنتاج نباتات بالطرق المباشرة وغير المباشرة للحصول علي نباتات أحادية ، وكذا تأثير دراسة التشيع بجرعات مختلفة على التراكيب الوراثية الناتجة مع عمل البصمة الوراثية لاختبار الاختلاف الوراثي باستخدام تقنية RAPD الـ DNA بهدف تحديد التراكيب الوراثية الناتجة.

اختيرت أمهات متجانسة و خالية من الأمراض من البرتقال بسرة واشنجن والبرتقال الخليلي الأحمر حيث تم تعليم أربعة أفرع رئيسية و تم أخذ الأزهار كاملة التكوين مغلقة قبل تفتحها في بداية موسم النمو و تحتوى هذه الأزهار على أعضاء التذكير (حبوب اللقاح) وأعضاء التأنيث (البويضات) وتم تعقيم الأزهار باستخدام ١٠% كلوركس مع إضافة نقطتين من Tween-20 لمدة ١٥ دقيقة ثم غسلت بالماء المعقم ثلاث مرات لمدة ٥ دقائق لكل مرة ثم زرعت على بيئات موراشيخ وتوكر ، موراشيخ وسكوج ، موراشيخ وسكوج المعدلة ، كما تمت دراسة كل من تأثير معاملات البرودة حيث وضعت في الثلجة على درجة حرارة ٥°م لفترات مختلفة وكذا نفس الفترات تحت درجة حرارة الغرفة ، كما تم دراسة تأثير حجم الزهرة (كبيرة - متوسطة - صغيرة) ، وقوة البيئة (قوة كاملة - نصف قوة - ربع قوة - ثمن قوة) و بجانب الإضافات المختلفة (جلوتامين - أسبارجين - كازين - هيدروليزات - مستخلص المولت - مستخلص الخميرة) بتركيز

٢٠٠ مللجرام/لتر بالإضافة إلى ذلك تم دراسة تأثير تركيزات مختلفة من ٦- بنزاييل أمينوبيورين (صفر ، ٠,٥ ، ١,٠ ، ٢,٠ مللجرام/لتر) على تخليق النباتات من الكالس المتكون وكذا دراسة أثر جرعات مختلفة من التشجيع على تكوين الكالس وعلى النباتات وتم دراسة تأثير أنواع مختلفة من السيتوكينيات (كينيتين ، ٦- بنزاييل أمينوبيورين (٠ ، ٠,٥ ، ١ ، ٢ مللجرام/لتر)) وكذا تأثير معاملات القوى المختلفة من البيئة وتركيزات مختلفة من الجبريلين (٠ ، ٠,٥ ، ١ ، ٢ مللجرام/لتر) على استطالة الأفرع وكذا نشوء مبادئ الجذور كما درس تأثير حالة البيئة (صلبة - شبه صلبة - سائلة) و أنواع أكسينات مختلفة (أندول حمض البيوترك ، نفتالين حمض الخليك) بتركيزات مختلفة (٠ ، ٠,٥ ، ١ مللجرام/لتر) على النمو وتكوين الجذور وعلاوة على ما سبق فقد تم عمل بصمة وراثية لبعض النباتات التي نتجت من التخليق المباشر و الغير مباشر و كذا الكالس لنباتات الخليي الأحمر فقط باستخدام طريقة الحامض النووي DNA الذي تم اختبار مستخلص الـ DNA بطريقة تحليل ضم الانعزالات المتفارقة Bulked Segregant Analysis للطرز الوراثية (البرتقال الخليي الأحمر) (الشجرة الأم) - البرتقال الخليي الأحمر (زراعة أنسجة من البويضات - كالس - نباتات - نباتات ناتجة من الكالس)) ، وأيضاً قد استخدمت أربعة بادئات عشوائية وكل بادئ يتكون من عشرة قواعد وتلك البادئات هي : B₅ , C₇ , E₇ , D₂₀ .

و كانت النتائج المتحصل عليها كالاتي :-

أولاً : مرحلة بداية الزراعة :

(١) تفوقت البويضات على حبوب اللقاح حيث أعطت أفضل تطور للجزء النباتي وإنتاج كالس وكذا التخليق المباشر كما قلت من موت النسيج.

٢) أعطت البويضات المأخوذة من البرتقال بسرة واشنجطن أفضل النتائج مقارنة بالبويضات المأخوذة من البرتقال الخليلي الأحمر.

٣) وجد أن بيئة موراشيخ وتوكر هي الأفضل في الحصول على أفضل تطور للنسيج بينما أعطت بيئة موراشيخ وسكوج المعدلة أفضل النتائج في تكوين الكالس.

٤) أعطت معاملة ما قبل الزراعة بالتبريد لمدة ٧ أيام أفضل النتائج من حيث تطور النسيج النباتي ، التخليق المباشر وتقليل موت النسيج بينما أعطت معاملة ما قبل الزراعة تحت ظروف حرارة الغرفة أفضل النتائج في إنتاج الكالس.

٥) ساعد استخدام الأزهار كبيرة الحجم على زيادة تطور الجزء النباتي وزيادة التخليق المباشر وتقليل موت النسيج بينما أعطى الحجم الأصغر للأزهار أفضل النتائج في إنتاج كالس.

٦) أدى استخدام البيئة ربع قوة وثمان قوة إلى زيادة تطور النسيج النباتي والتخليق المباشر وطول الفرع والاختضار بينما ساعدت القوة الكاملة على زيادة إنتاج الكالس.

٧) أدى إضافة مستخلص المولت أو الكازين هيدروليزات إلى تحسين معظم القياسات التي تمت دراستها.

٨) ساعد استخدام التركيز المنخفض من ٦- بنزائل أمينو بيورين (٥,٥ مليجرام/لتر) على زيادة عدد النباتات المخلفة من الكالس وكذلك النمو والاختضار وقللت من موت النسيج وإنتاج الكالس.

ثانياً : تأثير معاملات التشيع:

أدى التشيع بتركيزات عالية إلى أحداث تأثير سلبي على تطور النسيج النباتي وتخليق النباتات من الكالس وكذلك نمو واخضرار النباتات المعاملة بينما أدى استخدام التشيع بجرعات منخفضة (٠ ، ٢ كيلو راد) إلى نتائج أفضل.

ثالثاً : مرحلة الزيادة العددية :

- (١) تفوق الكينيتين على البنزويل امينوبيورين في زيادة النمو والاختضرار بينما كان العكس في حالة الزيادة العددية وموت النسيج.
- (٢) أعطت النباتات الناتجة من البرتقال الخليلي الأحمر أفضل نمواً وزيادة عددية وأقل في موت النسيج مقارنة بالنباتات الناتجة من البرتقال بسرة.
- (٣) أدى استخدام تركيزات (٠,٥ ، ١ ملليجرام/لتر) من الأوكسينات إلى زيادة النمو والاختضرار والزيادة العددية وتقليل موت النسيج.

رابعاً : مرحلة التجذير :-

- (١) ساعد استخدام بيئة (ربع أو ثمن قوة) إلى زيادة استطالة الأفرع والتجذير وتقليل موت النسيج مقارنة بالقوى الكاملة للبيئة.
- (٢) فشلت التركيزات المختلفة من الجبريلين في الحصول على نتائج أفضل في تحسين القياسات المختلفة تحت الدراسة ماعدا التركيزات المنخفضة (٠,٥ ، ١ ملليجرام/لتر) من الجبريلين في تقليل نسبة الموت للنسيج.
- (٣) أدى استخدام البيئة الصلبة إلى زيادة النمو و الاختضرار بينما أعطت البيئة السائلة أفضل النتائج في تجذير النباتات.

٤) تفوق أندول حمض البيوتريك على نفتالين حمض الخليك في زيادة تكوين الجذور.

٥) أعطت التركيزات المنخفضة من الأكسينات (٠,٥ ، ١ ملليجرام/لتر) أفضل نمو وتكوين الجذور وتقليل موت النسيج.

خامساً: البصمة الوراثية باستخدام الحمض النووي DNA :-

١) أعطت البادئات العشوائية اختلافات وتشابهات في الحزم للـ DNA المستخلص من الشجرة الأم والـ DNA المستخلص من زراعة الأنسجة (الكالس - النباتات - النباتات الناتجة من الكالس). وتراوحت الوزن الجزيئي لتلك الحزم من (b.p٤٣٣,٣٣ - b.p١٦٦١).

٢) وترجع تلك الاختلافات والتشابهات بين عينات الـ DNA المستخلصة لانعزال الجينات (الناتجة من زراعة الأنسجة للبيوضات الأحادية العوامل الوراثية) وذلك يمكن أن يساعد في عمليات الانتخاب للصفات الوراثية المرغوبة بصورة نقية.

