المحاضرة الرابعة

المشاكل المرافقة لزراعة الكالس والمعلق الخلوي:

الاسمرار Browning: يتحول لون الوسط والزروعات الى لون قهواني مائل الى السواد. يرجع ذلك الى مجموعة أسباب أهمها تسرب فينولات من الجزء النباتي المقطوع والمزروع على الوسط الغذائي مما يسبب في تغيير لونه وينتشر كذلك في الجزء النباتي وخلايا الكالس المستحثة . الفينولات عبارة عن مركبات كيميائية لها حلقة أروماتية وفيها واحده أو اكثر من مجموعة الهيدروكسيل .تميل الفينولات للذوبان بالماء وتتحد عموما مع السكر مكونة كلايكوسيدات وتتمركز في الغالب في فجوات الخلية, أهم المركبات الفينولية هي , **Coumurin , Resorcinol , Pyrogallic acid , Salicylic acid , Countrin , Doparnine , Chlorogenic acid , Cinnamic acid , Hydroxylbenzoic** وغيرها. تتسبب تلك المركبات الفينولية بشكل رئيس عن تفاعلات الاسمرار وتسبب في هلاك الزروعات. ينتج عن أكسدة الفينولات ومركبات الكوينينات(**Quinins**) الضارة بالنسيج النباتي . يعالج الاسمرار الناتج من أكسدة الفينولات نتيجة نشاط انزيمات **Polyphenolacec** بالمعاملة بمواد مضادة للأكسدة مثل حامضي الستريك والاسكوربيك وبتراكيز 100–150ملغم/لتر بعد تنقيع الأجزاء النباتية في محاليلها لعدة دقائق. ووجد بأن خليط محلول مكون من 1.0 غم من سترات البوتاسيوم و 0.25 غم من السترات بعد اذابتها في 10 مل من الماء المقطر المعقم وتخفيف التركيز ليكون المحلول الخزين بتركيز 0.125% ذات فعالية مضادة للأكسدة والتخلص من الاسمرار عند تنقيع الأجزاء النباتية لعدة دقائق وبمدى من التراكيز تتراوح من 0.1–0.5 ملغم/مل. يلجأ الكثير من العاملين الى شطف الأجزاء النباتية في ماء حنفية جاري للتقليل من محتواها الفينولي والقسم الاخر ينقع الأجزاء النباتية لفترات قد تصل الى 24 ساعة قبل تعقيمها سطحيا وزراعتها وخاصة للأنواع النباتية ذات المحتوى العالي من المركبات الفينولية مثل أنسجة النخيل , وبصورة عامة توجد الكثير من الطرق المتبعة للتخلص من مشكلة الاسمرار واختيار الانسب منها تحدده بعض العوامل منها نوع النبات , طبيعة المركبات الحاوية عليها , نوع الجزء المأخوذ من النبات, نوع الوسط المستعمل. ومن أهم تلك الطرق ما يلي:

1- الغسل والتنقيع للأجزاء النباتية بالماء لحين تسرب أكبر كمية ممكنة من المركبات الفينولية.
2- تجنب اضافة النتروجين والكلوريد الى الوسط لأن الاجهاد الذي تسببه يحفز انتاج الفينولات وبذلك تكون المعاملة بمضادات الأكسدة قليلة التأثير في منع الاسمرار.
3- استعمال أجزاء نباتية في مرحلة الحداثة **(Juvenile)** وتجنب القديمة.
4- النقل المتكرر للجزء النباتي أو الكالس مع بداية ظهور الاسمرار الى وسط جديد.
5- اضافة الفحم المنشط الى الوسط

6- الشطف بمضادات الأكسدة واضافتها الى الوسط بمقدار 100-150 ملغم/لتر من حامضي الستريك والاسكوربيك ولمدة 5 دقائق.

7- استعمال أوساط غذائية سائلة بدل الصلبة وبسرع اهتزاز واطئة (حوالي100rpm) بحيث تحافظ على كيان الكالس داخل الوسط السائل.

8- تجنب تجريح الجزء النباتي أكثر من المطلوب.

9- نشوء الزروعات في الظلام لتجنب كافة تفاعلات الأكسدة الضوئية (**Photooxidation**). وخاصة في السبعة أيام الاولى ويفضل في ذات الوقت حضنها على درجة حرارة منخفضة حوالي 4م.

10-تعزيز الوسط بنترات البوتاسيوم (KNO_3) بدل نترات الأمونيوم وتقليل التركيز بشكل تدريجي.

11-عدم غلق أنابيب الزراعة اغلاق محكم والسماح للزروعات بالتبادل الغازي اذ يقلل ذلك من تراكم الأثيلين و CO_2.