مجلة جامعة الملك سعود، م١، العلوم الزراعية (١، ٢)، ص ص ١٠١ - ١١٨ (١٤٠٩هـ/١٩٨٩م)

دور زراعة الأنسجة في استنباط نباتات مقاومة للأمراض وأخرى خالية منها

عبدالغفار الحاج سعيد

قسم الإنتاج النباتي، كلية الزراعة، جامعة الملك سعود،

الرياض، المملكة العربية السعودية

ملخص البحث. تم استخدام تقنيات زراعة الخلايا في عزل سلالات خلوية ومن ثم نباتات كاملة ذات صفات وراثية مرغوبة، وقد استغلت في هذه الدراسات الاختلافات الوراثية المضمنه طبيعيًا في الخلايا الجسدية للنبات ـ والتي عادة ما تزداد خلال الزراعة الطويلة الأمد للخلايا في القوارير ـ في انتخاب وعزل خلايا مغايرة ذات صفات حقلية وبستانية مرغوبة، وقد نجح الباحثون في العلوم الزراعية في الحصول على نباتات خالية من الأمراض الفطرية، البكتيرية أو الفيروسية ومقاومة لها في مدة وجيزة من الزمن خاصة وأن طرق التربية التقليدية التي يمكن استخدامها للغرض ذاته صعبة ومرهقة لأنها مرتبطة بدورة حياة النبات والكائن مسبب المرض. بوساطة طرق زراعة الأنسجة يمكن المحافظة على أجزاء من النبات العائل ومسبب المرض في حالة نمو مستمر ونقية ولفترات غير محدودة كل في بيئته الزراعية المثلى وإكثارهما عند الرغبة في إجراء التجارب وتكرارها. ويمكن الحصول على نباتات خالية من الأمراض الفيروسية بوساطة زراعة أجزاء نباتية خاصة من نباتات يتم إكثارها خضريًا وذات صفات مرغوبة ومصابة بأمراض فيروسية.

تتعلق هذه المقالة بعرض ومناقشة استخدام الكدب وزراعة الخلايا المفردة في انتخاب أصناف نباتات مقاومة للأمراض وطرق زراعة الأنسجة الخاصة بإنتاج نباتات خالية من الأمراض الفيروسية.

مقدمة

تعتبر السميات التي تفرزها كثير من الفطريات التي تصيب النباتات من أهم عوامل تدمير وهلاك النبات المصاب وقد تكون هذه السميات متخصصة تفرزها فطريات وتصيب أصناف نباتات معينة دون سواها وينجو من تأثيرها عدد كبير من النباتات التي قد لا تكون

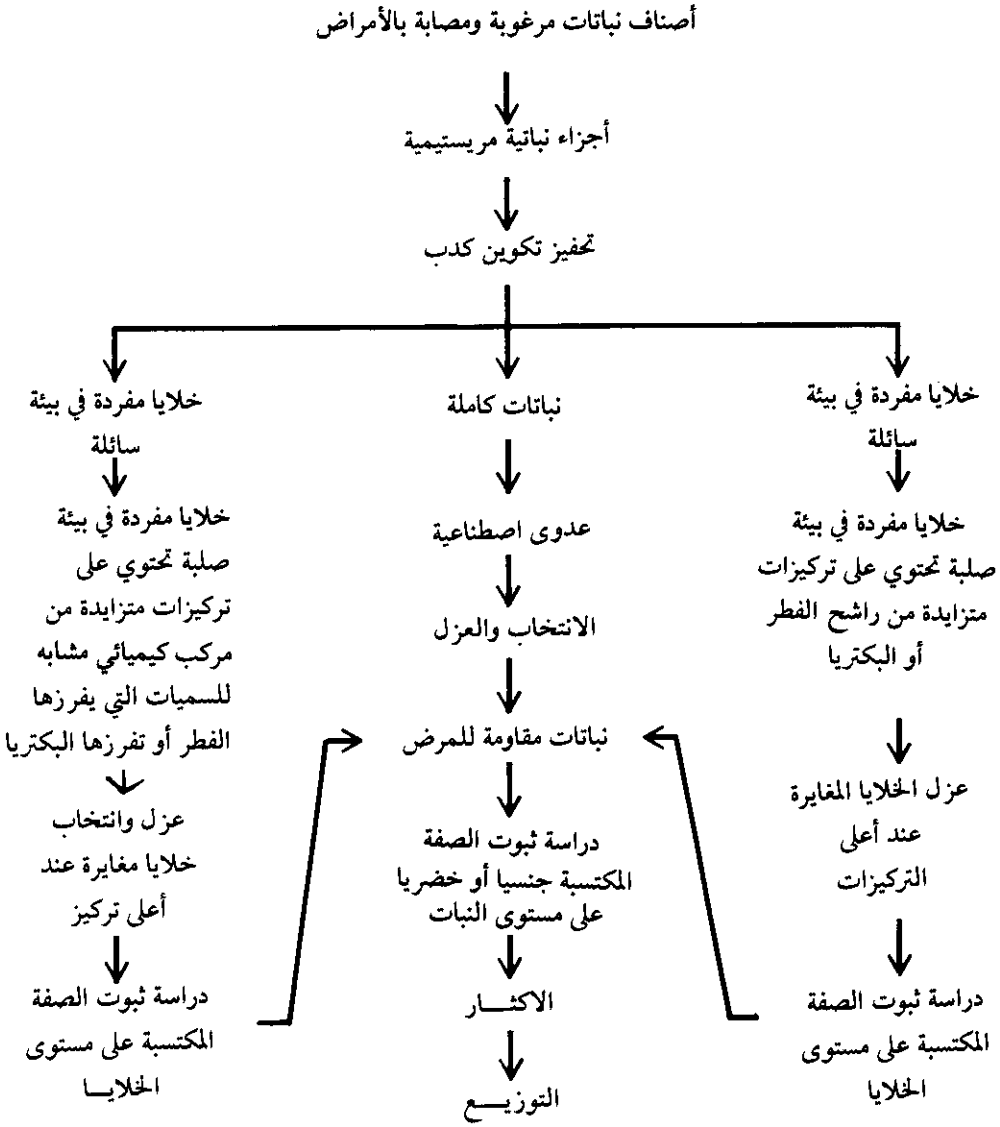
مصابة بالكائن الحي مفرز هذه السميات. تتسبب الأمراض الفطرية والبكتيرية والفيروسية في تدني كمية ونوعية الإنتاج الزراعي ولم تفلح المقاومة بالمواد الكيميائية كثيراً في كبح مفعولها نسبة لآثارها الجانبية أحياناً ولسرعة تكاثر هذه الكائنات وكثرة الاختلافات الوراثية بين أفرادها مما يسهل ويزيد من وجود طفرات مغايرة ومقاومة للمبيدات الكيميائية ولهذا كان لابد من البحث عن بدائل أخرى لمقاومة الأمراض النباتية وقد نالت الاجتهادات المتعلقة بتربية نباتات ذات مقاومة لمسببات الأمراض المختلفة اهتماماً خاصاً وساهمت طرق التربية التقليدية بالفعل في الحصول على نباتات مقاومة لبعض الأمراض [١] إلا أن عدم وجود أصول وراثية تحمل صفات مقاومة لعدد كبير من الأمراض وعدم نجاح نقل هذه الصفات في الحالات التقليدية التي وجدت فيها (نتيجة عدم التوافق بين حبوب اللقاح والمياسم وفشل الإخصاب وإجهاض الأجنة وفقدان صفات أخرى موجودة في النبات الأصل ومرغوبة حقلياً وبستانياً) حد كثيراً من استخدام طرق التربية التقليدية في الحصول على نباتات مقاومة للأمراض ولهذا كان لابد من البحث عن طرق فعالة تساعد في الحصول على نباتات مقاومة للأمراض ومحافظة على تكوينها الوراثي المرغوب.

وفي تطور حديث نجح العلماء في انتخاب نباتات ذات صفات مرغوبة من نباتات أحادية التضاعف تم الحصول عليها بوساطة تقنيات زراعة المتوك، حبوب اللقاح، المبايض أو البويضات في الأنابيب على أوساط غذائية مناسبة، وتمكن Foroughi- Wehr and Friedt [٢]، من عزل سلالة شعير مقاومة لمرض التبرقش الأصفر الفيروسي من نباتات أحادية التضاعف. غير أن طرق الحصول على نباتات أحادية التضاعف بوساطة زراعة الخلايا الجنسية مازالت محصورة في أنواع نباتات قليلة بالإضافة لوجود العديد من المعوقات التي حدت من استغلال هذه التقنية بصورة فعالة في هذا المجال.

حاول الباحثون في العلوم الزراعية حديثاً تطبيق زراعة الخلايا المفردة في الحصول على نباتات ذات صفات مرغوبة مثل تحمل بعض العوامل البيئية المجهدة ومقاومة الأمراض، وقد استغلت في هذه الدراسات الخلايا الجسدية للنبات نظراً لوجود اختلافات وراثية فيما بينها وبين النبات المصدر [٣]، وازدياد هذه الاختلافات الوراثية عند زراعة الخلايا الجسدية الناتجة من نسيج الكدب بمعزل عن النبات الأم في قوارير زجاجية [٤، ص ص.

٢٨٧-٢٩٥]، بوساطة زراعة الخلايا المفردة يمكن العزل والانتخاب من أكثر من مائة مليون خلية مزروعة في صحن (بتري) في سهولة ويسر وفي مدة وجيزة [٥]. إضافة للتحكم في ظروف نمو الخلايا بتحضينها في غرف خاصة خالية من الميكروبات وبمنأى عنها تؤمن طرق زراعة الخلايا دقة المراقبة والانتخاب واستمراريتها على مدار السنة وفي حيز مكاني صغير. وفي مجال جديد ومثير تمكن الباحثون من الحصول على هجن جسدية بوساطة تقنية «التهجين الجسدي» حيث تزال الجدر الخلوية للخلايا الجسدية بوساطة إنزيمات هاضمة تندمج بعد ذلك «الخلايا العارية» في بعضها البعض وبطريقة عشوائية تتكون هجن جسدية نتيجة لتداخل المكونات الوراثية في كل من الخلايا المندمجة وبهذا يمكن تخطي موانع الإخصاب وفشل تكوين الأجنة عند إجراء عمليات التضريب الجنسي بين الأنواع أو بين الأجناس للحصول على هجن. وقد تمكن Austin *et al*. [٦]. من نقل صفة مقاومة مرض تجعد ورقة البطاطس الفيروسي من بطاطس برية إلى البطاطس المستزرعة بوساطة «التهجين الجسدي» وقد فتحت تقنية «الخلايا العارية» آفاقًا جديدة في محاولات إدخال الشريط الوراثي أو جزء منه بعد عزله من نبات بري يتمتع مثلاً بصفة أو صفات مرغوبة في خلايا نبات آخر مستزرع ولكنه يفتقر لهذه الصفة أو الصفات حيث يتم اختلاط المكونات الوراثية بصورة عشوائية أيضًا في محاولات للحصول على هجن ذات صفات وراثية جديدة فيما سمى بتقنية «هندسة الوراثة» غير أن هاتين الطريقتين مازالتا في أطوارهما البحثية الأولية ونتيجة للبحوث المكثفة التي تجري في هذين المجالين في العديد من معاهد البحوث ومراكزه في جامعات متعددة يتوقع الكثير من الباحثين أن تثمر هذه الجهود في تقديم طرق سهلة وسريعة تمكن من التحكم في عملية اندماج الخلايا وتداخل المكونات الوراثية ونوعيتها وكميتها وتطوير طرق مضمونة للتعرف على الهجن الناتجة وعزلها.

معظم أنواع وأصناف النباتات المستزرعة التي يتم إكثارها عادة بطرق التكاثر الخضري التقليدية مصابة بالأمراض الفيروسية وشبيهاتها [٧] ولا توجد طريقة لعلاج هذه النباتات عند إصابتها خاصة وأن التعرف على الإصابة صعب في معظم الحالات ولا تظهر الأعراض إلا في مراحل متقدمة من الإصابة. إكثار هذه النباتات بوساطة أجزاء خضرية مصابة يساعد في نقل وانتشار المرض وفي النهاية يؤدي إلى موت النباتات المصابة وإنقراض



رسم توضيحي ١ . طرق الحصول على نباتات مقاومة للأمراض

الصنف أو الأصناف المرغوبة. وتستخدم طرق زراعة الأنسجة في الحصول على نباتات خالية من الأمراض الفيروسية وشبيهاتها من نباتات أصناف مصابة ومرغوبة تجاريًا وبستانيًا.

عزل خلايا مقاومة للأمراض

استخدمت طرق زراعة الخلايا في الحصول على سلالات خلوية مقاومة لعدة أمراض وتمكن الباحثون في هذا المجال من الحصول على نباتات كاملة في معظم الحالات وكانت الصفة المكتسبة صامدة وتم توريثها من جيل إلى آخر كتغايرات ثابتة. وقد طورت ثلاث طرق للحصول على نباتات مقاومة للأمراض تعتمد على الاختلافات الوراثية المضمنة في الخلايا الجسدية والتي يمكن زيادتها باستخدام المطفرات المختلفة (رسم توضيحي ١).

١ ـ طريقة الانتخاب والعزل المباشر

استغلت هنا الاختلافات الوراثية المضمنة في الخلايا الجسدية استغلالاً مباشرًا وذلك عن طريق تحفيز تكوين نسيج كدب من أصناف مرغوبة ولكنها مصابة بمرض معين وحساسة له، وبإجراء تحويرات في البيئة يتم الحصول على نباتات كاملة تنقل من الأنبوب وتزرع في غرف حضانة أو بيوت زجاجية وتجري عمليات العدوى الاصطناعية بمسبب المرض وتدرس إمكانية ثبوت الصفة في النباتات التي تكون أعراض المرض فيها سلبية. وقد استخدمت هذه الطريقة بنجاح في الحصول على نباتات قصب سكر مقاومة لمرض التبرقش الفيروسي [٨]، مرض فيجي الفيروسي [٩] ومرض نقطة العين الفطري [١٠]، ومرض البياض الزغبي الفطري [٩-١١].

ويعتبر قصب السكر من أهم النباتات التي استخدمت فيها طرق زراعة الأنسجة بنجاح كبير في الحصول على نباتات مقاومة لأهم أمراضه الفيروسية والفطرية بوساطة طرق الانتخاب والعزل المباشر.

٢ ـ الانتخاب عند تركيزات قاتلة من راشح الفطر أو البكتريا

تعتمد هذه الطريقة على إضافة السميات التي تفرزها بعض مسببات الأمراض عند غزوها للنبات. وهنالك مجموعة من الأمراض يمكن استخدام هذه الطريقة لعزل خلايا مقاومة لها تشمل تلك الأمراض التي يتم فيها إفراز سميات خاصة بالنبات المصاب (العائل)

وتكـون السبب الـرئيس في هلاكـه، وتحمـل النبات لتركيزات مرتفعة منها تعني مقاومته للمرض، ومن هذه الأمراض مرض اللفحة المبكرة في الطماطم والبطاطس والذي يسببه الفطر (*Alternaria solani*).

يتم تحديد أفضل الطرق لاستخلاص سميات الفطر والبكتريا من المزارع التي تنمو فيها والتعرف على خاصيتها بإضافة تركيزات محددة من المستخلص إلى نباتات كاملة وإلى بيئة زراعية تنمو فيها خلاياها المفردة لتحديد التركيز الذي يسبب أعراض الإصابة بالمرض.

تنقل خلايا النبات المفردة من بيئة نموها المثلى وهى في طور النمو النشط وتزرع في أطباق (بترى) بها بيئة النمو المثلى لهذه الخلايا مضافًا إليها تركيزات متزايدة من مستخلص مزارع الفطر أو البكتريا ومتصلبة بوساطة (الآجار). يتم عزل الخلايا التي تنمو وتتكاثر في المعـاملة التي تحتـوي على أعـلى تركيز من المستخلص ويكرر نقلها إلى البيئة نفسها بعد تحضيرها قبل الزراعة للتأكد من ثبوت صفة المقاومة للمستخلص.

تزرع الخلايا بعد ذلك في بيئة نموها المثلى خالية من المستخلص ويكرر نقلها لعدة مرات ثم تزرع مرة أخرى في أطباق (بترى) على بيئة النمو المثلى متصلبة (بالآجار) ومضافًا إليهـا المستخلص بالتركيز الذي تم فيه الانتخاب والعزل أول مرة. ينقل نسيج الكدب الذي تكون بعد ذلك إلى بيئة تحفز تكوين نباتات كاملة وتجري عمليات التأكد من انتقال صفة المقاومة إليها ومن ثم طرق توارث الصفة المكتسبة جنسيًا بعد الحصول على البذور من هذه النباتات في البيوت المحمية وفي الحقل.

وقد تمكن الباحثون من الحصول على نباتات كاملة من الخلايا المغايرة التي تم انتخابها وعزلها وكانت الصفات المكتسبة والخاصة بمقاومة الأمراض صامدة وتنتقل من جيل إلى آخر كتغايرات مكونة بصورة ثابتة [١٢-١٤، ١٥، ص ص. ٢٣٣-٢٣٧، ١٧]، (جدول ١).

في بعض الأحيان يقترن عزل صفة أو أكثر في الخلايا المنتخبة وتنتقل هذه الصفة مع الصفة المرغوبة إلى النباتات المنتخبة وقد لاتكون هذه الصفة أو الصفات مرغوبة [٢٨].

جدول ١ . نباتات تحمل صفة المقاومة لبعض الأمراض أو سموم مسبباتها تم الحصول عليها بوساطة زراعة الخلايا المفردة أو نسيج الكدب .

صفة المقاومة المكتسبة	النبـــات	المرجـــع
مرض التبرقش الفيروسي	قصب السكر *Saccharum officinarum*	Coleman [٨]
مرض تبقع الأوراق البكتيري	التبغ *Nicotiana tabacum*	Carlson [١٨]
سميات مرضية مختارة	الذرة الشامية *Zea mays*	Gengenbach *et al.* [١٤]
مرض تبرقش الدخان الفيروسي	الطماطم *Lycopersicon esculentum*	Barden *et al.* [١٩]
اللفحة المتأخرة	الكرافس *Apium graveolens*	Donovan *et. al.* [٢٠]
سم الفطر *Helminthosporium vixtoriae*	الشوفان *Avern sativa*	Rines [٢١]
اللفحة المتأخرة	البطاطس *Solanum tuberosum*	Behnke [١٧]
اللفحة المبكرة	الطماطم *L . esculentum*	Shepherd and Sohndal [٢٢]
مرض النار المتوحشة	التبغ N . *tabacum*	Chaleff and Carlson [٢٣ ، ص ص ٣٥١ - ٣٦٣]
مرض فيجي الفيروسي	قصب السكر S . *officinarum*	Krishnamurthi and Tlaskal [٩]
سميات الفطـــر *Fusarium*	القرنفـــل *Dianthus sp.*	Buiatti *et al.* [٢٤]
سميات الفطـــر *Fusarium*	البرســـيم *Medicago sativa*	Hartmann *et al.* [٢٥]
مرض البقعة البنية الفطري	الأرز *Oryza sative*	Ling *et al.* [٢٦]
سميات الفطـــر *Pseudomonas*	التبغ *N. tabacum*	Thanutong *et al.* [٢٧]
وسميات الفطـــر *Alternaria*	التبغ *N. tabacum*	Thanutong *et al.* [٢٧]

٣ ـ طريقة كارلسن

أما هذه الطريقة فقد استخدمها Carlson [١٨] بعد أن تعرف على طبيعة السم أو السميات التي تفرزها البكتريا مسببة مرض النار المتوحشة في نبات التبغ وتمكن من عزل خلايا مغايرة بعد زرعها في بيئة غذائية تحتوي على تركيزات متزايدة من المركب الكيميائي «ميثايونين سلفوكسيمين» (MSO) الذي يعتقد بأنه مماثل من حيث التركيب للسم الذي تفرزه البكتريا مسببة المرض [٢٩]. تم تعريض الخلايا المفردة للمطفر «ايثايل ميثين سلفونيت» (EMS) قبل زراعتها على البيئة التي تحتوي على تركيزات الـ (MSO). وقد بينت الدراسة انتقال صفة المقاومة للنباتات المنتجة وثبوتها وتوارثها عبر الأجيال. كما تبين وجود تركيزات عالية من الحمض الأميني «ميثايونين» في النباتات المنتجة. وبما أن الـ (MSO) مماثل للميثايونين من حيث التركيب الكيميائي فقد برهنت الأبحاث على إمكانية زيادة تركيز أى من الأحماض الأمينية في الخلايا النباتية عن طريق زراعتها في بيئات تحتوي على تركيزات متزايدة من مركبات كيميائية مماثلة لها في التركيب [٣٠] وعزل الخلايا التي تستطيع النمو والتكاثر في أعلى تركيز من هذه المركبات مما حفز وشجع الباحثين على محاولة زيادة كمية ونوعية المحتوى البروتيني في نباتات المحاصيل.

أوضحت دراسات Diner *et al.* [٣١]، على الأجنة المفصولة أن صفة مقاومة الأمراض لاتعتمد على درجة تكشف النبات المصاب ولهذا يمكن أن تظهر على مستوى الخلية. ودلت الدراسات الوراثية التي أجريت على نباتات تم الحصول عليها من خلايا مغايرة انتخبت وعزلت من بيئات زراعية تحتوي على تركيزات مرتفعة من سميات الفطريات أو البكتريا مسببة الأمراض النباتية وكذلك الدراسات التي أجريت على ذرياتها على ثبوت صفة المقاومة للتركيزات القاتلة من السميات وقبولها للتوارث الطبيعي وصمودها من جيل إلى آخر، كما أكدت الأبحاث انتقال صفة مقاومة الخلايا المغايرة للتركيزات المرتفعة من سميات مسببات الأمراض النباتية إلى مقاومة للكائن مسبب المرض في النباتات المنتجة وقد عزى Rines [٢١]، اكتساب المقاومة للأمراض بوساطة زراعة الخلايا المفردة إلى الإرتباطات والاختلافات التي تحدث بين الخلايا الجسدية، ولا يعرف بوجه التحديد طبيعة التغييرات الوراثية التي تتدخل في إضفاء صفة المقاومة ولا مدى إمكانية تطبيق أى من هذه

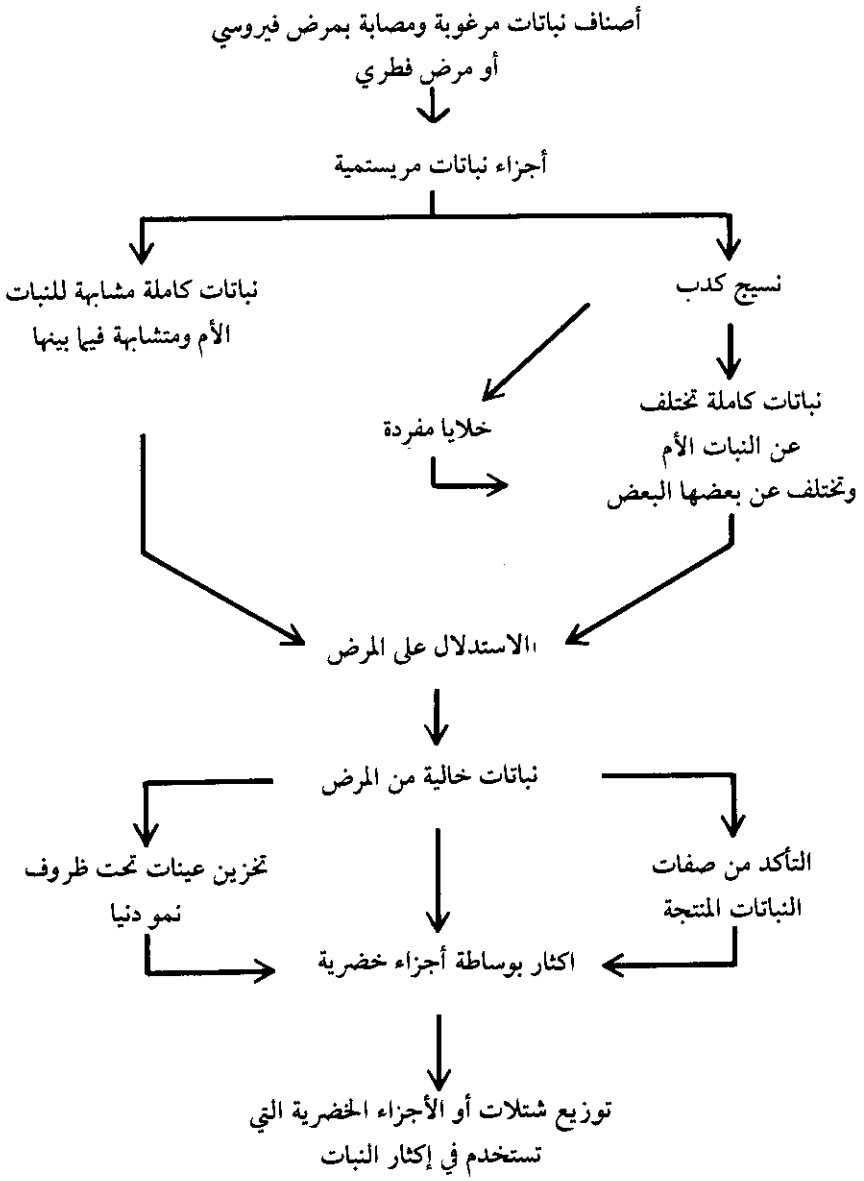
الطرق على كل النباتات المستزرعة وما إذا كانت هذه التغيرات ناتجة عن طريقة الزراعة أم أنها كامنة في الخلايا الجسدية. غير أن هذا لايمنع من استغلال هذه الاختلافات الوراثية في تحسين التركيب الوراثي للنباتات المستزرعة.

إنتاج نباتات خالية من الأمراض

يعتبر Morel and Martin عن Murashige [٧]، أول من تحصل على سلالة من النباتات خالية من الأمراض الفيروسية بوساطة فصل قمة الساق النامية من نبات مصاب وزراعتها على بيئة غذائية. وقد تعددت التقارير البحثية عن نجاح استخدام طريقة زراعة أجزاء نباتية مختلفة في الحصول على نباتات خالية من الأمراض الفيروسية (انظر الرسم التوضيحي ٢).

تعتمد طريقة زراعة الأنسجة في الحصول على نباتات خالية من الأمراض الفيروسية على التفاوت في درجة الإصابة بالأمراض بين الأجزاء النباتية المختلفة للنبات المصاب وهناك بعض الأجزاء النباتية التي برهنت الدراسات على خلوها من الفيروسات وتشمل هذه الأجزاء قمم السوق [٣٢، ص ص. ٥٩٨-٦١٥]، قمم الجذور [٣٣]، قمم الأجزاء الزهرية [٣٤] النامية، خلايا مفردة [٣٥]، نسيج الكدب [٣٦] ونسيج النيوسيلا [٣٧]. تؤدي زراعة قمة الساق، الجذور أو نسيج النيوسيلا إلى إنتاج نباتات مشابهة للنبات الأم ومتشابهة فيما بينها وقد بينت دراسات Nauer et al [٣٨]، عدم حدوث تغايرات بين النباتات المنتجة وبين النبات الأم في الصفات الوراثية، غير أن النباتات التي يتم الحصول عليها بوساطة زراعة الكدب والخلايا المفردة قد تختلف فيما بينها وعن النبات الأم وراثيًا.

يعزى التفاوت في درجة الإصابة بالأمراض بين الأجزاء النباتية المختلفة للنبات المصاب إلى عدم اكتمال تكشف الأنسجة الوعائية الناقلة في قمم السوق والجذور وعدم وجودها في الخلية ونسيج النيوسيلا وعدم انتظامها في نسيج الكدب، وتحتاج الفيروسات لهذه الأنسجة في تحركها لغزو أجزاء جديدة من النبات المصاب وكلما كان الجزء المفصول من قمة الساق أو الجذر صغيرًا كلما زادت فرص خلوه من الفيروسات وهناك بعض المعاملات التي تجرى للنبات المصاب قبل فصل قمم السوق توقف نشاط الفيروسات وتحد من تكاثرها



رسم توضيحي ٢. طرق انتاج نباتات خالية من الأمراض الفيروسية وبعض الأمراض الفطرية

ووصـولهـا للقمم النامية ومن هذه المعاملات تعرض النبات إلى درجة حرارة عالية نسبيًا (٣٥°م - ٤٠°م) لتخميل ومنع تكاثر وانتشار الفيروسات [٣٩]، كما وأن إنماء النبات في ظلام دائم أو رشـه بالجـبريلين يؤدي إلى سرعـة استـطالـة السـوق وابتعـاد قممهـا عن الفيروسات. وقد وجد Oshima and Livingstone [٤٠]، زيادة معنوية في نباتات البطاطس خالية من فيروس «س» عند زراعة قمم سوق نباتات مصابة بالفيروس على بيئة أولية تحتوي على المـركب الكيميائي «مـالاكايت قرين»، كما تحصل Quak [٤١] على تأثير إيجابي في التخلص من ذات الفيروس بإضافة الأوكسين ٢، ٤ ثنائي الكلورفينوكسى حامض الخليك إلى بيئـة الزراعة وقد استخدمت بعض مضادات الفيروسات مثل «الفيرازول»، «ازاقونين» و«ثايو يوراسيل» وأعطت نتائج متضاربة [٧، ٤٢].

تؤمن طرق زراعة الأجزاء النباتية المفصولة على بيئات معقمة خلوها من مسببات الأمـراض الكبرى (الفطريات اختيارية التطفل والبكتريا) حيث يتم تعقيم هذه الأجزاء بطرق تحد من نموها وتمنع تكاثرها، وبعد الزراعة على البيئة نستبعد كل الزراعات التي يتبـين تلوثهـا ومن ثم تكـون النبـاتـات المنتجة خالية من الأمراض الفطرية والبكتيرية، وللحصول على نباتات خالية من الأمراض الفيروسية وبعض الأمراض الفطرية تفصل قمة الساق بسمك ١ر٠ - ٠ر١مم وتعقم وتزرع على بيئة غذائية معقمة وعادة ما يتم الحصول على نبتة واحدة فقط من كل قمة ساق. وتجري عمليات التطعيم الدقيق داخل الأنبوب بالنسبة للأشجار التي يتم إكثارها خضريًا مثل الحمضيات حيث يرشق الطعم (قمة الساق) تحت قلف الأصل المزروع على بيئة غذائية معقمة ومن ثم يتم تخطي طور النمو الشاب بالإضافة للحصول على نباتات خالية من الأمراض الفيروسية [٤٣].

الحصول على نباتات خالية من الأمراض بوساطة زراعة قمة الساق القمية لا يعني مقاومة هذه النباتات للأمراض أى أن طريقة زراعة قمة الساق لاتمنح النباتات المنتجة صفة مقاومة الأمراض وتكون معرضة للإصابة عند غزو الفيروسات أو الفطريات إجبارية التطفل لها وتكمن أهمية هذه الطريقة في إنتاج أمهات تكون مصدرًا للأجزاء الخضرية المختلفة التي تستخدم في إكثار نباتات خالية من الأمراض الفيروسية والفطرية.

وقد استخدمت طريقة زراعة قمة الساق في الحصول على نباتات خالية من الأمراض الفيروسية لعدة أنواع من النباتات خاصة تلك التي عادة ما يتم إكثارها بوساطة الطرق الخضرية (جدول ٢).

جدول رقم ٢. الأمراض الفيروسية التي تم التخلص منها في بعض نباتات المحاصيل المهمة بواسطة زراعة قمة الساق النامية.

المرض المبعد	النبات	المرجع
فيروسات	**الهليون**	Yang and Clore [٤٤]
أ، ب، جـ	*Asparagus officinalis*	
التبرقش الفيروسي	الموز	Gupta [٤٥]
	Musa Spp.	
التبرقش	الكثافا	Kaiser and Teemba [٤٦]
والخطوط البنية	*Manihot esculentum*	
التبرقش	القرنبيط	Walkey *et. al.* [٣٤]
أو مرض تبرقش اللفت	*Brassica oleracea*	
مجموعة أمراض	البطاطس	Mori [٤٧]
فيروسية	*Solanum tuberosum*	
التبرقش الفيروسي	قصب السكر	Lee [٤٨]
	Saccharum officinarum	
مجموعة	الفراولة	Vine [٤٩]
أمراض فيروسية	*Fragaria vesca*	
فيروسية	الكثافا	Kartha and Gamborg [٥٠]
	M. esculentum	
مجموعة أمراض	أصناف وأنواع مختلفة من	Murashige *et. al.* [٤٣]
فيروسية وشبه فيروسية	الحمضيات *Citrus* spp.	
مجموعة أمراض	البطاطا الحلوة	Mori (٤٧)
فيروسية	*Ipomea batatas*	

حاول Heinz *et al.* [٥١، ص ص. ٣-١٧] استنباط أصناف من قصب السكر مقاومة لمرض التفحم الذي يسببه الفطر *Ustilago scitamina* الإجباري التطفل وذلك بوساطة طرق زراعة الخلايا والأنسجة النباتية إلا أن محاولتهم لم تنجح وحديثًا تمكن Lee

[٤٨] من الحصـول على نباتات من قصب السكر خالية من بعض الأمراض الفيروسية بالإضافة إلى الخلو من مرض التفحم الفطري وذلك عن طريق زراعة قمة الساق.

اقترح Murashige [٥٢، ص ص. ١٥-٢٦، ٥١٨-٥٢٤] بأن يحدد المرض الذي يتم التخلص منه بعد إجراء عمليات الاستدلال الخاصة بمسببه وبأن تذكر الأمراض التي تم الاستدلال على عدم وجودها في النباتات المنتجة فقط فيما سمى «بالخلو من مسبب المرض المحدد» بدلا من استخدام مصطلح «خالية من الأمراض الفيروسية» والذي يوحي بالخلو من كل الأمراض الفيروسية.

المـــراجـع

[١] **Barksdal, T.H.** and **Stoner, A. K.** "A Study of the Inheritance of Tomato to Early Blight Disease". *Plant Disease Reporter,* **61** (1977), 63-65.

[٢] **Foroughi-Wehr, B.** and **Friedt, W.** "Rapid Production of Recombinant Barely Yellow Mosiac Virus Resistant *Hordeum vulgare* Lines by Anther Culture". *Theor Appl. Genet.*, **67** (1984), 377-382.

[٣] **D'Amato, F.** "Polyploidy in the Differentiation and Function of Plant Tissues". *Caryologia,* **4** (1952), 311-358.

[٤] **D'Amato, F.** Chromosome Number Variation in Cultured Cells and Regnerated Plants. In: **T.A. Thorpe** (ed.), *Frontiers of Plant Tissue Culture.* Calgary, Canada: The International Association of Plant Tissue Culture, 1978.

[٥] **Smith, H.H.** "Model Systems for Somatic Cell Plant Genetics". *BioScience,* **24** (1974), 269-276.

[٦] **Austin, S., Baer, M.A.** and **Helgeson, J.P.** "Transfer of Resistance to Potato Leaf Roll Virus from *Solanum brevidens* into *Solanum Tuberosum* by Somatic Fusion". *Plant Science,* **39**,No. 1 (1985), 75-81.

[٧] **Murashige, T.** *Plant Cell and Organ Culture Methods in the Establishment of Pathogen.* Ithaca, New York: Free Stock. A. W. Dimock Lectures, Cornell. University, 1974.

[٨] **Coleman, R.E.** "New Plants Produced from Callus Tissue Culture". Sugarcane Research, Report, ARS, (1970), 38.

[٩] **Krishnamurthi, M.** and **Tlaskal, J.** "Fiji Disease Resistance *Saccharum officinarum* var. Pindar Subclones from Tissue Culture." *Proc. Int. Soc. Sugarcane Technol,* **15** (1974), 130-137.

[١٠] **Nickell, L.G.** "Crop Improvement in Sugarcane: Studies Using *in vitro* Methods". *Crop Science,* **17** (1977), 717-719.

[١١] **Liu, M.C.** and **Chen, W.H.** "Performance and Yield Potential of Sugarcane Callus Derived Lines. *Euphytica.*, **27** (1978), 273-283.

[١٢] **Gengenbach, B.G.** and **Green, C.E.** "Selection of T-Cytoplasm Maize Callus Cultures Resistant to *Helminthosporium maydis race* T-pathotoxin". *Crop Science,* **15** (1975), 645-649.

[١٣] **Matern, U., Strobel, G.** and **Shepard, J.** "Reaction of Phytotoxins in a Potato Population Derived from Mesophyll Protoplasts". *Proc. Natl Acad. Sci.,* U.S.A. **75** (1978), 4935-4939.

[١٤] **Gengenbach, B.G., Green, C.E.** and **Donovan, C.M.** "Inheritance of Selected Pathotoxin Resistance in Maize Plants Regenerated from Cell Cultures". *Proc. Natl. Acad. Sci.,* U.S.A. **74,**No. 11 (1977), 5113-5117.

[١٥] **Brettell, R., Ingram, D.S.** and **Thomas, E.** Selection of Maize Tissue Cultures Resistant to Drechslera (*Helminthosporium maydis*) T-toxin. In: **D.S. Ingram** and **J.P. Helgeson,** (eds.), *Tissue Culture Methods for Plant Pathologists.* Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1980a.

[١٦] **Behnke, M.** "Selection of Potato Callus for Resistance to Culture Filtrates of *Phytophthora Infestans* and Regeneration of Resistant Plants". *Theor. Appl. Genet.,* **55** (1979), 69-71.

[١٧] **Behnke, M.** "Selection of Diploid Potato Callus for Resistance to the Culture Filtrate of *Fusarium oxysporum", Z. Pflazenzuchtg,* **85** (1980), 254-258.

[١٨] **Carlson, P.S.** "Methionine Sulfoximine-Resistant Mutants of Tobacco". *Science,* **180** (1973), 1366-1368.

[١٩] **Barden, K.A., Smith, S.S.** and **Murakishi, H.H.** "Regeneration and Screening of Tomato Somaclones for Resistance to Tobacco Mosiac Virus". *Plant Science,* **45** (1986), 209-213.

[٢٠] **Donovan, A.M., Collin, H.A.** and **Isaac, S.** "Selection for Resistance to Late Blight in Celery." *Abstr. 6th Int. Congr.* U.S.A. Minnesota: Plant Tissue and Cell Culture, (1984).

[٢١] **Rines, H.W.** "Origin of Tissue Culture Seclected Resistance to *Helminthospoeium victoriae* toxin in heterozygous susceptible oats." *Abst: 6th Int. Congr.* Plant Tissue and Cell Culture, Minnesota, U.S.A. (1986).

[٢٢] **Shepherd, S.L.K.** and **Sohndal, M.R.** "Selection for Early Blight Disease Resistance in Tomato: Use of Tissue Culture with *Alternaria solani* culture filtrate." *Abstr. 6th Int.* Congr. Plant Tissue and Cell Culture, Minnesota, U.S.A. (1986).

[٢٣] **Chaleff, R.S.** and **Carlson, P.S.** *In vitro* Selection for Mutants of Higher Plants. In: **L. Ledoux** *Genetic Manipulations with Plant Material,* New York and London: Plenum Press, 1975.

[٢٤] **Buiatti, M., Scala, A., Beltini, P., Nascari, G. Morpurgo, R., Bogani, P., Pellegrini, F.** and **Venturo, R.** "Correlations between *in vitro* Resistance to Fusarium and in vitro Response to Fungal Elicitors and Toxic Substances in Carnation". *Theor. Appl. Genet.*, **70** (1985), 42-47.

[٢٥] **Hartmann, C.L., McCoy, T.J.** and **Knons, T.R.** "Selection of Alfalfa (*Medicago sativa*) Cell Lines and Regneration of Plants Resistant to the Toxin (s) Produced by *Fusarium oxysporum* F. sp. *medicaginis*". *Pl. Sci. Lett.*, **34** (1984), 183-194.

[٢٦] **Ling, D.H., Vidhyaseharan, P., Borromeo, E.S., Zapata, F.J.** and **Mew, T.W.** "*In vitro* Screening of Rice Germplasm for Resistance to Brown Spot disease Using Phytotoxin". *Theor. Appl. Genet.*, **71** (1985), 133-135.

[٢٧] **Thanutong, P., Furusawa, I.** and **Yamamoto, M.** "Resistant Tobacco Plants from Protoplast Derived Calluses Selected for Their Resistance to *Pseudomonas* and *Alternaria* Toxins". *Theor. Appl. Genet.*, **66** (1983), 209-215.

[٢٨] **Brettell, R.I.S., Thomas, E.** and **Ingram, D.S.** "Reversion of Texas Male-sterile Cytoplasm Maize in Culture to Give Fertile, T-toxin Resistant Plants". *Theor. Appl. Genet.*, **58** (1980b), 55-58.

[٢٩] **Braun, A.C.** "A Study on the Mode of Action of the Wildfire Toxin". *Phytopathology*, **45** (1955), 659-664.

[٣٠] **Widholm, J.M.** "Selection and Characterization of Amino Acid Analog Resistant Plant Cell Cultures". *Crop Sci.*, **17** (1977), 597-600.

[٣١] **Diner, A.M., Mott, R.L.** and **Amerson, H.V.** "Cultured Cells of White Pine Show Genetic Resistance to Axininc Blister Rust Hyphae". *Science*, **234** (1984), 407-408.

[٣٢] **Quak, F.** Meristem Culture and Virus-free Plants. In: **J. Reinert** and **Y.P.S. Bajaj** (eds.), *Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Berlin: Springer-Verlag, 1977.

[٣٣] **Bajaj, Y.P.S.** and **Dionne, L.A.** "Virus X Free Roots from Infected Potato Plants". *Am. Potato J.*, **43** (1966), 384.

[٣٤] **Walkey, D.G.A., Cooper, V.C.** and **Crisp. P.** "The Production of Virus-Free Cauliflowers by Tissue Culture". *J. Hortic. Sci.*, **49** (1974), 273-275.

[٣٥] **Chandra, N.** and **Hildebrandt, A.C.** "Differentiation of plants from tobacco mosaic Virus Inclusion-Bearing and Inclusion-Free Single Tobacco Cells". *Virology.*, **31** (1967), 414-421.

[٣٦] **Hansen, J.** and **Hildebrandt, A. C.** "The Distribution of Tobacco Mosiac Virus in Plant Callus Cultures". *Virology*, **28** (1966), 15-21.

[٣٧] **Bitters, W.P., Murashige, T., Rangan, T.S.** and **Nauer, E.** "Investigations on Establishing Virus-Free Citrus Plants through Tissue Culture". **W.C. Price** (ed.) *Proc. 5th. Conf. Intl. Org.* Citurs Virologists, (1972), 267-271.

[٣٨] **Nauer, E.M., Roistacher, C.N., Carson, T.L.** and **Murashige, T. Invitro** "Shoot-Tip Grating to Eliminate Citrus Viruses and Virus-Like Pathogens Produces Uniform Budlines." *HortScience.*, **18**,No. 3 (1983), 308-309.

[٣٩] **Houten, J.G., Quak, F.** and **Van der Meer, F.A.** "Heat Treatment and Meristem Culture for the Production of Virus-Free Plant Material". *Neth. J. Plant Pathol.*, **74** (1968), 17-24.

[٤٠] **Oshima, N.** and **Livingstone, C.H.** "The Effects of Antiviral Chemicals on Potato Virus X-I. *Amer". Potato J.*, **38** (1961), 294-299.

[٤١] **Quak, F.** "Heat Treatment and Substances Inhibiting Virus Multiplication in Meristem Culture to Obtain Virus-Free Plants". *Adv. Hort. Sci.*,**1** (1961), 144-148.

[٤٢] **Vasti, S.M.** "Effect of Antiviral Chemicals on Production of Virus X-free Potato Tubers". *Pakistan J. Bot.*, **5** (1973), 139-142.

[٤٣] **Murashige, T., Bitters, W.P., Rangan, T.S., Nauer, E.M., Roistacher, C.N.** and **Holliday, P.B.** "A Technique of Shoot Apex Grafting and Its Utilization Towardes Recovering virus-free *Citrus clones*". *HortScience*, **7** (1972), 118-119.

[٤٤] **Yang, H.J.** and **Clore, W.J.** "Obtaining Virus-Free Plants of *Asparagus officinalis* L. by Culturing Shoot tips and Apical Meristems. *HortScience*, **11** (1976), 474-475.

[٤٥] **Gupta, P.P.** "Eradication of Mosaic Disease and Rapid Clonal Multiplication of Bananas and Plantains through Meristem Tip Culture". *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, **6**,No. 1 (1986), 33-39.

[٤٦] **Kaiser, J. A.** and **Teemba, L.R.** "Use of Tissue Culture and Thermotherapy to Free East African Cassava Cultivars of African Cassava Mosaic and Cassava Brown Streak Diseases". Plant Disease Reporter, **63** (1979), 780-784.

[٤٧] **Mori, K.** "Production of Virus-Free Plants by Means of Meristem Culture". *Japan Agric-Res. Quart.*, **6** (1971), 1-7.

[٤٨] **Lee, T.S.G.** "Producing Healthy Sugarcane (*Saccharum Spp.*) Seedstalks by the Tissue Culture Method." *Abstr. 6th Int. Congr.* Plant Tissue and *Cell Culture,* Minnesota, U.S.A. (1986).

[٤٩] **Vine, S.J.** "Improved Culture of Apical Tissues for Production of Virus-free Strawberries". *J. Hort. Sci.*, **43** (1968), 293-297.

[٥٠] **Kartha, K.K.** and **Gamborg, O.L.** "Elimination of Cassava Mosaic Disease by Meristem Culture". *Phytopathology,* **65** (1975), 826-828.

[٥١] **Heinz, D.J., Krishnamurthi, M., Nickell, L.G.** and **Maretzki, A.** I. Cell tissue and Organ Culture in Sugarcane Improvement. In: **J. Reinert** and **Y.P.S. Bajaj** (eds), *Plant Cell, Tissue and Organ Culture,* New York: Springer-Verlag, 1977.

[٥٢] **Murashige, T.** The Impact of Plant Tissue Culture on Agriculture. In: **T.A. Thorpe** (ed.), *Frontiers of Plant Tissue Culture.* Alberta: Canada, Int. Assoc. Plant Tissue Culture University of Calgary, 1978.

The Role of Tissue Culture in Selecting Plants Resistant to and Plants Free from Diseases

Abdel Gaffar Elhag Said
Department of Plant Production, College of Agriculture
King Saud University, Riyadh, Saudi Arabia

Abstract. Cell culture techniques have been used for selecting cell lines and consequently whole plants with desirable agronomic traits. Somaclonal variations, which usually increase under long-term *in vitro* conditions, have been exploited successfully for selecting and isolating variant cells tolerant to stress conditions. Plants resistant to fungal, bacterial or viral diseases have been developed in a short period of time. Conventional breeding methods usually used for achieving such goals are known to be complex and laborious, because they are associated with the life cycle of the host plant and the causal agent. In tissue culture the host plant and the causal organism can be kept growing indefinitely in continuous culture separately under axenic conditions. Propagation of each can be carried out for experimentation and replication as needed.

Disease-Free plants have also been produced by culturing specific explants, excised from diseased vegetatively propagated desired cultivars.

This paper is reviewing and discussing the uses of callus and cell culture for selecting plants resistant to diseases and the techniques of tissue culture used for producing disease-free plants.