

مفهوم زراعة الأنسجة النباتية

يقصد بها نمو خلايا أو أنسجة أو أجزاء نباتية مختلفة في أواني زجاجية وأحياناً بلاستيكية تحتوي على بيئات مغذية صناعية تتكون من العناصر الغذائية التي يحتاجها النبات ويتم ذلك تحت ظروف كاملة التعقيم.



نبذة عن تاريخ زراعة الأنسجة النباتية:

هنا تجدر الإشارة إلى التطور التاريخي لعلم زراعة الأنسجة وبعض العلماء الذين ساهموا في تقدم هذا العلم: يُعتَبَر عامي ١٨٣٨ و ١٨٣٩ هما بداية التاريخ الحقيقي لزراعة الأنسجة النباتية حينما وضع كلاً من العالمان (Shleiden and Schwann) وبصورة مستقلة أسس النظرية الخلوية مع التركيز على طبيعة الخلايا وقدرتها على النمو بعد فصلها من النبات الأم. ولقد توصل العالمان إلى نظرية أُطلق عليها القدرة الكامنة للخلية (Cell Totipotency) وهي مقدرة أي خلية نباتية حية على تكوين نبات كامل، وكانت هذه النظرية أساس زراعة الأنسجة النباتية.

- ✓ عام ١٩٠٢ قام العالم (Haberlandt) بأول محاولة في زراعة الأنسجة وتحديد مشاكلها.
- ✓ عام ١٩٠٤ قام العالم (Hanging) بزراعة الأجنة لنباتات من العائلة الصليبية.
- ✓ عام ١٩٢٢ نجح العالم (Robbins) في الحصول على مزارع أنسجة لقمم الجذور النامية.
- ✓ عام ١٩٣٣ نجح العلماء (Gauthier, Nobcourt and White) في الحصول على كَأْس مستمر في النمو.
- ✓ عام ١٩٣٤ نجح العالم (White) في الحصول على مزارع أنسجة لجذور نباتات الطماطم.
- ✓ عام ١٩٤٤ قام العالم (Skoog) بدراسة تَكشُّف البراعم العرضيه للدخان معملياً.
- ✓ عام ١٩٤٥ قام العالم (Loo) بزراعة القمة النامية لنبات الإسبرجس.
- ✓ عام ١٩٤٦ حصل العالم (Ball) على أول نبات كامل من زراعة القمة النامية.
- ✓ عام ١٩٤٨ نجح العالمان (Skoog and Tsui) في تكوين السيقان والجذور في مزارع أنسجة نبات الدخان بتعديل نسبة الأوكسين إلى الأدينين في البيئة المغذية.
- ✓ عام ١٩٥٢ نجح العالمان (Morel and Martin) في الحصول على نباتات داليا خالية من الأمراض الفيروسية بزراعة القمم المرستيمية.

- ✓ عام ١٩٥٤ نجح العالم (Muir et al.) في الحصول على أول نبات من زراعة خلية مفردة.
 - ✓ عام ١٩٥٥ إكتشف العالم (Miller et al.) هرمون النمو الكينيتين كهرمون مهم لإنقسام الخلايا النباتية.
 - ✓ عام ١٩٥٧ إكتشف العالمان (Skoog and Miller) دور الأوكسينات والسيبتوكينينات في تنظيم تكشُّف البراعم والجذور.
 - ✓ عام ١٩٦٠ قم العالم (Morel) بإكثار الأوركيد بالقلم المرستيمية.
 - ✓ عام ١٩٦٢ أعلن العالمان (Murashige and Skoog) عن تركيب البيئة المُعدَّية (MS) والتي تُعْتَبَر أشهر البيئات المستخدمة في زراعة الأنسجة النباتية.
 - ✓ عام ١٩٧٠ قام العالم (Power et al.) بأول محاولة ناجحة لدمج البروتوبلاست.
 - ✓ عام ١٩٧٨ نجح العالم (Melcher et al.) في إجراء تهجين جسدي بين الطماطم والبطاطس.
 - ✓ عام ١٩٨١ إكتشف العالمان (Larkin and Scowroft) الإختلافات الوراثية (Somaclonal Variation) في مزارع الأنسجة النباتية.
 - ✓ في عام ١٩٨١ تمكن (Krens et al) من تحويل الخلايا وذلك باستعمال حمض الـ (DNA) العاري المعزول.
 - ✓ وفي عام ١٩٨٢ أيضاً تمكن (Zimmermann) من إدماج البروتوبلاست وذلك بواسطة التنبه الكهربائي (Electrical Stimulus).
 - ✓ وفي عام ١٩٨٣ تمكن (Pelletier et al) من تهجين سيتوبلازمي بين أجناس غير المتقاربة (Intergeneric Cytoplasmic Hybridization) لنباتي الفجل (Radish) و اللفت (Turnip)
 - ✓ وفي عام ١٩٨٤ تمكن (Paszowski et al.) من تحويل الخلايا النباتية بواسطة بلازميد الحمض النووي.
 - ✓ كما تمكن (Horsch et al.) عام ١٩٨٥ من إصابة وتحويل قطع من الأوراق النباتية بواسطة بكتيريا (Agrobacterium Tumefaciens) ثم بعد تحويل هذه القطع النباتية تم تشكيلها إلى نبات كامل.
 - ✓ وفي عام ١٩٨٨ إستخدم (Fahmy and Omar) المواد الطبيعية المنتجة بواسطة نحل العسل (Propolis) كمضادات للفيروس وذلك بإضافتها إلى البيئات الصناعية للحصول على نباتات بطاطس خالية من الفيروسات.
- ولقد طُبِّقَت زراعة الأنسجة النباتية في إكثار العديد من أصناف النباتات الإقتصادية وكان لها الأثر الفعَّال في إنتاج نباتات وأصناف جديدة خالية من الأمراض والحشرات.

الخصائص المميزة لتقنيات زراعة الأنسجة:

- ✓ أنها تتم في حيز مكاني صغير نسبياً مقارنة بالزراعة التقليدية
- ✓ من الممكن توفير الظروف البيئية المثلى التي يحتاجها النبات
- ✓ أنها تتم بعيداً عن جميع الكائنات الحية من فطريات وبكتيريا وفيروسات وحشرات
- ✓ أنها لا ترتبط بالنمط الطبيعي لتطور النبات ودورة حياته.
- ✓ سهولة التعامل مع مزارع الخلايا والأنسجة لنباتات صعبة التداول أو المعالجة.
- ✓ من أهم الخصائص أنها تتم في أواني زجاجية وتحت ظروف كاملة التعقيم.

إستخدامات زراعة الأنسجة:

- ✓ إكثار النباتات التي يصعب إكثارها بالطرق العادية أو النباتات المعرضة للإنقراض على نطاق تجاري.
- ✓ إنتاج نباتا خالية من الفيروس (Virus Free Plants).
- ✓ حفظ الأصول الوراثية (Germplasm Conservation).
- ✓ إنتاج العديد من المركبات العضوية والأمصال.
- ✓ الحصول على النباتات الكاملة للخلايا المعدلة وراثياً.
- ✓ زيادة التباينات الوراثية عن طريق الإستفادة من التغيرات الكروموسومية الناتجة عن الزراعة النسيجية أو ما يُعرف بـ (Somaclonal Variation).
- ✓ الحصول على هجن جسمية باستخدام تقنية دمج البروتوبلاست.

أنواع مزارع الأنسجة النباتية:

هناك عدة أنواع من مزارع الأنسجة وتتوقف ضرورة إستعمال نوع محدد من هذه الأنواع على الهدف من زراعة الأنسجة.

تُقسّم مزارع الأنسجة إلى نوعين أساسيين:

أولاً: مزارع الأنسجة المتكشفة أو مزارع الأعضاء

يقصد بها زراعة أعضاء نباتية كاملة التكوين أو في بدء تكوينها كالقلم النامية سواء للسوق أو الجذور أو مبادئ الأوراق أو الأزهار ودفع هذه الأجزاء لإستكمال نموها بنفس النمط كما لو كانت متّصلة بالنبات الأم ويضم هذا القسم عدد من الأنواع:

١. زراعة القمم المرستيمية (Meristems Culture)

وهي عزل جزء صغير جداً من القمة النامية مع واحدة أو إثنين فقط من مبادئ الأوراق وزراعته في وسط غذائي معين ليعطي نباتاً واحداً. وتستعمل هذه الطريقة للحصول على نباتات خالية من الأمراض الفيروسية كما حدث مع نبات الداليا والبطاطس ويعتمد الأساس النظري في ذلك على أن الفيروس ينتشر في الأنسجة الوعائية للنبات وأن القمة المرستيمية النشطة تتميز بخلوها من الفيروس وكذلك تستخدم في إكثار بعض النباتات مثل الأوركيد.

٢. زراعة القمة النامية (Shoot Tip Culture):

وهي تشمل القمة المرستيمية مع عدد قليل من مبادئ الأوراق في وسط غذائي ليعطي نباتاً واحداً أو أكثر ويشترط أن تكون من براعم سابقة التكوين على النبات الأم كما تعتبر من طرق حفظ الأصول الوراثية.

٣. زراعة العقد الساقية (Stem Nodes Culture):

وفيها يقسم الساق إلى عدة أجزاء يحتوي كل منها على عقدة بها برعم واحد أو أكثر فينمو كل برعم مكوناً ساقاً، ويستعمل طريقتي القمة النامية والعقد الساقية للإكثار التجاري للعديد من النباتات.

٤. زراعة الأوراق (Leaves Culture):

المقصود بها فصل بدايات الأوراق وزراعتها على بيئة مغذية وبهذا يمكن تتبع المراحل التطورية المختلفة التي تمر بها الأوراق تحت ظروف بيئية يمكن التحكم فيها.

٥. زراعة الجذور (Roots Culture):

حيث تفصل الجذور وتزرع في وسط النمو و تستعمل هذه الطريقة غالباً للحصول على المواد الطبية الفعالة معملياً.

٦. زراعة الأجنة (Embryos Culture):

وتنقسم إلى قسمين على حسب الطور الجنيني:

✓ زراعة الجنين الناضج (Mature Embryo Culture)

وتتلخص في فصل الجنين من البذرة بهدف زراعته على بيئة مغذية للتغلب على مشكلة السكون.

✓ زراعة الجنين غير الناضج (Immature Embryo Culture):

وهنا يفصل الجنين في مرحلة مبكرة بعد الإخصاب مباشرة في فترة تتراوح بين ١١ – ٢٣ يوم من التلقيح. وتستخدم هذه الطريقة للحصول على الهجن البعيدة التي يستحيل الحصول عليها أو إنتاجها بالطرق العادية ويعتمد نجاح هذه العملية على سرعة فصل الجنين بمجرد حدوث الإخصاب وهذه تسمى (Embryo Rescue) أي عملية إنقاذ للجنين قبل حدوث الإجهاض.

٧. زراعة المبايض والأزهار المفصولة (Ovules and Excised flowers Culture):

تُفصل المبايض فقط أو الزهرة كاملة وتُزرع في الوسط الغذائي بهدف التغلب على بعض المشاكل الناتجة عن عقب الإخصاب كسقوط الأزهار قبل تمام تكوين الجنين وكذلك لإحداث الإكثار المعلمي.

٨. زراعة المتوك (Anthers Culture):

وفيها يزرع المتك المحتوي على حبوب لقاح أو الخلايا الأمية لحبوب اللقاح لتكوين أفراد أحادية التركيب الوراثي حيث يتم وقف نسخ وترجمة الجينات المسؤولة عن تكوين الطور الجاميطي وتنشيط نسخ وترجمة الجينات المسؤولة عن تكوين الأنسجة الخضرية ، فبدلاً من أن تتكون حبوب لقاح تكون الخلية الأمية لحبوب اللقاح أجنة أحادية مباشرة (Direct Regeneration) أو تكون أنسجة كالس تتكشف منها أجنة أو أفرع (Indirect Regeneration) وقد يتم زراعة حبوب اللقاح لنفس الغرض والتي تُسمى (Pollen grain Culture ((microspore)).

ويمكن التأكد من أن النباتات الناتجة من حبوب اللقاح أو المتك أحادية تحتوي على نصف عدد الكروموسومات كالتالي:

١. ملاحظة عدد الكروموسومات في خلايا جذور النباتات الناتجة
 ٢. مقارنة عدد وحجم الثغور بالنباتات الأحادية مع مثيلاتها في النباتات الثنائية حيث أنها صغيرة الحجم في النباتات الأحادية .
 ٣. تتميز النباتات الأحادية الناضجة بأنها أقل حجماً من النباتات الثنائية حيث يصل حجم الزهرة والورقة تقريباً نصف حجم مثيلتها في النباتات الثنائية.
 ٤. النباتات الأحادية عقيمة ولا تعطي بذور.
- ملحوظة:** يمكن مضاعفة عدد الكروموسومات في النباتات الأحادية لتحويلها إلى نباتات ثنائية باستخدام مادة الكولشيسين (Colchicine).

أهمية النباتات الأحادية:

١. إنتاج الطفرات:

النباتات الأحادية ذات أهمية عظمى في برنامج التربية حيث أنه باستخدام نباتات تحتوي على نصف العدد الكروموسومي للنبات الأم فإنه يسهل عملية التعرف على الجينات الوراثية التي تحكم الصفات المختلفة للنبات وذلك لأن الجينات الوراثية الموجودة بالخلية الأحادية تُعبّر عن نفسها كاملة فيظهر تأثير الصفات السائدة والمتحية كما هي موجودة على الكروموسومات.

٢. التباين الجاميطي:

ويستخدم هذا المصطلح للتعبير عن الإختلافات التي تظهر على النباتات الناتجة من زراعة حبوب اللقاح في بيئة مغذية. من المعروف أن النباتات الأحادية والمتضاعفة هي الهدف الأساسي لمربي النبات والتي من خلالها يتم إختيار الأنواع النباتية الجديدة بهدف تحسين المحاصيل الزراعية أو بهدف إجراء الدراسات الوراثية ولقد أمكن باستخدام هذه الطريقة الحصول على أنواع نباتية ذات صفات مقاومة للأمراض وذات قدرة إنتاجية مرتفعة . ويرجع التباين الجميطي للنباتات الناتجة من زراعة حبوب اللقاح إلى التغيير في تركيب الكروموسوم وهذا يشمل إلغاء عمل مجموعة من الجينات أو تغيير موقعها على الكروموسوم أو إنعكاس وضعها على الكروموسوم.

٣. إنتاج أنواع جديدة:

أثناء عمليات الإنقسام الميوزي في الخلية الأم فإنه يحدث تبادل لأجزاء من المادة الوراثية من الكروموسومات فيما يسمى بعملية العبور ويكون نتيجة لهذا أن تظهر بعض التراكيب الجديدة التي تختلف عن الآباء وعن بعضها البعض ولهذا فإن كل حبة لقاح تعتبر ذات تركيب وراثي مميز وبالتالي فإنه عندما يتم زراعة حبوب اللقاح الناتجة من النباتات الهجينة فإنه يكون هناك إختلافات كبيرة في التركيب الوراثي للنباتات الناتجة ولهذا تصبح هناك فرصة كبيرة لإختيار التراكيب المناسبة التي لها صفات مميزة ومرغوب فيها.

٤. إنتاج سلالات نقية:

إنتاج نباتات متجانسة بطرق التربية التقليدية تحتاج إلى العديد من السنوات التي تصل إلى عشرات السنوات ولقد إستخدمت النباتات الأحادية في التغلب على هذه المشكلة حيث أنه بتضاعف عدد الكروموسومات بهذه النباتات يمكن الحصول على العديد من النباتات المتجانسة وبالتالي تقصير هذه المدة إلى عدة أشهر فقط.

٥. نقل الجينات:

تُعتبر حبوب اللقاح المنفصلة والمنزرعة في صورة معلقات خلوية مادة نباتية ذات أهمية خاصة في نقل بعض الجينات الوراثية ومن مميزات هذه الطريقة أنه يتم فيها نقل الجينات إلى خلية واحدة بها نصف عدد الكروموسومات ونتيجة لإنقسامها فإنها تعطي خلية أخرى لها نفس التركيب الوراثي وهكذا إلى أن تعطي نبات يحتوي تركيبه الوراثي على الجين الجديد.