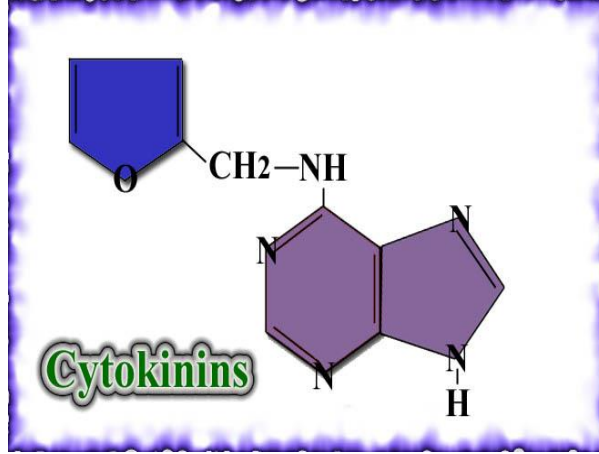


السيتوكينينات (Cytokinins):

تمثل السيتوكينينات إحدى مجموعات منظمات النمو وتلعب دوراً أساسياً في إنقسام وتكثف الخلايا في مزارع الأنسجة كما أن لها العديد من التأثيرات الفسيولوجية الأخرى. فهي تلعب دوراً في تحمّل النبات للإجهاد البيئي كالملوحة والجفاف حيث أن لها دوراً في نسخ الـ (RNA) وتنشيط إنتاج البروتين. أول من إكتشف السيتوكينينات (Cytokinins) هو العالم (Miller) سنة ١٩٥٦.



طريقة تأثير السيتوكينينات (Cytokinins) في زراعة الأنسجة:

يُعتقد أن السيتوكينينات (Cytokinins) لها دوراً في إنقسام الحلية وهناك أدلة على وجود ارتباط بين السيتوكينينات (Cytokinins) وتصنيع الأحماض النووية والبروتينات، وقد ثبت دخول السيتوكينينات في تصنيع الحامض النووي (RNA) لأنها تحتوي على مجموعة الأدينين والتي تُعتبر إحدى القواعد النيتروجينية الأساسية في تخليقه، كذلك وُجد أن لها دوراً في تنشيط تخليق بعض الإنزيمات.

تأثير السيتوكينينات (Cytokinins) في زراعة الأنسجة

تؤثر السيتوكينينات (Cytokinins) في زراعة الأنسجة كما يلي:

١. إنقسام الخلايا

تُعتبر السيتوكينينات (Cytokinins) ضرورية لإنقسام الخلايا كما يُعتقد أن لها دوراً في تصنيع البروتينات المسؤولة عن تكوين خيوط المغزل، وفي حالة نقص السيتوكينينات (Cytokinins) يتوقف الإنقسام الخلوي في إحدى مراحل الإنقسام ولكن عند إعادة نقل الأنسجة إلى وسط محتوٍ على السيتوكينينات (Cytokinins) فإن الخلية تعاود نشاط الإنقسام مرة أخرى.

٢. تكوين الكالس:

يحتاج تكوين الكالس في معظم أنسجة النباتات ثنائية الفلقة إلى وجود الأوكسين والسيتوكينين (**Cytokinin**) معاً.

٣. تكشُّف الأفرع العرضية:

من المعروف أن السيتوكينينات (**Cytokinins**) فعّالة جداً في تكوين الأفرع سواء المتكونة مباشرة على النسيج المنزرع أو المتكونة بطريقة غير مباشرة من الكالس في وجود الأوكسينات، وبالإضافة لتشجيع تكوين البراعم العرضية فإن السيتوكينينات (**Cytokinins**) تعمل على خفض تأثير السيادة القمية مما يؤدي إلى تنشيط البراعم الجانبية لكن التركيزات المرتفعة من السيتوكينينات (**Cytokinins**) تُسبب تكشُّف عدد أكبر من الأفرع المتقرّمة وبها خلل مورفولوجي وغالباً تنخفض نسبة التجذير في النباتات المُكشَّفة في بيئة تحتوي على تركيز عالي من السيتوكاينين .

٤. تكوين الأجنة الجسدية (Somatic Embryogenesis):

يحتاج إنتاج الكالس إلى إضافة السيتوكينينات ولكن زيادتها في البيئة قد يؤدي إلى تثبيط تكوين الأجنة الجسدية.

٥. تثبيط تكوين الجذور (Root formation inhibition)

يعمل التركيز العالي نسبياً من السيتوكينينات على تثبيط أو إعاقة تكوين ونمو الجذور وبالتالي لا بد من نقل المجموع الخضري المتكون في بيئة محتوية على السيتوكينينات إلى أخرى خالية منها للحث على تكوين ونمو الجذور قبل نقل النباتات من المعمل.

٦. التكهُّف (Regeneration):

تحول خلايا الكالس من خلايا غير متخصصة إلى خلايا متخصصة وتكوين نبات كامل

٧. تكوين الأعضاء (Organogenesis):

هي نشأة الأعضاء على سطح الجزء النباتي أو من الكالس الناتج من زراعته وهي عادة تكون إما نموات خضرية أو جذور.

تقنيات زراعة الأنسجة النباتية

١. الإكثار الدقيق
٢. إنتاج نباتات خالية من الأمراض
٣. إنتاج مركبات طبيعية وصيدلانية من خلال زراعة الأنسجة
٤. طرق حفظ الأصول الوراثية باستخدام تقنية زراعة الأنسجة
٥. استخدام طرق زراعة الأنسجة في تربية النبات
 - أ) زراعة المتوك
 - ب) زراعة وإنقاذ الجنين
 - ج) الإندماج الخلوي (دمج البروتوبلاست)
 - د) التربية باستخدام المطفرات
 - هـ) استخدام تقنية زراعة الأنسجة في إنماء وإكثار بعض الكائنات إجبارية التطفّل
 - و) البذور الصناعة والأجنة الجسدية
٦. زراعة الأنسجة النباتية ونقل الجينات

١. مراحل الإكثار بواسطة زراعة الأنسجة

الإكثار (**Micropropagation**): هو إكثار النباتات باستخدام تقنيات زراعة الأنسجة وهنا سوف نستعرض معاً في إطار مبسط المراحل التي يمر بها النسيج المنزوع بداية من فصل هذا النسيج من النبات الأم وزراعته على بيئة مغذية حتى الحصول على نباتات كاملة لها القدرة على النمو في الحقل تحت الظروف الطبيعية. وفي البداية حدد العالم (Murashige 1974) ثلاثة مراحل يمر بها النسيج المنزوع وهي:

١. مرحلة إنشاء المزرعة النسيجية
 ٢. مرحلة التضاعف على البيئة المغذية
 ٣. مرحلة تكوين الجذور
- وبالرغم من أن هذه المراحل الثلاث تغطي المراحل التطورية التي يمر بها النسيج المنزوع في البيئة المغذية إلا أنه حديثاً تم إضافة مرحلتين هامتين:
- الأولى تهتم بإعداد النبات الأم الذي يؤخذ منه النسيج لزراعته على البيئة المغذية، أما الثانية فإنها تهتم بتهيئة النباتات الناتجة من زراعة الأنسجة لتتواءم مع الظروف الطبيعية المحيطة والإحتياجات الضرورية لإستيفاء متطلبات كل مرحلة تختلف باختلاف نوع المزرعة ونوع النبات وعدد آخر من العوامل تتعلق بالنبات الأم والجزء المستعمل.

وبالتالي تصبح المراحل التطورية التي تميز التكاثر بواسطة زراعة الأنسجة النباتية هي:

١. مرحلة إعداد النباتات الأم
٢. مرحلة إنشاء المزارع النسيجية
٣. مرحلة التضاعف على البيئة المغذية
٤. مرحلة تكوين الجذور
٥. مرحلة الأقلمة.

مرحلة إختيار وإعداد النباتات الأم (Selection and Preparation of mother plants):

- بداية يجب التأكد من النوع والصفة النباتي المراد إكثاره.
- أثبتت التجارب أن إستجابة النسيج المنزوع تتوقف على مدى قوة النبات الأم والموسم الذي يؤخذ فيه النسيج المراد زراعته.
- يفضل أن يحافظ على النباتات في الصوبة حيث يمكن التحكم في عوامل النمو المحيطة والحصول على أفضل نمو للنبات الأم
- الإستجابة المرتفعة للأنسجة النباتية المنفصلة من النبات الأم في المرحلة النشطة من حياته ولذلك عندما يراد إكثار بعض الأنواع التي تتعرض لفترة من السكون فإنه يجب مراعاة أن يؤخذ النسيج النباتي أثناء فترة النشاط وليست فترة السكون.

مرحلة إنشاء المزارع النسيجية (Establishment of tissue culture):

وفي هذه الخطوة يجب الإهتمام بنوع البيئة الغذائية المستخدمة الإهتمام بالنسيج النباتي المستخدم وذلك بالتخلص من الكائنات الدقيقة التي تحيط بالسطح الخارجي للنسيج المنفصل (وذلك بالغسيل والتعقيم بأحد الطرق المعروفة). ويقاس نجاح هذه المرحلة بمدى الحصول على أنسجة غير ملوثة لها القدرة على النمو وإعطاء نبات.

مرحلة تضاعف النسيج المنزوع (Multiplication of the cultured tissue):

الهدف الأساسي في هذه المرحلة هو الحصول على تضاعف سريع للجزء النباتي المنزوع على بيئة مغذية هناك طرق عديدة لإتمام هذه المرحلة وتشمل:

١. الأجنة الجسدية
٢. تنشيط نمو البراعم العرضية
٣. تنشيط نمو الأفرع الجانبية

١. الأجنة الجسدية (Somatic embryos):

إنتاج الأجنة الجسدية هي طريقة ذات كفاءة عالية لإكثار المادة النباتية وهي عبارة عن تحول خلية نباتية إلى جنين غالباً له نفس التركيب الوراثي للخلية الأم التي نشأ منها يمكن الحصول على الأجنة الجسدية إما من خلال زراعة معلق الخلايا أو من الكالس المنزوع على بيئة مغذية

٢. تنشيط نمو البراعم العرضية (Stimulation of axillary buds):

عند زراعة جزء نباتي يحتوي على برعم عرضي فإن هذا الأخير ينمو إلى فرع خضري أو عديد من الأفرع الخضرية ، وهذه بدورها تحتوي على براعم عرضية التي تنمو بدورها إلى أفرع خضرية وبتكرار هذه الدورة فإنه يحدث تضاعف للمادة النباتية المنزوعة. مع مراعاة ألا تزيد عملية إعادة الزراعة للنموات الخضرية عن سبعة مرات لتلافي حدوث الإختلافات الوراثية (Somaclonal variation)

بالرغم من أن هذه الطريقة تُعتبر أبطأ الطرق المستخدمة في إكثار المادة النباتية إلا أنها شائعة الاستخدام في بعض الأنواع النباتية.

٣. تنشيط نمو الأفرع الجانبية (Stimulation of lateral buds):

تنشأ الأفرع الجانبية في مزارع الأنسجة النباتية من مناطق مختلفة من النسيج المنزرع وليست من البراعم الطرفية أو العرضية ، فهي تتطور من الجذور ، السوق ، الأوراق ، الكورمات ، الريزومات والكالس. إن استخدام هذه الطريقة لمضاعفة المادة النباتية المنزرعة غير مفضلة لأنها قد تؤدي إلى حدوث تغيرات في المادة الوراثية نظراً لطول الفترة التي يقضيها النسيج على بيئة مغذية فقد يؤدي ذلك إلى تضاعف كروموسومي بالإضافة إلى التغيير في التركيب الجيني.

مرحلة تكوين الجذور في البيئة المغذية (Root formation in nutrient medium):

- الهدف الأساسي من هذه المرحلة هو تكوين جذور على الأفرع المتكونة في المرحلة السابقة.
- يتم ذلك بنقل الأفرع النباتية المتكونة إلى بيئة مغذية ذات تركيب مناسب لتنشيط إنتاج الجذور تختلف عن البيئة السابقة في تركيز منظمات النمو.
- حديثاً أمكن تنشيط تكوين الجذور بعد النقل إلى تربة الزراعة وتتميز الجذور التي تُنتج هنا بأنها أقوى وتحتوي على شعيرات جذرية أكثر من التي تنمو على البيئة الصناعية.

مرحلة الأقلمة (Acclimatization stage):

١. تتميز النباتات الناتجة من زراعة الأنسجة ببعض المواصفات التي تميزها عن النباتات العادية مثل (عدم تكون طبقة الكيوتيكل التي تحد من فقد المياه من النبات – الثغور في هذه النباتات لا تعمل بكفاءة عالية).
٢. نتيجة لذلك لا بد من إجراء عملية الأقلمة وذلك لتهيئة النباتات للنمو في ظروف الصوبة أو الحقل.
٣. هنا لا بد من الأخذ في الاعتبار بعض النقاط الهامة وهي:
 - أفضل تربة صناعية لتشجيع نمو الجذور يجب أن تكون متعادلة أو حامضية.
 - غسل النباتات جيداً من البيئة المغذية قبل نقلها للتربة.
 - يراعى عند النقل للتربة المحافظة على الرطوبة المرتفعة المحيطة بالنبات.
 - إزالة بعض الأوراق المتكونة للحد من فقد الماء ودفع النباتات لتكوين أوراق جديدة للقيام بالبناء الضوئي.
 - تقليل الكثافة الضوئية ثم زيادتها تدريجياً.
 - تنشيط تكوين الطبقة الشمعية لتقليل فقد الماء.