السيتوكاينينات

تاريخ الاكتشاف:

اكتشف هابرلانت (Haberlandt) وجود مركبات غير معروفة في النسيج الوعائي للنباتات المختلفة تستحث انقسام الخلايا، مما ينتج عنة تكوين المنشئ الفليني ونسيج التئام الجروح في درنات البطاطس المقطوعة. يعد هذا هو الاكتشاف الأول المثبت لهذه المركبات. وجد بعد ذلك أن جوز الهند غير الناضجة غنية بمركبات السيتوكاينينات. في بداية العقد الخامس من القرن العشرين بين المهتمين بدراسة الأوكسينات المنشطة لنمو النباتات في زراعة الأنسجة أن الخلايا في الجزء اللبني من نخاع سيقان نبات التبغ تنقسم بسرعة كبيرة عند وضع قطعة من النسيج الوعائي على قمة اللب، يعد هذا بداية معرفة أن النباتات تحتوي على مركبات لها المقدرة على استحثاث انقسام السيتوبلازم.

حاول سكوج وفريق عمله المشترك التعرف على العامل الكيميائي المنتقل من الأنسجة الوعائية والمستحث لهذا الانقسام، مستخدمين نمو الخلايا اللبنية للتبغ كنظام تقدير حيوي لهذا المركبات، إذ تمت زراعة خلايا نخاع التبغ في بيئة آجار تحتوي على سكر وأملاح معدنية وفيتامينات وأحماض أمينية وأوكسين (أندول حمض الخل IAA)، ووجد أن أندول حمض الخل يزيد النمو، ويتسبب في تكوين خلايا ضخمة ولكنها لا تنقسم. ومن خلال البحث عن المواد التي تستحث الانقسام الخلوي، وجدت مادة عالية النشاط تشبه مركباً في مستخلصات الخميرة هي الأدنين، وهذا دفع العلماء إلى الاستفسار عن مقدرة الحمض النووي DNA على استحثاث الانقسام الستوبلازمي لأن الـDNA يحتوي على الأدينين. ومن ثم اكتشفت مركبات نشيطة جداً تتكون بواسطة التكسير التجزيئي للبطارخ المعقمة (البيوض تامة النضج) لسمك الرنكة المسن وسميت هذه المركبات بالكاينتين (Kinetin)، المعزولة من الـ DNA، واعتمدت تسميتها على خاصيتها في الانقسام الخلوي أو الانقسام " السيتوبلازمي " (Cytokinesis) في أنسجة نخاع نبات التبغ. مع أن الكاينيتين نفسه غير موجود في النباتات، وليس هو المادة الفعالة التي كشفها هابرلانت في اللحاء، إلا أنه يرتبط بالستوكاينينات الموجودة في النباتات. وباستخدام تقنية زراعة الأنسجة في بداية الخمسينات، وجدت سيتوكاينينات عدة في لبن نبات جوز الهند لها القدرة على استحثاث الانقسام الخلوي في جذور نبات الجزر. وبذلك تم اكتشاف المركبات النشيطة من هذه المواد وسميت زياتين (Zeatin) وزياتين رايبوسايد (Zeatin riboside). تم عزل السيتوكاينينات الطبيعية بهيئة بلورات من العصارة اللبنية لنبات الذرة،

واقترح أن تركيبها الكيميائي المتوقع عبارة عن بيورين (Purine). واتضح بصورة لا تقبل الشك أن المادة المفصولة هي الزياتين، والزياتين رايبوساید والرايبونيوكليوتايد التابعة لها (الشكل 1). وبعد مدة من اكتشاف الزياتين، فصلت سيتوكاينينات عدة من مصادر طبيعية مختلفة (الشكل 1).

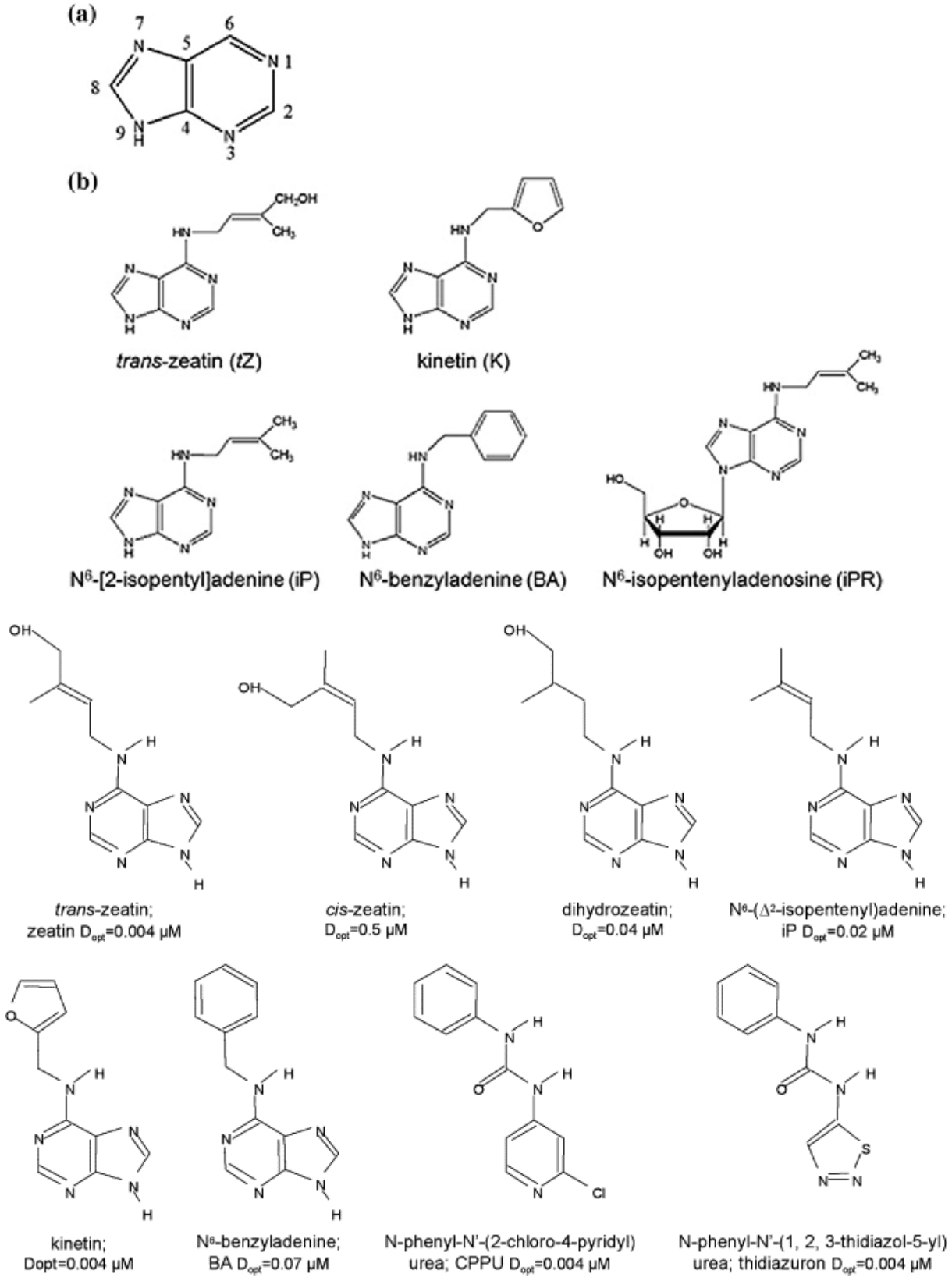
خصائص السايتوكاينينات:

يوضح الشكل 1. تركيب القواعد الحرة لثلاثة مركبات من مركبات السيتوكاينينات الشائعة والنشيطة فسيولوجياً في العديد من النباتات، وهي الزياتين (Zeatin) وثنائي هيدروزياتين (Di-Hydro Zeatin)، والأيزوبنتينيل أدينين Isopentenyl adenine (IPA)، ونلاحظ أيضاً مركب الكاينتين (Kinetin)، وبنزايل أدينين (Benzyl adenine) وكلاهما من المركبات غير الطبيعية لكنها فعالة فسيولوجياً. من المحتمل عدم تكوين الكاينتين بواسطة النباتات، لكن حديثاً وجد البنزايل أدينين أو رايبوساید في النباتات. ويلاحظ أن جميع مركبات السيتوكاينينات ذات سلسلة جانبية تحتوي الكربون والهيدروجين، ومتصلة بذرة النتروجين الخارجة في قمة حلقة البيورين (Purine ring).

السايتوكاينينات الحرة والمقيدة:

يوجد من مركبات السيتوكاينينات ما هو متحد مع مركبات عضوية أخرى. يلاحظ في شكل 1. وجود بعض المركبات الحرة في النباتات التي لها استجابة فسيولوجية مميزة، وهي الزياتين وثنائي هيدروزياتين والأيزوبنتيل أدينين. أن مركبات السيتوكاينينات يمكن أن ترتبط مع السكريات معطية مركبات مقيدة (جلوكسيدية) مثل مركب الرافانتين (Raphantin) الذي يوجد في نبات الفجل بكثرة. يتميز هذا النوع من المركبات المقيدة بصعوبة استخلاصه وقلة فعاليته مقارنة بالمركبات الحرة، ولا توجد دلائل تشير إلى ارتباط السيتوكاينينات مع الأحماض الأمينية أو مع البروتينات.

شكل 1. يبين بعض السايتوكاينينات الطبيعية والمصنعة



توزيع السيتوكاينينات في النبات:

توجد مركبات السايتوكاينينات في البذور والثمار غير مكتملة النمو، وينخفض محتواها عند نضج الثمار. كما أن معظمها يتكون في قمم الجذور، وتنتقل عبر الخشب وتوجد في النباتات الراقية والبدائية مثل الحزازيات والطحالب البنية والحمراء وفي الدياتومات (طحالب شبيهة بالنبات)، وتحتوي بعض البكتيريا والفطريات المسببة للأمراض على مركبات السيتوكاينينات (ويعتقد ان وجود هذه المركبات هو السبب في نشاطها المرضي). بسبب إنتاج السيتوكاينينات بواسطة البكتيريا والفطريات غير الممرضة فالمعتقد أيضاً أنها تؤدي إلى تأثير في العلاقات المتبادلة مع النباتات مثل تكوين خيوط الغزل الفطري في Mycorrhizae وعقد الجذور.

انتقال السيتوكاينينات:

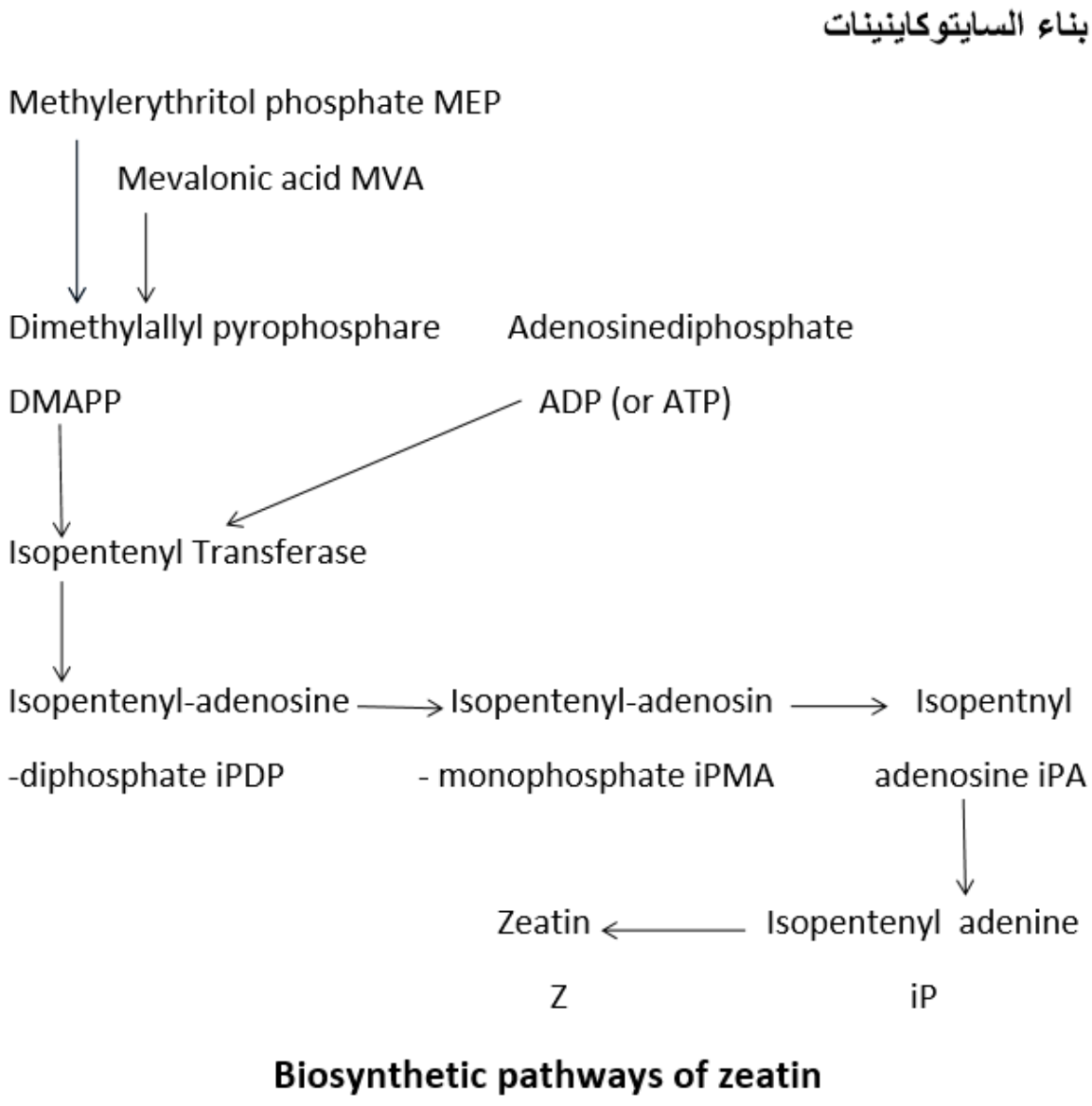
تنقل السيتوكانينات خاصة الزياتين والزياتين رايبوساید أساساً في الخشب، ولكن وجد أن الأنابيب الغربالية تحتوي على بعض السيتوكانينات المقيدة خاصة تلك المرتبطة بالجليكوسيدات، فضلاً عن أن انتقال مركب بنزايل أدينين (Benzyl adenine) يحدث خلال مقاطع من السويقات الجنينية لبعض النباتات (بين الخلايا)، مما يدل على أنه ينتقل قطبياً مثل الأوكسين.

بناء السيتوكاينينات:

تحتوي أنسجة نبات التبغ على إنزيم يسمى أحادي فوسفات الأدينوزين سينثيتيز (Isopentenyl AMP synthetase) أو اختصاراً بـ Isopentenyl AMP يتكون من أحادي فوسفات الأدينوزين (AMP) ومن شبيه isomer الأيزوبنتينيل بيروفوسفات (Isopentenyl Pyrophosphate) ينتج المركب الأخير من مسار الميفالونيت الذي يعد المسار المهم في بناء الستيرولات والجبريللينات والكاروتينات وبعض مركبات أشباه الأيزوبرين. يعد مركب دلتا–2– أيزوبنتيل بيروفوسفات المركب الشبيه (Isomer) الذي يدخل في المسار، ويعني الرمز دلتا أن الجزيء به رابطة ثنائية بين ذرة الكربون رقم 2 و3، ويلاحظ أن عديد الفوسفات Pyrophosphate (pp_1) يتحرر من مجموعة الأيزوبنتينيل ويمكن أن يتحول الأيزوبنتيتيل أحادي الفوسفات الأدينين المتكون، إلى أيزوبنتينيل الأدينوزين عن طريق إزاحة مجموعة الفوسفات باستخدام إنزيم الفوسفاتيز. ويمكن أيضاً تحويل مركب أيزوبنتينيل الأدينوزين إلى أيزوبنتينيل أدينين عن طريق إزالة مجموعة الرايبوز. علاوة على أنه يمكن الحصول على مركب الزياتين بأكسدة

الأيزوبنتينيل أدينين ثم بعدها الحصول على الزياتين، يمكن الحصول على مركب ثنائي هيدروزياتين Dihydrozeatin عن طريق اختزال الروابط الثنائية الموجودة على السلسلة الجانبية لمركب أيزوبنتينيل في وجود مركب فوسفاتي فضلاً عن الأدينين كمصدر للهيدروجين والشكل 2. يبين البناء الحيوي لمركبات السيتوكاينين.

شكل 2. البناء الحيوي للسايتوكاينين



Biosynthetic pathways of zeatin

طرق قياس ومعرفة السيتوكاينينات:

تعزى الفعالية الأساسية لمركبات السيتوكاينينات إلى استحثاث الانقسام الخلوي. إذ وجد سكوج وطلبته، أنه عند قطع نخاع ساق نبات التبغ أو فول الصويا ونمي في بيئة آجار تحتوي على الاوكسين والمواد الغذائية الضرورية للنمو، تتكون كتلة من الخلايا غير المتخصصة عديدة الصبغيات Polyploidy تدعى الكنب "كالاس" (Callus). إن إضافة السيتوكاينين إلى الوسط المغذي تزيد من استحثاث تكوين الكنب. تستغل عملية تكوين كمية من خلايا جديدة نامية (عملية تكوين الكنب) كاختبار للتقدير الحيوي Bioassay test، وهو اختبار حيوي حساس ومتخصص لمركبات السيتوكاينينات ومهم في تعريف هذه المركبات. وجد سكوج ومساعدوه، أن استعمال نسبة عالية من السيتوكاينين إلى الأوكسين تعطي خلايا إنشائية في الكنب، والتي تنقسم وتتكشف إلى براعم ثم سيقان وأوراق، ولكن إذا كانت نسبة السيتوكاينين إلى الأوكسين منخفضة (أقل من النسبة السابقة)، يصبح ذلك في مصلحة تكوين الجذور. وباختيار النسب الصحيحة والمناسبة فإن الكالس الناتج من أنواع كثيرة من النباتات – خاصة ذوات الفلقتين– يمكن أن يتطور ويتكشف إلى نبات جديد كامل. ان استعمال نسبة عالية (نسبياً) من السيتوكاينين إلى الأوكسين إذ يتكشف المجموع الخضري في البداية ثم تتكون الجذور العرضية ومن ثمّ تكوين الأعضاء (Organogenesis) واحياناً تصبح الكنبات جنينية، ويطلق على عملية تكشف الجنين إلى جذر ومجموع خضري تكوين الأجنة (Embryogenesis).

الية عمل السايتوكاينين: هناك العديد من العوامل التي تدل على ان السايتوكاينينات تتفاعل مباشرة مع الاحماض النووية وهذه العوامل هي:

1- تركيب السايتوكاينين وخاصة حلقة الادنين وبالتالي فعاليتها.

2- وجود مركبات cytokinin ribonucleotides, cytokinin ribonucleoside بصورة نشطة في الخلايا

3- ينبه وينشط السايتوكاينين تخليق كل من RNA والبروتين في الخلايا اذ يلعب دورا رئيسيا في ربط t-RNA مع مجموعة m-RNA اثناء تكوين البروتينات.

4- ينبه السايتوكاينين نشاط انزيمات معينة ومن ثم تكوين نواتج تفاعلها.

5- وجود السايتوكاينينات في RNA المادة الحية.

التأثيرات الفسيولوجية للسيتوكاينينات:

اولاً: تأثير السيتوكاينينات على الشيخوخة وتوجيه المواد الغذائية:

عندما تقطع ورقة خضراء مكتملة النمو ولكن مازالت نشيطة، فإنها تبدأ في فقد الكلوروفيل والحمض النووي RNA والبروتينات والدهون من أغشية البلاستيدات الخضراء بسرعة أكثر مما لو كانت لم تقطع من النبات حتى لو جرى إمدادها بأملاح معدنية وماء من خلال نهاية القطع. تتضح هذه الشيخوخة أو الاصفرار بواسطة اصفرار الأوراق الذي يحدث سريعاً إذا تركت الأوراق في الظلام. غالباً ما تتكون في كثير من نباتات ذوات الفلقتين جذور عرضية من قاعدة العنق، ومن ثم يتأخر بوضوح اصفرار النصل الورقي. يبدو أن الجذور توفر بعض المركبات للورقة تجعلها تبدو من الناحية الفسيولوجية صغيرة. أن أهم تلك المركبات هو هرمون السيتوكاينين الذي ينتقل إلى النصل خلال نسيج الخشب من الجذور. يوجد دليلان أساسيان يشيران إلى أن السيتوكاينينات تؤدي دوراً في المحافظة على نضارة الأوراق، أن العديد من مركبات السيتوكاينينات يحل محل (جزئياً) الحاجة إلى الجذور من أجل تأخير الاصفرار. يلاحظ أن محتوى السيتوكاينين يرتفع تدريجياً في نصل الورقة عندما تتكون الجذور العرضية، ففي نبات دوار الشمس، يرتفع محتوى السيتوكاينين في عصارة الخشب خلال فترة النمو السريعة، ثم بعد ذلك يقل بدرجة كبيرة عندما يتوقف النمو وتبدأ مرحلة الإزهار مما يشير إلى حدوث اختزال في نقل السيتوكاينين من الجذور إلى المجموع الخضري وربما يسرع هذا الاختزال في النقل إلى الاصفرار.

توجيه المواد الغذائية: بينت دراسات مختلفة نفذت على نباتات عدة من ذوات الفلقة الواحدة والفلقتين، أنه في حالة معاملة جزء من الورقة بهرمون السيتوكاينين وتغذية الجزء الآخر من نفس الورقة بمواد أيضية مشعة أو تغذية ورقة أخرى ملاصقة لها، فإن المواد الأيضية ستنتقل عبر نسيج اللحاء إلى المنطقة المعاملة وتتجمع فيها. يتضح من هذا، أن الأوراق الصغيرة تستطيع سحب المواد الأيضية الغذائية من الأوراق الكبيرة، هذا يعزى إلى أن الأوراق الصغيرة غنية بمركبات السيتوكاينينات وبعبارة أخرى يتضح أن وجود السيتوكاينينات يجعل المنطقة مورداً (Sink) أي مكاناً لتجمع المواد الغذائية.

ثانياً: استحثاث تكشف البراعم الجانبية بالسيتوكاينينات:

ذكرت بعض الدراسات أن البنزايل أدينين والزياتين يستحثان تكشف البراعم الجانبية في نبات البسلة (البازلاء) لمدة لا تقل عن أسبوعين، بينما مركبات الايزوبنتينيل أدينين والكاينتين يستحثان لمدة قصيرة،

تشير بعض الأبحاث إلى أن البراعم الجانبية الكامنة لا تستطيع بناء مركبات السيتوكاينينات، ولا توجد دلائل واضحة حول علاقة السيتوكاينينات وبعض منظمات النمو الأخرى وعوامل التغذية في ضبط عملية تكشف البرعم الجانبي.

ثالثاً: تأثير السيتوكاينينات على تكشف البلاستيدات الخضراء وبناء الكلوروفيل:

إذا نميت بادرات من نباتات كاسيات البذور في الظلام، فإنه بالإمكان إزالة ورقة أو فلقة من البادرة واختبار ما إذا كانت إضافة السيتوكاينين إليها أدت إلى تكشف في البلاستيدات الخضراء أو بناء الكلوروفيل. وهذه التجربة ممكنة لأنه لا يتكون الكلوروفيل في الظلام، ويتوقف تكشف البلاستيدات الخضراء عند مرحلة البلاستيدات الأولية (Proplastids) أو عند مرحلة البلاستيدات الشاحبة (Etioplasts) عموماً، تتكون البلاستيدات الشاحبة عند نمو البادرات في الظلام، إذ تكون البادرات شاحبة اللون، أي تكون صفراء اللون بسبب وجود أشباه الكاروتينات (Caroteniods) في البلاستيدات التي تحتوي على نظام من الأغشية الداخلية المرتبة بصورة متقاربة داخل النظام الشبكي الداخلي الذي يطلق عليه الجسم الصفائحي الأولي (Prolamellar body). يتحول الجسم الصفائحي الأولي، عند التعرض للضوء، إلى نظام الثيلاكويد (Thylakoid system) الموجود في البلاستيدات الخضراء العادية، ويكون هذا التكشف مصحوبا بتكوين بروتينات ثايلاكويدية خاصة تصبح ملتصقة (Attached) بالكلوروفيلات في النظامين الضوئيين والمركبات الضوئية المعقدة الناتجة. إن إضافة السيتوكاينين للأوراق أو الفلقات الشاحبة (البادرات النامية في الظلام) لعدة ساعات قبل تعريضها للضوء له تأثيران مهمان، الأول حدوث استحثاث التكشف اللاحق (في الضوء) للبلاستيدات الشاحبة إلى بلاستيدات خضراء، باستحثاث تكوين الجرانا (Grana)، والثاني زيادة معدل تكوين الكلوروفيل. من المحتمل أن يكون السبب الرئيسي لكليهما هو أن السيتوكاينينات تستحث تكوين واحد أو أكثر من البروتينات التي يرتبط بها الكلوروفيل ويصبح ثابتا.

تأثيرات أخرى:

1- كسر السكون في البذور والبراعم.

2- تكوين الانزيمات.

3- تطور المرحلة التكاثرية ونوعية الازهار.

4- العدوى الفيروسية.