# الحركات في النبات وانواعها

**المقدمة:**

تحدث الأنواع المختلفة من الحركات التي تلاحظ على أعضاء النبات ببطء شديد جداً، فإنه يمكن باستخدام آلة التصوير السينمائي مشاهدة جميع الحركات التي حدثت أثناء النمو وكأنها حدثت في بضع دقائق. بهذه الطريقة يمكن إيضاح الحركات الذاتية لجميع الأعضاء النباتية. ومما لا شك فيه أن النباتات تتعرض بين مدة وأخرى لمؤثرات خارجية مختلفة كالحرارة والضوء والاحتكاك وغيرها فيستجيب لها بصور عدة مع إنه ليس لديه أنسجة عصبية كالحيوان. واتضح من دراسات عديدة أن النمو في النباتات يتضمن استجابات مختلفة لمحفزات خارجية تؤدي إلى الإحساس والاستجابة للمؤثرات، مما ينتج عنه حركات مختلفة تتضمن الحركات الشاذة (التلقائية) Nastic movements والحركات التأثيرية (Paratonic movements).

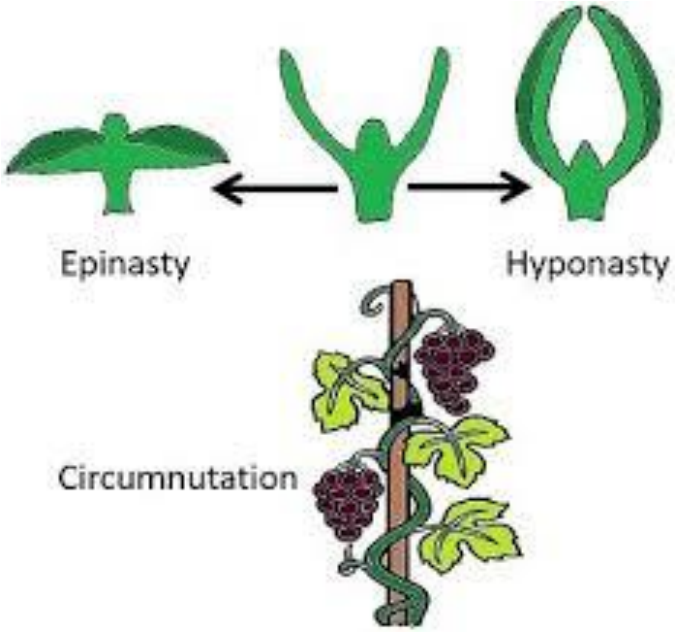
**الحركات الشاذة (التلقائية):**

تحدث هذه الحركات من دون فعل، مثل حركة كثير من الأوراق النباتية (الفاصوليا، والبرسيم) إذ يلاحظ أن أنصال هذه الأوراق النباتية تأخذ أشكالاً رأسية في المساء ووضعاً مائلاً في الصباح استجابة للإضاءة والاستفادة منها. هناك بعض المصطلحات العلمية لهذه الحركات، وأطلق على نمو الأوراق (أو أي عضو) في اتجاه علوي بالحركة المنتصبة (Hyponasty)، وإذا نمت إلى أسفل أطلق عليها ارتخاء الأوراق إلى أسفل (Epinasty) (شكل 1)، وغالباً ما تحدث هذه الحركات بسبب دخول الماء وخروجه من خلايا معينة في الأعناق أو الأنصال أو الوريقات. ويطلق على هذا النوع من الخلايا اسم الخلية الحركية (Motor cell)، ويكون مجموع هذه الخلايا عضواً يسمى العضو المنتفخ (الوسادة) Pulvinus (شكل 2). غالباً ما يسبب حركات الأوراق الشاذة انتفاخها عند قاعدة العنق أو النصل، ولكن يمكن حدوث هذه الحركات الشاذة في العديد من النباتات من دون انتفاخ. على سبيل المثال إن ارتخاء الأوراق (Epinasty) يحدث عندما تنمو خلايا عنق الورقة العلوي (أو النصل) وتستطيل استطالة غير قابلة للانعكاس أكثر من عنق الورقة السفلى. ويطلق على الحركة التي يكون فيها معدل نمو أكبر على السطح السفلي حركة نمو تلقائية (Hyponasty). وبصفة عامة، اتضح أن الحركات الشاذة أو التلقائية (Nastic movements)

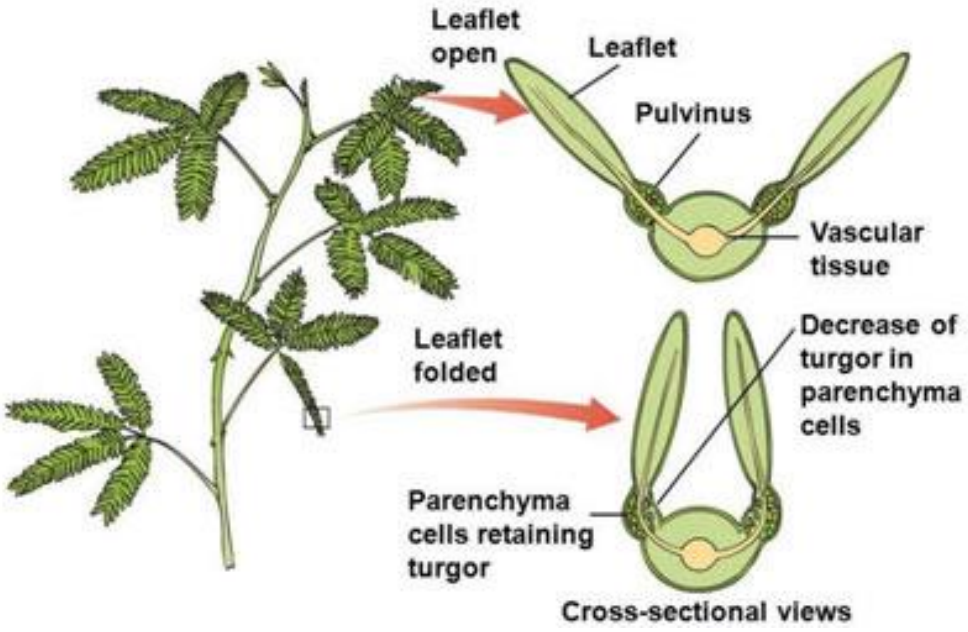

ا.د. ثامر عبد الله زهوان
ا.م.د. طه شهاب احمد

قابلة للانعكاس سواء كانت تضبط بواسطة الانتفاخ أو بتغيرات في معدلات النمو النسبي في قمة العضو أو أسفله.

**شكل 1. ارتخاء الأوراق وانتصابها**




**شكل 2. يبين الوسادة**



**الانتحاء باللمس:**

يطلق على الحركة الشاذة الناتجة من الملامسة بحركة اللمس وتتمثل هذه الحركات في أحسن أشكالها في نمو المحاليق وتظهر أيضاً في أعناق الأوراق والسوق وغيرها من الأعضاء في بعض النباتات. تمثل المحاليق أعضاء رفيعة في تركيبها سوقاً وأوراقاً أو وريقات متحورة. من الأنواع النباتية التي تحمل المحاليق العنب والخيار والبسلة، إذ تنثني قمم محاليق هذه النباتات نتيجة اختلاف معدلات النمو وتتحرك في الفضاء حركات دائرية بطيئة أثناء استطالتها. حال ملامسة المحاليق لجسم صلب تبدأ تفاعلات سريعة في النمو وينتج عنها انخفاض في الاستطالة للخلايا الموجودة في أحد الجوانب سريعاً ويؤدي إلى التفاف المحلاق حول الدعامة. تحدث هذه الحركات عادة في دقائق قليلة جداً. من الأمثلة الملاحظة أن نبات الست المستحية (*Mimosa*) عند معاملته بمستحث تنطبق أوراقه بسرعة (الشكل 2)، وكان لا يعرف بالضبط سبب الاستجابة. وحديثاً تم دراسة الإشارات الصادرة من نبات الست المستحية دراسة مستفيضة واتضح أن هناك استجابتين متميزتين ومسؤوليتين عن هذا الالتفاف إحداهما كهربائية والأخرى كيميائية.

**الحركات التأثيرية:**

يعد الأساس لمعظم الحركات في النمو الخلوي، وصنفت هذه الحركات تبعاً لطبيعة المؤثر أو المنبه (Stimulus) أو استجابة العضو النباتي الذي يتأثر باتجاه هذا المنبه أو مدى تركيز منظمات النمو النباتية في الخلية (يتم هذا النوع من الحركات بفعل مؤثر خارجي)، وأنواع هذه الحركات متعددة ومنها:

**أولا: الحركة الحرة:**

يلاحظ هذا النوع من الحركة في بعض النباتات المائية مثل طحالب اليوغلينا والكلاميدوموناس إذ تسبح هذه الطحالب باتجاه مصدر الضوء الخافت مما يؤدي إلى تغير لون المياه في البحيرات الساكنة التي تعيش فيها. ومن الملاحظ أن هذه الكائنات الحية (الطحالب) تسبح وتتجمع قرب سطح البحيرات في الصباح الباكر عندما يكون ضوء الشمس بعيداً عن سطح ماء البحيرة وبذلك يتغير بذلك اخضرار لون الماء.

**ثانياً: الانتحاءات:**

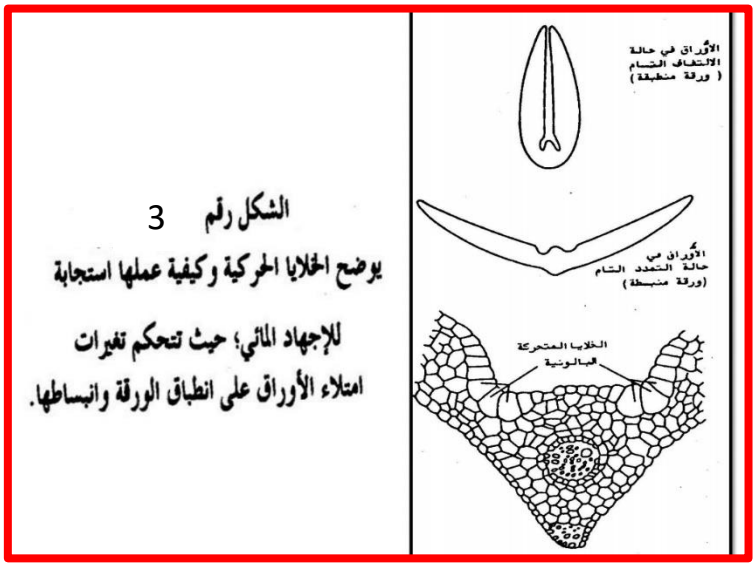
توجد في النباتات ظاهرتين طبيعيتان إحداهما تظهر على المجموع الخضري وتظهر الأخرى على المجموع الجذري. الظاهرة الأولى ومسؤوليتها توجيه الأجزاء النباتية هوائياً في اتجاه الشمس في وضع رأسي، ويطلق عليها الانتحاء الضوئي (Phototropism)، والثانية ومسؤوليتها توجيه الأجزاء النباتية

الأرضية في اتجاه الجاذبية الأرضية، سمي ذلك الانتحاء الأرضي الموجب (Positive geotropism) مثل نمو الجذور الرئيسية والأولية، وإذا كانت عكس ذلك أطلق علية الانتحاء الأرضي السالب ( Negative geotropism) كما في الانتحاء الأرضي الأفقي. أما إذا نمت الجذور نمواً مائلاً غير متعامد مع الجاذبية الأرضية فيسمى ذلك الانتحاء الأرضي المائل (Plagiogeotropic) كما في الجذور الثانوية. إذا نمت الجذور أفقياً متعامدة على الجاذبية أطلق عليها الانتحاء الأرضي الأفقي (Diageotropic) مثل الجذور التنفسية في نبات الشورى (القرم). قد تحدث الاستجابة للانتحاء الضوئي والأرضي بسبب تداخل عوامل كثيرة، ومن أهمها الاستجابة لاتجاه تدفق المنبه البيئي. عادة يتأثر اتجاه الاستجابة مباشرة بهذا المنبه وبالحالة الفسيولوجية للخلايا وبمدى اتساع العلاقة بين المنبه والجزء النباتي المستجيب فضلاً عن تأثير المحتوى الأوكسيني ومراكز إنتاجه ونشاطه الحيوي.

**1- الانتحاء المائي:**

إن الحركة المائية الشاذة (Hydronasty) مثل التفاف الأوراق النباتية استجابة للإجهاد المائي (Water Stress) بدلاً من الاستجابة للضوء. وهذا النوع من الحركة يقلل من تعرض سطح الأوراق إلى الهواء الجاف عن طريق قفل الثغور للتقليل من عملية نتح الماء فضلاً عن أن اختزال مساحة الورقة يقلل من التمثيل الضوئي. إن حركات التفاف الأوراق وثنيها ينتج عنها فقد الماء (فقد امتلاء الخلية) من الجدر الرقيقة للخلايا الحركية ويسمى هذا النوع من الخلايا بالخلايا الحركية البالونية (Bulliform Cells) (شكل 3). التي تتميز بوجود طبقة رقيقة جداً من الأدمة (Cuticle) أو بعدم وجود طبقة الأدمة مما يساعد على فقد الماء بسرعة أكبر من خلايا البشرة وينتج عن خروج الماء من الخلايا الحركية قلة في ضغط الامتلاء فيها مما يساعد على التفاف خلايا الطبقة السفلية.

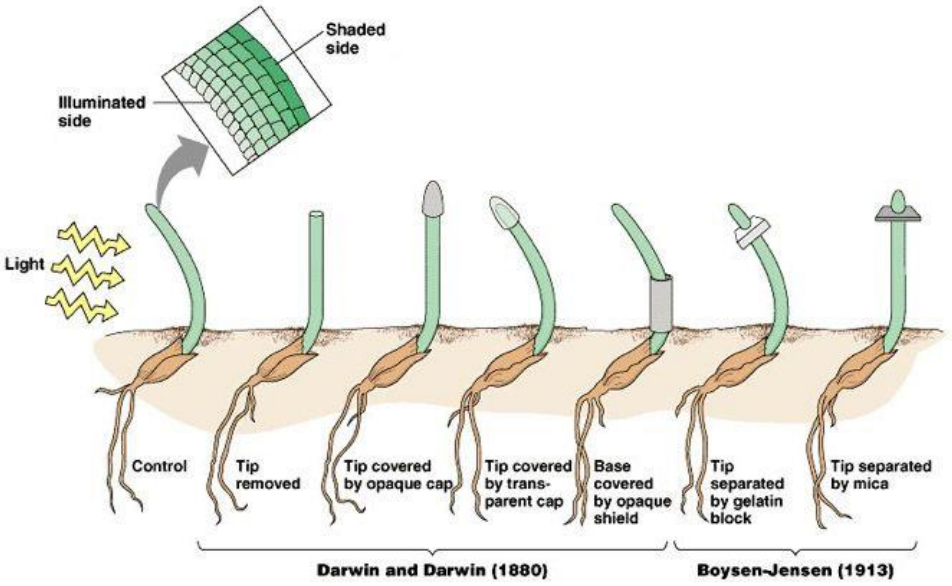
**شكل 3. يبين الخلايا الحركية**




**2- الانتحاء الضوئي:**

وصف داروين (Darwin) وكثير من العلماء العديد من التجارب في مجال انتحاء النباتات إذ لوحظ أن نباتات الحشائش وخاصة الأغماد الورقية لها انتحاء باتجاه الضوء وشملت دراستهم أيضاً نباتات من ذوات الفلقة الواحدة وذوات الفلقتين. لقد أشار داروين إلى أن تأثير كل من الضوء والجاذبية الأرضية على انتحاء الجذور والمجموع الخضري راجع إلى تأثير منبه في القمة وهذا التأثير من الممكن انتقاله إلى أجزاء أخرى في النبات. وتوصل داروين إلى أنه عند تعريض البادرات على وجه الخصوص غمد الرويشة (Coleoptile) لبادرات نباتات الحشائش إلى ضوء جانبي ينتج عن ذلك أن المؤثر ينتقل من الجزء العلوي إلى الجزء السفلي (غمد الرويشة) مسبباً انحناء الغمد (شكل 4). واتضح لداروين أن الغمد الورقي لنبات الشوفان ينحني باتجاه الضوء إذا غطي الغمد الورقي ويعني هذا وجود منطقة حساسة للضوء تحت القمة مباشرة مسؤولة عن هذا الانتحاء.

**شكل 4. يبين الانتحاء الضوئي**




مما لاشك فيه أن الانتحاء الضوئي ينشأ في النباتات الخضراء من القمة الطرفية للمجموع الخضري التي تعد واحداً من مراكز تكوين منظمات النمو النباتية لذا تعد المناطق الطرفية (القمة) مهمة لظاهرة الانتحاء الضوئي. واتضح من تجارب الانتحاء الضوئي أن الموجات القصيرة من الضوء لها تأثير واضح في الانتحاء الضوئي مقارنة بالموجات الطويلة، واتضح أيضاً أن شدة الضوء لها تأثيرات مختلفة، على سبيل المثال عند تعريض بادرات الشوفان النامية في الظلام الخافت (شدة اضاءة قليلة) ربما تنتحي سوقها إلى مصدر الضوء المسلط عليها بعد مرور أكثر من أربعين ساعة بينما عند تعريض البادرات نفسها لضوء شديد الكثافة فإن سوقها تنتحي بعد مرور دقائق قليلة فقط.

أوضح كثير من العلماء أن آلية الانتحاء الضوئي تعزى إلى عدم تساوي في سرعة الانقسام الخلوي والنمو على جانبي المجموع الخضري نتيجة لعدم توزيع هرمون الاوكسين بالتساوي على الجانبين (شكل 4) (جانب مواجه للضوء وآخر بعيد عنه)، وتصبح المحصلة النهائية لعملية الانتحاء الضوئي أن يكون الجانب المظلم (البعيد عن الضوء) أسرع في النمو من الجانب المضيء (المواجه للضوء)، مما ينشأ عنه حدوث الانتحاء في اتجاه مصدر الضوء. وربما يعزى تفسير آلية حدوث ظاهرة الانتحاء الضوئي إلى أن الجزء المواجه للضوء من العضو النباتي أقل سرعة في النمو من الجزء البعيد عن الضوء، ويعود هذا إلى تحرك هرمون الأوكسين إلى الجزء البعيد عن الضوء، ومن ثم تزداد فعالية الأوكسين الحيوية لاستطالة خلايا الجزء الاكثر

بعداً من فعاليته في خلايا الجزء المواجه للضوء مسبباً حدوث انتحاء العضو في اتجاه مصدر الضوء. قدمت نظريات لشرح آلية الانتحاء الضوئي في النباتات، من أهمها نظرية كولودني – ونت (Cholowdny-Went) التي تشير إلى وجود تركيز أعلى من الأوكسين في الجانب المظلم من التركيز في الجانب المضيء لغمد الريشة المعرضة للضوء من جانب واحد. يمكن أن يكون هذا التوزيع غير المنتظم للأوكسين نتيجةً لأن الضوء يحفز عدم نشاط الأوكسين في الجانب المضاء أو تثبيط الانتقال القاعدي للأوكسين. إن الملاحظات حول تفسير آلية الانتحاء الضوئي لا تميل إلى الإيضاح بأن الضوء يعمل عدم نشاط الأوكسين من الجانب المضاء إلى الجانب الظلم أو أن يعمل على تثبيط الانتقال القاعدي، ويعد هذا أكثر قبولاً لشرح آلية توزيع الأوكسين في السيقان والأغماد.

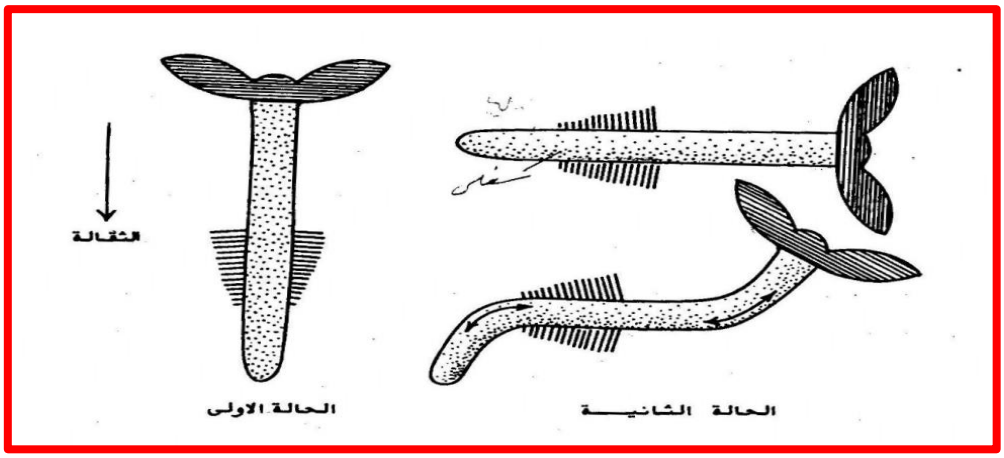
3- **الانتحاء الأرضي:**

يصبح حدوث الانتحاء الأرضي (Geotropism) في جذور البادرات الموضوعة أفقياً واضحاً بعد 30 إلى 60 دقيقة وتتجه القمة نحو الأسفل ويحدث الانتحاء في المنطقة الاكثر نمواً. يحدث الانتحاء الأرضي في منطقة استطالة الخلية على مسافة قصيرة من قمم الجذور والسيقان، ومع ذلك فإن منطقة الإدراك الحسي لتحفيز الجاذبية توجد في قمم الجذور وأغماد الرويشات. ويعقب التحفيز نقل الرسالة إلى منطقة الاستجابة وتكون الحساسية في سيقان البادرات لذوات الفلقتين أكثر من القمم كما تمتد أيضاً لمسافة قصيرة من المنشئ القمي. عند إزالة قمة العضو مع ترك منطقة الاستطالة غالباً ما يقضى على الاستجابة والجاذبية أو على الأقل يقللها بشدة. وجد في كثير من النباتات مثل الذرة *Zea mays* والبزاليا *Pisum Sativum* أن قلنسوة الجذر (Root cap) هي منطقة الإدراك الحسي ويعتقد أن إزالة القمة يسبب فقدان القابلية للاستجابة بسبب تأثير صدمة الجرح ولكن اتضح في كثير من الحالات أن النمو لا يثبط بإزالة القلنسوة على الرغم من فقدان الحساسية للجاذبية الأرضية. تستجيب قلنسوة الجذر إلى الضوء أو الجاذبية الأرضية عن طريق بناء مثبطات النمو أو تراكمها ويعتقد العلماء في الوقت الحاضر أن المثبطات تنتج في الجزء السفلي من القلنسوة استجابة للجاذبية ثم تنتقل في اتجاه قاعدة الجذر إلى منطقة الاستطالة وتثبط استطالة الخلايا في الجانب السفلي من الجذر وبناءً على مثل هذا النمو المتباين والمتفاوت في الجذر (بسبب زيادة تركيز المثبطات على الجانب السفلي) يحدث الانتحاء في الاتجاه السفلي (الأرضي).

**نظرية منظمات النمو:**

عند وضع علامات منظمة بالحبر الصيني على جذور بادرات الفول مثلاً بمسافة واحد ملم ثم وضع البادرات بعد ذلك في وضعها الطبيعي أي يكون الجذير متجهاً إلى أسفل فإن الجذير سينمو إلى أسفل باتجاهه الجاذبية الأرضية (شكل 5). وفي نهاية التجربة ستكون المسافة بين بعض العلامات أكبر من الأصل (واحد ملم). يفسر ذلك بأن النمو يقتصر على منطقة تبلغ مسافتها مليمترات قليلة خلف القلنسوة يطلق عليها منطقة الاستطالة (Region of elongation)، وهذه المنطقة هي الجزء الوحيد من الجذر الذي يستطيع أن ينمو باستطالة الخلايا.

**شكل 5. دور منظمات النمو في الانتحاء**




إذا وضعت علامات على بادرات أخرى مماثلة وأبقي على الجذر في وضع أفقي إلى خط قوة الجاذبية فإن الجذير سينحني إلى أسفل في اتجاه قوة الجاذبية إلى أن يصبح عمودياً ويستمر النمو في هذا الاتجاه لأن الانحناء مقتصر على منطقة الاستطالة. ولتفسير ما سبق: في الجذور تسبب الزيادة في تركيز الأوكسين فوق التركيز المثالي إعاقة لاستطاله الخلايا، بينما يستحث النقص في التركيز (أي كون التركيز أقل من التركيز المثالي) استطالة الخلايا. في الجذور الموضوعة في وضع رأسي (الحالة الأولى) يمر الأوكسين بالتساوي من القمة إلى الجذور إلى الأسفل. بينما في الجذور الموضوعة أفقياً (الحالة الثانية) وجد أن الأوكسين باتجاه الطبقة السفلى. أما في الطبقة العليا فيكون الأوكسين أقل من التركيز المثالي لذلك تكون ثمة زيادة واستطالة في الخلايا بينما يكون تركيز الأوكسين في الطبقة السفلى أكثر من التركيز المثالي لذلك يعمل الأوكسين على تثبيط استطالة الخلايا أو تكون الاستطالة قليلة جداً. ولهذا السبب نجد أن الجذور

تنحني إلى الأسفل باتجاه الجاذبية الأرضية وتستمر في النمو وذلك كما في الحالة الأولى. يكون الأوكسين موزعاً بالتساوي في قمة الجذر ويمر إلى الخلف بالتساوي على جميع جوانب منطقة الاستطالة. من ذلك يتضح أن الاستجابة لعملية الانتحاء الأرضي تحدث في مراحل وعلى فترات زمنية منفصلة وتتضح هذه الخطوات في حدوث الإدراك الحسي المحفز بالجاذبية الأرضية الذي تنتج عنة تغيرات أيضية في المنطقة الحساسة وانتقال التأثير الفسيولوجي (أو المحفز) إلى المنطقة التي يحدث بها رد فعل للانتحاء الأرضي والتي يعبر عنها باختلاف النمو على جانبي العضو.

من النظريات الأخرى التي وضعت لتفسير آلية الانتحاء الأرضي نظرية كولودني– ونت (Cholodny-Went)، التي تفترض أنه في حالة نمو العضو النباتي في الوضع الطبيعي يحدث معدل نمو متباين بسبب الاختلاف في تركيز الأوكسين المحفز أن استطالة الخلايا تنظم العضو النباتي بالأوكسين الذي يصل إلى الخلايا النامية متساوياً في جميع الجهات. ووجد عند وضع العضو النباتي (جذر أو ساق) أفقياً أن كمية الأوكسين تكون أكثر في الجزء السفلي مما هي علية في الجزء العلوي (شكل 5). من المعروف أن الأوكسين يبنى في منطقة المنشئ القمي للساق وينتقل بعيداً عن القمة إلى منطقة الاستطالة وينتج عن ذلك اختلاف في تركيز الأوكسين في الجزء السفلي وفي الجزء العلوي. ويوجد اختلاف حول أماكن بناء الأوكسين في الجذور إذ وجد أن بعض الأوكسينات تنقل إلى الجذور من قمم السوق فضلاً عن احتمال بناء إضافي من الأوكسينات المحفز للنمو من الجهات السفلية من الجذور. ولقد أوضح كثير من العلماء أن سبب الاختلاف في استجابة الجذر والساق يعود إلى اختلاف حساسية خلايا الجذور والسيقان للأوكسين، وأشاروا إلى أن خلايا الجذر أكثر حساسية لتراكيز الأوكسين المنشطة لنمو الساق بينما تعد في حد ذاتها مثبطة لنمو الجذر وافترضوا أن الزيادة في تركيز الأوكسين في هذا النصف يسبب انحناء الساق في الاتجاه الأعلى بينما يزداد الأوكسين في الجهة السفلى في الجذور الأفقية مسبباً تثبيط النمو والانحناء نحو الاتجاه السفلي. لقد افترض أنه ربما يكون تأثير الأوكسين في عملية الانتحاء الأرضي للجذر غير مباشر وذلك عندما يتم تثبيط النمو بالإيثيلين الذي يزيد من الاستجابة لزيادة تركيز الأوكسين فضلاً عن تدخل بعض مثبطات النمو الأخرى مثل الأبسيسيك (ABA). لقد وجد أن الجبريللينات والأوكسينات تتوزع توزيعاً غير متناظر في الانتحاءات الأرضية للجذور والسيقان المحفز كما وجد أن محتوى الجبريللين في الجذور أعلى على السطح العلوي منه على السطح السفلي آما في السيقان فيتجمع الجبريللين على الجزء السفلي وفي كل حالة يكون المحتوى

الأعلى للجبريللين على الجهة التي تظهر معدل نمو أعلى. عموماً، وجد أن المحتوى العام للجبريللين يزداد في الجزء الخضري بصورة ملموسة. ومما لا شك فيه أن قمة الجذر أو الساق تؤدي دوراً مزدوجاً في استحثاث عملية الانتحاء الأرضي كونها تعد منطقة إنتاج منظمات النمو والمنطقة الرئيسة لإدراك (Perception) المحفز.

**زراعة الأنسجة النباتية:**

إن زراعة الأنسجة النباتية هو النوع الذي يختص بزراعة أعضاء نباتية معينة في بيئات صناعية متخصصة كيميائياً وفسيولوجياً وحيوياً والتي تؤدي بدورها إلى إنتاج نباتات كاملة أو اعضاء نباتية للدراسة والتحليل ونعتمد في ذلك على أصل العضو النباتي المستعمل في البداية. فعلى سبيل المثال كوننا نبدأ بقمة جذور نباتية أو براعم قميه أو أبطية سوف ننتهي بعد مراحل عدة بتكوين نبات كامل يماثل خضرياً النبات أو لا يماثل النبات الأم لأسباب ما. وفي اختيارنا مثلاً لأعضاء أخرى كبروتوبلاست أجنة الطلع يمكن أن نقوم بدراسة وتحليلات أو انتاج نبات يمكن أن يختلف مظهريا عن الأصل ويمكن استعماله في تحسين محصول ما. من هذه التقنية الحديثة يمكن أن نتحكم في اختياراتنا بدقة لتعطينا نتائج مرادة ومطلوبة.

**تطور زراعة الانسجة النباتية:**

1- تكاثر النباتات بواسطة زراعة الانسجة يمكن أن يكون مبكراً جداً ففي عام 1902 كانت هناك محاولة ( Habertandt. G., 1902 ) ولأول مرة بإعادة نمو النباتات من خلايا فردية.

2- في عام 1934 White . ( White . P.R. 1934 ) أسس نباتاً نشطاً ومتكاملاً من جذور الطماطم. وفي أواخر الثلاثينيات ، كانت هناك تقارير لأول محاولة مطولة لزراعة نسيج نباتي غير منتظم ( Unorganized Tissue ) لنباتات الجزر.

3- تجارب كل من ( Skooge & Miller ) في عام 1957 قد وضحت أن اختلاف نسبة الأوكسينات والسيتوكاينينات تؤثر على نوع النمو أو اختلاف الشكل المورفولوجي في نباتات التبغ.

4- في عام 1962 أصدر ( Murashige & Skoog ) بيئة صناعية متخصصة لزراعة نباتات التبغ.

5- يمكن تحفيز البروتوبلاست كيميائياً لإعطاء نبات كامل ويمكن تهيئته فعلياً للاتحاد تحت ظروف متخصصة اختلق ( Carlesn et al ) في عام 1972 أول هجين فوق جنسي ( جسدي ) بعمل التحام بين بروتوبلاست لأثنين من نباتات التبغ.

**مراحل زراعة الأنسجة النباتية:**

العالم Murashige قسم الخطوات للتكاثر الخضري (Clonal Multiplication) إلى 3 مراحل:

1- تأسيس بيئة معقمة.

2- التكاثر.

3- التجذير وتحضير العينة للنقل للتربة.

**أولاً: المرحلة الأولى:**

الخطوة الأولى في زراعة خلية أو نسيج نباتي هو الحصول على عينة نباتية مناسبة. في معظم الأوقات أي نسيج أو عضو نباتي يمكن استعماله كعينة اعتماداً على الهدف المطلوب من الزراعة والنوعية النباتية المستخدمة الملوثات السطحية (البكتيريا والفطريات) يجب أن تزال قبل عملية الزراعة. وبصورة عامة فإن عملية التعقيم يمكن أن تتضمن واحداً أو أكثر من الطرق التالية:

1- العينة النباتية تغسل في ماء متحرك لساعة أو ساعتين وهذه الطريقة تقلص بشكل كبير مستوى الملوثات السطحية هذه الطريقة لا تؤثر على حيوية الأنسجة. أن الغسل الزائد يمكن أن يؤدي إلى تكسير مجمعات البكتيريا السطحية والفطريات مما يجعل الأنسجة سهلة للتعامل معها بالمواد المعقمة. كذلك يمكن أن تؤدي إلى نقص في حجم الملوثات السطحية.

2- الأنسجة النباتية يمكن أن تعامل بمحاليل معقمة لقتل بقية الملوثات السطحية. عملية تخفيف مسحوق الغسل العادي (5 – 6 % من هايبوكلورايت الصوديوم). كمية محدودة من المادة Tween 20 يمكن إضافتها لتخفيف الضغط عن الأنسجة النباتية 70 % إيثانول يمكن استعماله كذلك في عملية التعقيم.

3- بعد عملية التعقيم، تشطف العينة النباتية عدة مرات في مياه مقطرة وكل الأنسجة التالفة يتم إزالتها. تقسم العينة النباتية بعد ذلك في الأماكن المرادة ومن ثم تنقل إلى البيئة الغذائية الصناعية. الأنسجة التي يتحول لونها إلى البني مباشرة يمكن غمسها بمحلول السيترك والأبسوربيك (150-100 mg/Liter/Tissue) وذلك لمعادلة الأكسدة الناتجة (Morashige,1977).

بعض الأنسجة النباتية تحتوي على ملوثات داخلية والتي لا يمكن إزالتها بالطرق التقليدية وإضافة مادة البينوميل أو البينولان بنسبة 10 mg/L للبيئة الغذائية التي يمكن أن تكون فعالة في تقليل التلوث الفطري، ولكن البينوميل يستطيع أن يؤثر في نمو النبات بعد ذلك بطريقة عكسية. يمكن زيادة نسبة المضادات

الحيوية (Antibiotics) لتمنع نمو البكتيريا، ولكنها غالباً ما تضر بخلايا النبات وخاصة الخلايا التي تؤثر على عمل الرايبوزومات. وكأي مواد أخرى فإنه يجب تعقيم المضادات الحيوية فلترياً وليس حرارياً كونها بفعل الحرارة.

**ثانياً: المرحلة الثانية:**

بعض البدائل العملية استعملت للتكاثر الخضري للنباتات والتي تشمل ما يدعي زراعة المرستيم، تنمية البراعم الجانبية والقمية، تحفز التجذير العرضي وتكوين الأجنة الجسدي (Somatic Embryogenesis).

1- تنمية البراعم الجانبية والقمية: عملياً يمكن تحفيز نمو البراعم الجانبية والقمية للنبات بالبيئة الصناعية. فالبرعم الفردي الواحد يمكن أن يُنتج أكثر من ذلك. وبشكل نادر ما يحدث تكوين الكالَّس (Callus) ونمو أعضاء خضرية (Shoots) من المناطق المرستيمية في الكالَّس. إذا تكونت الأعضاء الخضرية من البراعم ومن ثم تكونت براعم على تلك الأعضاء الخضرية سوف يستمر هذا الطريق إلى ما لا نهاية. التكاثر الخضري بهذه الطريقة يعتمد ويُحدَّد بعدد البراعم المتاحة. وبشكل خاص فهذه الطريقة يمكن تطبيقها في بعض الأصناف النباتية الخشبية التي تحتوي على براعم عرضية أو التي بها ظاهرة تكوين الأجنة الجسدي غير ناجحة.

2- تنمية التجذير العرضي: في العديد من الأنواع النباتية يمكن تحفيز نمو الأعضاء النباتية (الجذور، المجموع الخضري، الأبصال) على أنسجة لا تحتوي عادة على هذه الأعضاء. إن التكوين العضوي العرضي (Adventitious Organogenesis) طريقة لها أهميتها الأكثر من الطريقة الأولى في مجال التكاثر الكمي للنباتات. إن الورقة الواحدة على سبيل المثال يمكن أن تنتج الآلاف من البراعم والمجاميع الخضرية ووراثياً مطابقة تماماً للنبات الأم. ومن الجذير بالذكر أن هناك الكثير من الأصناف التي يمكن تكاثرها بواسطة هذه الطريقة.

**ثالثاً: المرحلة الثالثة:**

يمكن للمجموع الخضري المتكون في البيئة وبشكل تلقائي أن ينتج جذوراً ولكن في أغلب الأوقات نحتاج إلى نقل المجموع الخضري إلى بيئة أخرى لتحفيز عملية التجذير. من المعروف أن النباتات المزالة من البيئة عادة ما تفقد كميات كبيرة من الماء وذلك عن طريق الأوراق إذا ما نقلت إلى التربة مباشرة. تبعاً

لذلك فإن إمكانية استمرار نمو النباتات غير المحمية قليلة جداً، يمكن أن يؤدي إلى ذبول النبات عند نقله للتربة. إن مشاكل الذبول يمكن حلها ببعض الطرق. (Murashige , 1977) أقرَّ أن الكثافة الضوئية العالية (3000 – 10,000) يمكن أن تساعد على بقاء النباتات الصغيرة. كذلك فإن إبقاء النباتات حية يعتمد على تغطية النباتات بغطاء بلاستيكي أو زجاجي مع توفر رذاذ الماء لأسبوعين أثناء وجودهم في التربة. وإن هذا الغطاء يجب أن يزال تدريجياً ليساعد النباتات على الأقلمة مع بيئة البيوت المحمية.

**العوامل المؤثرة في نجاح زراعة الأنسجة النباتية:**

إن هناك العديد من العوامل التي تؤثر على نجاح عملية تحفيز التكوين المورفولوجي السليم في الخلية النباتية باستخدام زراعة الأنسجة:

**1- البيئة المغذية:**

من أهم العوامل المتحكمة في نمو وتكوين مورفولوجيا النبات النسيجية هي محتوى البيئة الغذائية، وبشكل عام بيئة زراعة الأنسجة النباتية تحتوي الأملاح المعدنية، كاربون، مصدر للطاقة، فيتامينات، وعوامل نمو (Growth Regulators) ومركبات عضوية أخرى.

أ- **الأملاح المعدنية:** دُرسَ المحتوى الملحي للعديد من البيئات الزراعية من قبل ( Hunag & Murashige , 1977 ) وتعد بيئة Murashige & Skoog ، هي البيئة الأكثر شيوعاً في الدراسات البستنية ، وهي تحتوى على نسبة عالية من النترات ، البوتاسيوم ، والأمونيا. وعلى الرغم من ذلك تم استعمالها لنمو العديد من الأصناف النباتية مع تخفيضات مناسبة. إن الحديد هو مادة مهمة في البيئة للنمو وللتكوين المورفولوجي للعديد من الأنواع. الحديد يتواجد في أشكال عدة منها حمض النترات، وحمض الترترات والتي هي صعبة الذوبان ومن الممكن أن تترسب بعد تحضيرها مباشرة. كل من Skoog & Murashige استعملا EDTA كشكل من الحديد للتخلص من هذه المشكلة.

ب-**الكاربون ومصدر الطاقة:** إن المصدر الأفضل لمادة الكربون لزراعة الأنسجة النباتية هي مادة السُكروز (Sucrose). كما يمكن إستعمال كل من مادتي الكلكتوز والفركتوز في بعض الحالات، أما بقية السكاكر فيعتبروا مصادر فقيرة بالكاربوهيدرات للنبات.

ت-**الفيتامينات:** أوضح Linsmair & Skoog (1965) أن لنبات *Nicotiana tabacum* احتياجه الأكيد للفيتامينات وذلك لنمو الكالس. بيروكسيدين، حمض النيكوتين، حمض البيوتين، هي مواد يمكن إزالتها من البيئة من غير التأثير على نمو الكالّس ومن ثم النبات. مادة رايبوفلافين تعمل على إيقاف أو منع النمو بينما حمض الفوليك وPABA (p-amino-benzoid acid) يزيدان من النمو النباتي ومع ذلك فلا يعتبرا ضروريين في البيئة. تعتبر مادة الثيامين ضرورية لنمو الكالّس في نبات التبغ وعادة ما يستعمل في زراعة الأنسجة بمستويات تتباين بين (0.1 mg/L – 1.0 mg/L) حمض الأبسوربيك يزيد من النمو حينما يكون مستوى الثيامين أقل من المستوى الأمثل. بشكل عام عندما تكون المتطلبات الغذائية لبعض الأصناف النباتية غير منشورة أو معروفة، تضاف الفيتامينات للبيئة المستخدمة كمقياس للحيطة لا أكثر.

ث-**الأوكسينات والسيتوكاينينات:** الدراسات المبكرة (Skoog & Miller , 1957) والتي أشارت إلى أن نسبة الأوكسينات والسيتوكاينينات تحدد نوع ومدى التكوين العضوي أثرت بشكل كبير على الدراسات التابعة لها. وإن كانت لا تتوافر لدينا نسب عالية للتجذير أو التحضير، فإن كل هرمونات الأوكسين والسايتوكاينين تضاف إلى البيئة للحصول على تكوين شكلي للنبات. وحيث أن هناك اختلافات في الاحتياج الكمي لمستوى الهرمونات المتطلبة للتكوين الشكلي بين الأصناف وكذلك بين النوعيات الجينية فإن المستويات الصحيحة لهذين الهرمونين يجب أن تقرر لكل نوع نباتي أو تحت – النوع النباتي تحت الدراسة. وإن هذه المستويات تبلغ في الدقة بحيث يمكن أن تختلف في نفس النبات. إن الأوكسينات الشائعة الأستعمال هي:

2,4 dichlorophenox- ،3-indolebutyric acid (IBA) ،3-indoleacetic acid (IAA)
4- ،2.4,5 trichlorophenoxy acetic acid (2,4,5-T) ،yacetic acid (2,4-D)

السايتوكاينينات الشائعة هي Fur furyt-amino purine (Kinetin)
6-(-4-hydroxy-3-mythyl-trans-2-butenyl amins وتعرف بـ(Purine) أو (Zeatin)

ج- **المركبات العضوية الأخرى:** إن النباتات الخضراء تستطيع، بوجود المواد الضرورية الخام، أن تقوم بإنتاج كل الأحماض الأمينية المستعملة في تخليق البروتينات. وفي بعض الحالات التي نعرف فيها المتطلبات الغذائية للنباتات ويمكن أن تضاف مخاليط من الأحماض الأمينية (مثل Hydrolysate Casen بنسبة 0.1 – 0.05 ) ( Hunag & Murashige , 1977 ) للبيئة. وكمصدر للأمونيا يمكننا إضافة مادتي L-glutamine و D-asparagine بنسبة 100 mg/L . مادة سلفات الأدينين Adenine sulfate تساعد على زيادة تكوين المجموع الخضري والنمو بشكل عام. معظم تأثيرات هذه المادة قد تم مراجعتها من قبل ( Murashige , 1974 ). إن إكتشاف مادة Myo-inositol الموجودة في حليب جوز الهند والعلم أن لها فاعلية تحفز للنمو أدى إلى وجوب إدخال هذه المادة إلى بيئة زراعة الأنسجة ( Pollard et al , 1961 ). إن هذه المادة تدخل كيميائياً في عمل الدهنيات الفوسفاتية ( Phospho Lipids ). البكتين للجدر الخلوية ، وكذلك في نظام الغشاء السيتوبلازمي الخلوي. تساعد هذه المادة كما قلنا ، على تحفيز النمو في العديد من الأنواع النباتية مثل *Pelargonium hortorum* بتركيز 50 – 100 mg/L وضرورية كذلك لنمو الكالّس في نبات *Fraxinus pennsylvanica* وفي عملية التنظيم الوظيفي للخلايا ( Differentiation ) في جنس ال Haworthia . إن الاندويسيرم السائل في جوز الهند يحفز كذلك على نمو وتنظيم الخلايا في حلقة واسعة من النباتات. وكما أن الحليب هذا يحتوي على أحماض أمينية حرة مثل Phenylalanine والذي يمتلك فاعلية لتحفيز الانقسام الخلوي في نباتات الصويا. إن إضافة الفحم المنشط ( AC ) بصورة مميزة إلى النسيج النباتي في بيئة ما يمكن أن يكون له آثاره الضارة أو النافعة. من النوافع هي تحفيز النمو ، التكوين العضوي والتكوين الجنيني في الجراثيم الصغرى الخلوية لنباتات التبغ ، لأنسجة نبات *Funaria* *Protonema* ، في نباتات الأوركيد Orchida ، أجنة ثمار البلح ، القمة الخضرية للخنجر وللبصل ، والجزر البري ، ومضار مادة ال AC أنها تمنع النمو المتكامل في نبات الصويا ، وفي كالّس التبغ. آثار ( AC ) يمكن أن تظهر ونعرف بثلاثة عوامل : 1- دَكَانة البيئة 2- امتصاص البيئة للمركبات المانعة للنمو 3- امتصاص البيئة لهرمونات نمو النبات.

**2- العينة النباتية:**

العينة النباتية هي قطعة من نسيج أو عضو نباتي يتم ازالته من النبات المراد أحضاره أو دراسته. نجاح العينة النباتية يتأثر بعدد من العوامل في النبات نفسه مثل النوع الجيني، حجم العينة، وعمرها الفسيولوجي ، وأصل النسيج أو العضو النباتي المستخلص من النبات.

أ- حجم العينة النباتية: كقاعدة عامة العينات الصغيرة الحجم تكون نسبة بقائها حية قليلة . وهذا صحيح بالفعل لكل من الأنسجة والكالّس. عندما تكون العينة النباتية كبيرة الحجم ( 0.5 mm ) ، فإن المجموع الخضري يقل في حجمة ، وهذا ربما يكون بسبب وجود طبقة نسيج تحت قميه. إن عدد المجموع الخضري كذلك يمكن أن يتأثر بحجم العينة . القمم الخضرية ل Chrysanthemum وحجمها مابين (0.2 – 05 mn ) والمرستيم الخضري 0.2 – 0.5 mm ( ) أنتج فقط ساقاً خضرياً واحداً بينما الحجم الأكبر ( 0.5 – 1.55 mn )طولاً انتجت عدة سيقان خضرية.

ب-مصدر العينة النباتية: الدراسات المبكرة لزراعة خلايا التبغ أدت إلى مقترح أن الخلايا النباتية بعكس الخلايا الحيوانية ، تملك مقدرة على إستعادة القدرة لتكوين الأجنة ( Totipotency ). وعملياً إن الأنسجة النباتية والتي تستعيد القدرة لتكوين أجنتها محدودة العدد أن القدرة على خلق جنين أخر مثلاً يعتمد على نوع النسيج والنوع النباتي. وإن الخلية النباتية ، حتى وإن لم تكن أجنة ، يمكنها تكوين أعضاء نباتية أخرى. وإن هذا المنطلق للخلية النباتية يعرفه علماء الحيوان ب الأصرار ( Determination ) وإن نسبة هذا الإصرار تختلف من خلية لأخرى. في أي نبات: الأنسجة تختلف في نسبة إصرارها وبالتالي في قدرتها على التكوين المورفولوجي للنبات.

ت-العمر الفسيولوجي للعينة النباتية: إن العمر الفسيولوجي للعينة النباتية تؤثر على نوع وطول مدة التكوين المورفولوجي. الأنسجة ذات العمر الأقل ، والأقل في مستوى تنظيمها الوظيفي والتي تتواجد في مرستيم النبات كانت ناجحة في حلقة واسعة من الانواع النباتية. وبشكل عام ( للأنسجة المرستيمية ) كلما كان العمر الفسيولوجي قليلاً كانت نسبة النجاح أعلى. أنسجة الأجنة والنباتات الصغيرة جداً لها القدرة الأكبر للتجديد النموي.

**3- الضوء:**

أن زراعة الخلايا النباتية عادة ما يتم في الظلام وللكثير من الأنواع النباتية. والبيئية التي تحتوي على مادة السكروز عادة ما تجعل النبات غير محتاج للضوء للقيام بعملية التمثيل الضوئي. لكن الدراسات أثبتت أن للضوء دور مهم في تحفيز التكوين العضوي للنسيج في العائلة Iridaceae يمكن للكالّس المزروع في الظلام أن ينتج مجموعاً خضرياً حين نقله للضوء. وجد أن الضوء عامل مهم جداً في استبداء المجموع الخضري ولنمو الجذور التكوين للنبات يتم بواسطة عامل الضوء يمكن أن يكون له علاقة مباشرة أو غير مباشرة ، بتراكم النشا في خلايا معينة عبر عملية التمثيل الضوئي. وقد وجد أن هناك تراكم عالي للنشا في الخلايا الكالسية لنبات التبغ والتي أدى إلى تكوين بداية برعمية للنبات. وإن الخلايا التي لم تتمكن من تكوين برعمه لم تكوّن النشا أصلاً. ثم اقترح أن النشا هو مصدر للطاقة لانتاج المجموع الخضري.
إن تراكم النشا يزداد في وجود السايتوكاينينات خاصة Kinetin . تقترح ضمنياً أن عملية التمثيل الضوئي وتراكم النشا هما عاملان محددان للتكوين المورفولوجي تأثيرات الضوء يمكن أن تُقسم إلى الوقت الضوئي ، كثافة الضوء ، الطول الموجي.

أ- الوقت الضوئي: دراسات مبكرة أشارت إلى أهمية الضوء في إثارة نمو البراعم للنباتات. إن فاعلية الوقت الضوئي ، يختلف من صنف إلى آخر. التجارب للتعريض الضوئي من قبل النبات تحت الزراعة يعتمد على المستوى الداخلي للأوكسينات والسيتوكاينينات.

ب-الطول الموجي: الكثير من الأحداث المتعلقة بالتكوين المورفولوجي – الضوئي تتحكم بها ما يدعى بالفايتوكرومات ( PAHYTOCHROMS ) والتي هي صبغات نباتية متواجدة بكل مكان ولها إمتصاص ضوئي أقصر ب ( Pr ) 660nm ، بالتعريض للضوء الأحمر ، الفايتوكروم يمكن أن يتحكم في التطورية للنبات عن طريق تنشيط جينات معينة ، وقف تنشيط الجينات ، أو كلاهما معاً. القسم الآخر من الاستجابة هو التعريض للضوء الأزرق. الصبغات الرئيسية في النبات والخاصة بالتمثيل الضوئي هما كلوروفيل a وكلوروفيل b ولهما درجات إمتصاص للضوء الأحمر والأزرق. كلوروفيل a لها معدل امتصاص 680 nm – 440 بينما الآخر – 470 650 nm وكلاً من الأحمر والأزرق ضروريان للتمثيل الضوئي. من الصبغات الرئيسية الأخرى

للتمثيل الضوئي هي Carotenoids و Xanthophyll Iutein ودرجات الامتصاص لهم يتراوح ما بين 400 – 500 nm .

ت–الكثافة الضوئية: أن الكثافة المثلى لزراعة الأنسجة الداخلية يمكن أن تختلف تبعاً لاحتياجات النبات نفسة ( Murashige, 1974 ). الضوء الأمثل للأنسجة المزروعة في المرحلة الأولى والثانية حوالي 1000 Lx ( Murashige, 1974 ) وللمرحلة الثالثة تتراوح ما بين 10,000 -3000 Lx الكثافة الضوئية الأعلى عامة نزيد من إمكانية أقلمه النبات حين نقلة للتربة.

**4– درجة الحرارة:**

الدراسات الأولية على نمو الخلايا النباتية أشارت بأن درجة الحرارة المثلى هي ما بين 28 – 26 C ولكن الأنواع النباتية تختلف بشكل كبير فيما بينها. بشكل عملي تعتبر درجة حرارة الغرفة 25 C هي المثلى للزراعة الداخلية. إن الحرارة المنخفضة يمكن أن تحفز أحداث مورفولوجية متميزة.

زراعة الأنسجة النباتية تتأثر كذلك بتبادل درجات حرارة الليل ودرجات حرارة النهار. فمثلاً التكوين الجذري لنبات Helianthus tuberoses كان الأفضل في تعاقب درجات حرارة الليل والنهار ( Guatherete, 1969 ). يمكن أن تؤثر درجات الحرارة كذلك على نوع الحدث المورفولوجي.

**5– الغازات (مرحلة الغاز):**

سبب آخر لاختلاف الاستجابة للأنسجة المزروعة هو مرحلة الغاز. إن الاستعمال الشائع اللهب لتعقيم الأواني المستعملة في الزراعة تؤثر على الزراعة نفسها وفي الغالب تحفز وجود نسبة عالية من الإثيلين في تلك الأواني. وهذا يحدث في الحالة الغازية أو اللهب الكحولي. معظم الغاز ينتشر في الهواء خارج الأواني بمدة 2hr ، ولكن إذا كانت الأواني محكمة الغلق ، نسب عالية من الإيثيلين يمكن أن تبقى لمدة طويلة ، أن هذه النسبة العالية أدت إلى تكوُن عادي للكالَس.