الفصل الأول

بعض المصطلحات الأساسية والهامة في زراعة الأنسجة النباتية

1- **الأنسجة المرستيمية Meristem tissue**:

يشكل المرستيم الوحدة الأساسية في إكثار النباتات بزراعة النسج. يتألف من كتلة خلوية متراصة ومتجانسة، ذات بنية أولية غير متمايزة ولها قدرة كبيرة على الأنقسام وتشكيل أعضاء جديدة. تتصف الخلايا المرستيمسة بصغر حجمها، كبر النواة كثيفة السيتوبلاسم وهي غنية بالريباسات، وتكون العلاقة النووية السيتوبلاسمية كبيرة، وذات جدر رقيقة وتحوي صانعات غير متمايزة وتكون شبه خالية من المكتنفات العاطلة والفجوات. تنقسم خلايا المرستيم انقسامات ميتوزية وتعطي خلايا جديدة تشابة النبات الأم الذي أخذ منه المرستيم.

تقسم الأنسجة المرستيمية في النباتات الراقية إلى عدة أنواع:

1-1- الأنسجة المرستيمية الأولية وتشمل :

1-1-1- الأنسجة المرستيمية الجذرية : وهي تعمل على تشكيل المجموعة الجذرية ونموها في جميع الاتجاهات. ويمكن تمييز منها عدة أنواع :

- الأنسجة المرستيمية الجذرية الطرفية : وهي أنسجة المرستيم الموجودة في قمة الجذور وتعمل على نمو الطولي للجذر وتشكيل الجذور الجانبية.
- الأنسجة المرستيمية الجذرية الجانبية: تعمل على تكوين التفرعات الجانبية للمجموعة الجذرية.
- الأنسجة المرستيمية الجذرية العرضية: تتكون على أجزاء نباتية لا تحوي بالأساس على مجموعة جذرية، مثل الجذور العرضية التي تتشكل في الإكثار الخضري .

1-1-2 - الأنسجة المرستيمية الخضرية: وهي تعمل على تكوين المجموعة الخضرية للنباتات ونموها. يوجد عدة أنواع من الأنسجة المرستيمية الخضرية :

- المرستيم القمي الخضري : ويتواجد في البراعم الطرفية من النموات الخضرية.
- المرستيم الخضري الجانبي : ويتواجد في البراعم الجانبية.
- المرستيم الخضري العرضي : نميز نوعين من الأنسجة المرستمية العرضية . النوع الأول ويوجد في البراعم الراقدة والعرضية .وتكون موجودة أصلا في الأنسجة النباتية . النوع الثاني يتكون على أنسجة لاتحوي بالأصل على براعم (Margara,1982).
- المرستيم الورقي والذي يتكون من المرستيم القمي ويتطور ويشكل

الورقة.
- المرستيم الزهري : والذي يتواجد في البراعم الثمرية والزهرية وعند تطوره يشكل الأزهار والثمار فيما بعد.

2-1- الأنسجة المرستيمية الثانوية : تتواجد في أنسجة نباتات ثنائية الفلقة طبقة كاملة من الخلايا بشكل حلقة تدعى الكامبيوم . وهي طبقة من الخلايا المنتظمة والمتراصة تتوضع بين الخشب واللحاء في نباتات ثنائية الفلقة . تتصف طبقة الكامبيوم بالقدرة على الانقسام ، وهي المسؤولة عن النمو العرضي في الساق والجذر. ولهذه الطبقة أهمية كبيرة في الإكثار الخضري ، فهي تعمل على تكوين الجذور العرضية في النباتات المكاثرة بالعقل أو بزراعة النسج. أما في النباتات وحيدة الفلقة تكون خالية من طبقة الكامبيوم ، وتتواجد بدلا عنها نقاط أو مناطق مرستيمية بينية تحت البراعم لها قدرة على الانقسام والتعضي.

3-1- التمايز الخلوي Differentiation:

يقصد به اكتساب الخلايا تدريجيا صفات نسيج معين بحيث تصبح في المستقبل جزءا من النسيج الذي اكتسبت صفاته. تفقد الخلايا المتمايزة بشكل تدريجي قدرتها على الانقسام الخلوي ، ويلاحظ تغييرات سيتولوجية وبيوكيميائية وشكلية على الخلايا المتمايزة. يزداد حجم الفجوات وتكبر الخلايا وتصغر العلاقة النووية السيتوبلاسمية بالتدريج ، كما تزداد سماكة الجدر الخلوية وتتكشف الصانعات بشكل واضح مع تقدم درجة تمايز الأنسجة. تختلف الأنسجة النباتية بحسب درجة تمايزها.

3-1- التمايز الرجعي Dedifferentiation :

وهو قدرة بعض خلايا الأنسجة المتمايزة على العودة إلى الوراء واكتساب صفات الخلايا المرستيمية من جديد، حيث تستعيد قدرتها على الأنقسام . ليس لسائر الأنسجة النباتية قدرة على التمايز الرجعي ، فعندما تصل الأنسجة النباتية إلى مرحلة متقدمة من التمايز تفقد قدرتها على التمايز الرجعي كما هو الحال في الأوعية الخشبية أو الغربالية. تستطيع الأنسجة التي لم تصل إلى مرحلة متقدمة من التمايز أن تستعيد قدرتها على الأنقسام واكتساب صفات الأنسجة المرستيمية، كما هو الحال في الأنسجة البارنشيمية . ولهذه الخاصية أهمية كبيرة في مجال زرع الأنسجة النباتية، وخاصة فيما يتعلق باختيار الأجزاء النباتية لزراعة النسج.

4-1- الطاقة الخلوية الكامنة Totipotency :

يقصد بالطاقة الخلوية الكامنة وهي قدرة التي تتمتع بها الخلايا النباتية على تشكيل نبات كامل . وهذا مايطلق عليه ظاهرة التشكل أو الregeneration . نظريا كافة الخلايا النباتية تتمتع بهذه القدرةعلى التشكل ، بعكس الخلايا الحيوانية التي لاتتمتع بهذه الظاهرة سوى البيضة الملقحة. عمليا كل خلية نباتية لها قدرة على الانقسام أو لها قدرة على التمايز الرجعي تتمتع بقدرتها على تشكيل نبات كامل. فمن الممكن الحصول على نبات كامل بدءا من خلية نباتية تنقسم وتتطور في أوساط غذائية محددة التركيب كما هو الحال بزراعة الخلايا ضمن معلق خلوي أو زراعة البروتوبلاست. والأمثلة كثيرة في هذا المجال ضمن المملكة النباتية.

1-5- الكالوس Callus:

وهي كتلة خلوية غير متمايزة تنشأ من مصادر نباتية مختلفة تحت تاثير هرموني وهي تنمو وتنقسم بشكل عشوائي، ولها أشكال وألوان وقساوة مختلفة. تتمتع بعض أنواع الكالوس بالقدرة على تكوين أجنة خضرية ويطلق عليه الكالوس الجنيني Embryogenic callus ، وتتمتع أنواع أخرى بتشكيل براعم وجذور وذلك حسب تركيب الأوساط المغذية، ويدعى في هذه الحالة Organogenic callus. ويوجد أنواع من الكالوس الهشة او الصلبة او الرخوة التي ليس لها قدرة على تكوين نباتات كاملة، تتكاثر وتعطي نمو عشوائي للخلايا. وللكالوس وأنواعه أهمية كبيرة في إكثار والتحسين الوراثي للنباتات بهدف الحصول على سلالات أو أصناف جديدة مقاومة للإجهادات الحيوية واللاحيوية .

1-6- السلالة الخضرية Clone :

وهي مجموعة نباتات نتجت من نبات واحد وتكون متشابهة فيما بينها من الناحية الوراثية والمورفولوجية والإنتاجية. وكل نوع نباتي يتم إكثاره بالأنسجة بدءا من نبات أو عدة أجزاء نباتية مأخوذة من نفس النبات يطلق على عملية الإكثار اسم تشكيل السلالات الخضرية Clonage .

1-7- التجذير Rhizogenesis :

قدرة العينات النباتية المختلفة على تكوين الجذور في وسط خاص بالتجذير Rooting medium . وتختلف قدرة النموات الخضرية على التجذير باختلاف الأنواع النباتية كما هو الحال في إكثار بالعقل . تعد عملية التجذير أحد المراحل الأساسية في التكاثر الخضري الدقيق . وتتكون الجذور عادة من طبقة الكامبيوم بشكل أساسي أو من بعض الأنسجة التي لها قدرة على التمايز الرجعي مثل الأنسجة البارنشيمية وبارنشيم الخشب واللحاء بشكل ثانوي بشرط وجود العناصر الضرورية والمناسبة للتجذير.

1-8- التبرعم Bud proliferation :

لابد من التمييز بين نوعين من تكوين البراعم في الأجزاء النباتية المزروعة.
النوع الأول: ويقال له النمو الطبيعي للبراعم Bud Formation. وفي هذه الحالة تنشأ وتتكون براعم جديدة من نمو البراعم الموجودة أصلا في الأجزاء النباتية المزروعة قد تكون البراعم الموجودة براعم جانبية أو براعم طرفية أو براعم عرضية . مثال عليها تكوين النموات الجانبية الجديدة في طور الإكثار نتيجة توفر الشروط المناسبة للنمو والإكثار.
النوع الثاني ويقال له تخليق البراعم Bud Neoformation : وهي قدرة الأجزاء النباتية الخالية من البراعم على تكوين البراعم الخضرية كما هو الحال عند تشكيل براعم بدءا من الكالوس المزروع في وسط مغذ مناسب ويطلق على ذلك تكوين البراعم الخضرية الغير مباشر Indirect Organogenesis . ويمكن أن تتكون البراعم مباشرة على أجزاء نباتية دون المرور بمرحلة الكالوس على أوراق أو أعناق وتدعى في هذه الحالة التكوين المباشر للبراعم Direct Organogenesis .

1-9- تكوين الأجنة الخضرية Embryogenesis :

وهي المراحل المتعاقبة التي تؤدي لتكوين الأجنة في أجزاء نباتية مختلفة. ويوجد عدة أنواع من الأجنة:
- الأجنة الجنسية التي تنتج من نمو البويضة الملقحة الناتجة من اتحاد العروس المذكرة مع العروس المؤنثة في الأزهار ، بفعل عملية التلقيح وعندما تنمو تكون الأجنة الجنسية. وتوجد فقط في بذور النباتات المختلفة.
- الأجنة الخضرية التي تتكون في بعض أنواع بذور النباتات بشكل طبيعي . يلاحظ في بذور بعض أنواع النباتات كالحمضيات والمانجو وجود عدة أجنة خضرية إلى جانب الجنين الجنسي وتنشأ بشكل طبيعي بدءا من أجزاء جسمية مثل خلايا أنسجة النوسيل ويطلق عليه مصطلح آبوميكسي Apomixy. كما يمكن ان تتطور الأجنة الخضرية من الخلايا المساعدة في الكيس الرشيمي وقد تعطي أجنة أحادية او ثنائية الصيغة الصبغية.
- الأجنة الخضرية المحدثة بشكل تحريضي: وتتكون بدءا من أجزاء نباتية مختلفة (كالوس، خلايا مفردة، حبوب لقاح ، وبروتوبلاست) عند زراعتها في أوساط مغذية خاصة.
وقد تتكون الأجنة مباشرة دون المرور بمرحلة الكالوس وتدعى العملية في هذه الحالة Direct Embryogenesis . أوتتكون بعد تكوين الكالوس وتسمى Indirect Embryogenesis . وقد تكون الأجنة الخضرية المتكونة وحيدة أو ثنائية الصيغة الصبغية في حال تكونت من زرع حبوب اللقاح. أما إذا نتجت من زراعة أجزاء نباتية أخرى مثل الكالوس أو البروتوبلاست فتكون في هذه الحالة ثنائية الصيغة الصبغية(Margara,1982; Zryad,1990; ALMaarri 1995).

1-10- التشكل النباتي Morphogenesis :

تختلف قدرة الأجزاء النباتية المزروعة على النمو والتشكل باختلاف الأنواع النباتية، وباختلاف الأجزاء النباتية ، وطبيعة الجزء النباتي المزروع، ففي بعض الأنواع يلاحظ قدرة الأوراق على تكوين نباتات كاملة أكثر من أنواع أخرى، وقدرة التشكل مرتبطة بعوامل فيزيولوجية ووراثية.
من العوامل الفيزيولوجية المحددة لاختيار الجزء النباتي، والذي له علاقة مباشرة بزراعة النسج هو عمر النبات الأم فكلما كان النبات الأم فتي Juvenile كلما كانت قدرته كبيرة على النمو والإكثار بالنسج. والقدرة على التشكل والنمو تنخفض مع تقدم النبات بالعمر، حتى تصل إلى مرحلة التوقف في النباتات الهرمة. وهذا الأمر يلاحظ بشكل كبير في الأشجار الخشبية والحراجية.
إذا أردنا إكثار شجرة معمرة لتميزها في بعض الصفات الجيدة ، لا بد من إجراء عملية إعادة فتوة أو ما يسمى تجديد فتوة Rejuvenation حتى تستعيد قدرتها على الإكثار والتجذير بالنسج.
تعد تقنيات زرع الأنسجة النباتية إحدى الطرائق الهامة في تجديد فتوة الأشجار المعمرة ، حيث تكتسب الأجزاء النباتية المزروعة بالأنابيب صفات النباتات الفتية مع زيادة عدد مرات النقل على الوسط المغذي والأمثلة كثيرة على ذلك. في البطاطا العنب ، الجربيرا وفي النخيل (Auge et al.,1984; AlMaarri,1995.).

1-11- In vitro :

مصطلح لاتيني يعبر عن زرع خزعات نباتية معزولة من النبات الكامل في وسط مغذي صنعي في الزجاج داخل المختبر لتحفيزه على النمو والإكثار.وتكون النباتات الناتجة غير ذاتية التغذية.

1-12-زرع في الشروط الطبيعية *Ex vitro* or *In vivo*

مصطلح لاتيني يعبر عن نقل النباتات المكاثرة بالزجاج وزرعها في الشروط الطبيعية في التربة أو في أصص في خلطات زراعية حتى تنمو وتتابع تطورها بشكل طبيعي. تعتمد النباتات النامية على ذاتها في تأمين غذائها ويطلق عليها نباتات ذاتية التغذية .

1-13-الإكثار الخضري Clonal propagation:

طريقة من الإكثار الخضري الدقيق في النباتات بزراعة النسج ، ويتم الحصول على نباتات متشابهة وراثيا مع النبات الأم. وتكون كافة النباتات الناتجة منحدرة من نبات واحد.

1-14-زرع بشروط معقمة Aseptic technique :

تقنية يتم فيها زرع العينات النباتية ضمن شروط معقمة بحيث نحصل على زراعة خالية من التلوث. ويتم التطهير السطحي للخزعات النباتية قبل زرعها في الأنابيب ضمن شروط معقمة في المختبر لقتل الأحياء الدقيقة (الفطريات ، البكتريا، الخمائر...) لتجنب تلوث الخلايا والأنسجة النباتية المزروعة .

1-15-خزعة نباتية Explant :

أي جزء نباتي يؤخذ من مكانه الطبيعي في النبات ويعقم ويزرع في وسط مغذ ضمن شروط مخبرية معقمة. وقد تكون الخزعة النباتية جزء من برعم أو جزء من جذر أو ورقة....الخ توضع في شروط خاصة بعد زرعها لتحفيزها على النمو والإكثار.

1-16-النقل Subculture:

نقل الأجزاء النباتية المزروعة إلى وسط جديد للمحافظة عليها من التدهور والموت على أن تتم عملية النقل ضمن شروط معقمة وفي وقت محدد . تختلف الفترة بين عمليات النقل بحسب النوع النباتي وحسب تقنية الأنسجة المستخدمة.

1-17-الصدمة الكهربائي Electroporation :

إحداث فتحات مسامية في الجدار الخلوي للخلايا والأنسجة المزروعة نتيجة إمرار تيار كهربائي خفيف بشكل تسمح بإدخال جسيمات غريبة إلى داخل الخلايا مثل البلازميد أو قطعة من الDNA .

1-18-التعديل الوراثي Transformation :

عملية نقل وإدخال قطعة من الDNA أو بلازميد تحمل مورثات غريبة إلى داخل الخلايا النباتية بإحدى تقنيات الهندسة الوراثية. وبالتالي إحداث تغير في التركيب الوراثي والحصول على خلايا ونباتات معدلة وراثيا.

1-19-تجديد النمو Regeneration system :

عملية الحصول على نباتات كاملة بدءا من أجزاء نباتية مختلفة مثل القمم النامية ، الكالوس، الخلايا النباتية، بروتوبلاست، أو حبوب لقاح. قد تكون النباتات الناتجة مشابهة أو مغايرة في تركيبها الوراثي للنبات الأم.

1-20-الحفظ بالتجميد Cryopreservation :

طريقة للحفظ لفترات زمنية طويلة جدا للخزعات النباتية المزروعة بالأنسجة مثل القمم النامية، كالوس ، خلايا نباتية ، بذور وذلك على درجات منخفضة جدا أكثر من – 100 م.

1-21-سلالات متباينة وراثيا Somaclonal variation :

سلالات نباتية تنشأ من أجزاء نباتية مختلفة بزراعة النسج مثل الكالوس أو البروتوبلاست أو الخلايا النباتية وتكون مختلفة وراثيا عن النبات الأم الذي نشأت منه.

1-22- زراعة المرستيم Meristem culture :

زرع القمة المرستيمية للبراعم الطرفية أو الجانبية لوحدها دون أخذ بدائات ورقية معها بطول أقل من 1مم بين 0.1-0.3 مم . تؤخذ عادة من القمم النامية وتزرع للحصول على نباتات خالية من الإصابات الفيروسية.

1-23- زراعة حبوب اللقاح Androgenesis :

زرع حبوب الطلع في أوساط مغذية بهدف الحصول على نباتات وحيدة الصبغة الصيغية والتي يتم مضاعفتها بالكولشيسين للحصول على سلالات نقية ثنائية الصيغة الصبغية.

1-24- زراعة البويضات قبل التلقيح Gynogenesis or Parthenogenesis :

زرع الأعراس المؤنثة الموجودة في الكيس الرشيمي قبل الإخصاب بهدف الحصول على نباتات وحيدة الصيغة الصبغية. يمكن مضاعفتها بالكولشيسين للحصول على سلالات نقية .

1-25-تكوين الكالوس Callogenesis:

عملية تكوين الكالوس من أجزاء نباتية مختلفة براعم ، سلاميات، أوراق، قمم جذرية، خلايا نباتية وحبوب لقاح وذلك تحت تأثير محرض هرموني مثل الD 2,4 .

1-26- تكوين النموات الخضرية Caullogenesis :

عملية تكوين براعم عرضية بدءا من أجزاء نباتية غير متمايزة كالكالوس العضوي . تتطور البراعم الخضرية وتعطي نموات خضرية Shoots . وهذا المصطلح بشابه مصطلح آخر يدعى تجديد البراعم العرضية Bud Neoformation .

1-27- القمم النامية Shoot Apex :

تحوي القمة النامية القمة المرستيمية بالإضافة إلى عدة بداءات وؤقية بحجم 1-2 مم تقريبا. كما هو موضح بالشكل (1-2).

ولابد من الذكر اخيرا بأنه يمكن أخذ القمم النامية من البراعم الطرفية أو من البراعم الخضرية الجانبية.