Sohag University
Faculty of Agriculture
Department of Genetics

جامعة سوهـــــاج
كليــة الزراعـــــــــة
قسم الوراثـــــــة

المحاضرة الخامسة

زراعة الانسجة والتكنولوجيا الحيوية

المستوي الثالث برنامج التكنولوجيا الحيوية

اعداد

د. احمد يوسف محمد
قسم الوراثة – كلية الزراعة – جامعة سوهاج

منظمات النمو :- Growth regulators

الهرمونات النباتية أو منظمات النمو هى مركبات عضوية تنتجها النباتات وتحدث تأثيرات تنظيمية فى تطور النباتات وتنعكس على مظاهر النمو المختلفة. والهرمونات النباتية تعد مركبات غير نوعية حيث يمكنها أن تؤثر على أكثر من مظهر من مظاهر النمو المختلفة.

تؤثر الهرمونات النباتية فى أماكن بعيدة عن مكان اصطناعها حيث تسرع النمو وتؤثر فى عمليات النمو المختلفة بتركيز صغير جدا. وتصبح الهرمونات النباتية مثبطة للنمو اذا استعملت بتركيز مرتفع. كما هو الحال بالنسبة للأوكسين (2.4 D) يؤثر فى التجذير بتركيز صغير . ويستخدم كمبيد للحشائش والأعشاب بتركيز عالى .

تؤثر منظمات النمو فى عمليات النموالمختلفة كالانقسام الخلوي، والنموالطولى للخلايا ،واستطالة الساق، ونمو البراعم الجانبية، وتكوين الجذور .....الخ، و تلعب الهرمونات النباتية دورا هاما فى تطور الأجزاء النباتية المزروعة ونموها فى وسط اصطناعى يضاف للأوساط المغذية. وتوجد عدة أنواع من الهرمونات النباتية تختلف بأختلاف الجزء النباتى المزروع ، وبأختلاف طور الزراعة ، و حسب الهدف من الزراعة .

تقسم منظمات النمو إلى أربع مجموعات وهى : -

١. الأوكسينات .

٢. السيتوكينينات.

٣. الجبريللينات .

٤. مثبطات النمو " حمض الأبسسيك – المركبات الفينولية " .

أولا الأوكسينات :- Auxins

يعود أصل الكلمة إلى اللغة اللاتينية Auxen وتعنى النمو . أي المواد التي تؤثر في النمو وقد تم اكتشاف الأوكسين في عدد كبير من النباتات . توجد الأوكسينات فى عدد كبير من الأنواع النباتية . وقد اكدت الأبحاث أن الأوكسين IAA " اندول اسيتيك اسيد "هو الأوكسين الطبيعى الأكثر أهمية فى الأنسجة النباتية.

ويوجد الأوكسين IAA بعدة أشكال هى : -

١- الشكل الحر أى IAA غير مرتبط .

٢- طلائع الأوكسينات مثل التربتوفان حيث يعد هذا المركب اساس الأوكسين IAA

٣- الأوكسينات المرتبطة وهى معقدات الأوكسينات المرتبطة IAA مينستول (Myo-Inositol IAA) واندول اسيتيك اسبارتيك تشجع الأوكسينات الأنقسام الخلوى الميتوزى ، حيث لوحظ ازدياد النشاط الأنقسامى للخلايا التى لها القدرة على الأنقسام أو الخلايا التى لها القدرة على التمايز الرجعى، وذلك عند معاملة هذة الخلايا بالأوكسينات.

وقد دلت التجارب على ان الأوكسين يعمل على زيادة تخليق البروتينات النووية RNA، كما ينشط عمل الأنزيمات التى تعمل على تنشيط التفاعلات الكيماوية اللازمة لتأمين المواد الضرورية للأنقسام الخلوى مثل تنشيط عمل أنزيم RNA Polymerase.

هذا ولابد من الذكر أن الأوكسينات تشارك أيضا فى استطالة النموات المتكونة ولكن بتركيز قليل ، كما تساهم بشكل فعال فى تكوين الأجنة الخضرية بدءا من الكالوس وانباتها. ومن أهم تأثيرات الأوكسين على النسيج المنزرع هو تنشيط تكوين الكالس ونمو الخلايا ودفع تكوين الجذور وكذا تحول الخلية الى التطور الجنينى.

يعتبر اندول استيك هو منظم النمو الذى ينتج طبيعيا بواسطة النبات . أما باقى الأوكسينات الأخرى فهى غير منتجة طبيعيا ولهذا فهى تختلف فى درجة نشاطها وفاعليتها .

بالرغم من أن أوكسين IAA يتكون طبيعيا غير انه ينحل بواسطة الضوء ويتأكسد بالأنزيمات نظرا لاحتمال انحلال هذه المادة فى النسيج المنزرع فأنه يجب امداده للنسيج النباتى بنسبة عالية فى البيئة المغذية تتراوح بين ١-٣ مللجم / لتر . وحيث أن مركب NAA مركب لايتأثر بالأكسدة بالأنزيمات فأنه يضاف إلى البيئة المغذية بتركيز منخفض يتراوح بين ٠.١ – ٢ مللجم / لتر. أما 2,4-D فهو

وقد أوضح العالم Street 1966 أن هناك بعض الأنسجة النباتية لا تتطلب اضافة أوكسين الى البيئة المغذية حيث أن هذه الأنسجة تحتوى على نسبة مرتفعة من الأوكسين كما انه قد يكون لها القدرة على تمثيل وتكوين الأوكسين طبيعيا فى مرحلة مبكرة من الزراعة على البيئة المغذية الخالية من الأوكسين.

ولقد اطلق لفظ التعود أو الأعتياد Habituationعلى الأنسجة النباتية التى لها المقدرة على تعديل التمثيل الحيوى أثناء الزراعة على بيئات مغذية. وهناك بعض الأنسجة النباتية تتطلب اضاف أوكسين ولا تحتاج سيتوكينين ، مثال هذا جذو نباتات الجزر المنزرعة على بيئة مغذية والتى لها القدرة على تكوين الزياتين فى حالة وجود الضوء Mizuno & Komanine (1978).

هدم الأوكسين :-

يتم هدم الأوكسينات عندما تزداد نسبتها فى النبات على النسبة الفسيولوجية المسموح بها ، كما يتم هدمها عندما تعرضها للضوء . وتتم عملية الهدم بطريقتين :-

أ- الأكسدة الضوئية :- حيث يتحلل الأوكسين عند تعرضه للضوء ويتفكك من الشكل الفعال الى مركبات غير فعالة وهذه نقطة هامة بالنسبة للعاملين فى زراعة الأنسجة اذا يجب حفظ المحاليل الهرمونية فى زجاجات أو دوارق داكنة اللون وفى الثلاجة . ويستدل على تفكك الأوكين داخل المحاليل عند تحول لون المحلول الى اللون الأصفر أو الأسمر.

ب- الأكسدة الأنزيمية :- تساهم بعض الأنزيمات مثل البيروكسيديز pyroxydase أو المعقد الأنزيمى IAA oxydase بأكسدة الأوكسين الطبيعى بوجود الضوء وينتج عن عملية الأكسدة مركبات غير فعالة مثل أندول –٣- ميثانول ، وحمض الأندول –٣- كربوكسيليك . (أبحاث عبود والمصرى ١٩٨٧).

ثانيا السيتوكينينات Cytokinins:كلمة السيتوكينينات استعملت لأول مرة من قبل العالم Skoog وزملائه سنة ١٩٦٥ حيث أطلقوها على مركبات منتجة طبيعيا فى النباتات مثل الكينتين أو مركبات صناعية ذات تأثير منشط فى الأنقسام الخلوى.

التأثيرات الفسيولوجية للسيتوكينينات

Physiological effect of cytokinins

تلعب السيتوكينينات دورا هاما فى الأنقسام الخلوى. فقد دلت الأبحاث على ان السيتوكينين ينشط تخليق البروتينات اللازمة للأنقسام الخلوى ، تثبيط تكون الجذور كما يشجع على تشكل RNA وأحماض نووية أخرى. وتنشط السيتوكينينات عمل بعض الأنزيمات التى تساعد على تنشيط التطور مثل انزيم نترات ريدوكتيز Nitrate Reductase ، الأميليز Amylase ، والكتاليز Catalase ، البروتين فوسفوريليز protein phosphorylase وأنزيمات اخرى.

وقد دلت التجارب على أن السيتوكينينات تنشط النموالخلوى، وتثبط أستطالة الخلايا الطويلة. وهذه الظاهرة تلاحظ فى زراعة الأنسجة النباتية حيث تقل أستطالة النموات المتكونة بالأنسجة عند زيادة تركيز السيتوكينين.

تؤثر السيتوكينينات فى تطور الكلوروبلاست ، حيث لوحظ أن كالوس التبغ المزروع على وسط مغذ يحوى السيتوكينين و فى وجود الضوء يخضر الكالوس حيث تتحول البروتوبلاست الى كلوروبلاست ومن اهم التأثيرات للسيتوكينينات قدرتها على تكوين براعم فى أنسجة غير متميزة (الكالوس) أو على الجذور أو على أجزاء من الساق أو الأوراق وتؤثر السيتوكينينات فى نموالبراعم الجانبية وتقلل من السيادة القمية. وهذا الأثر الفسيولوجى فى غاية الأهمية حيث قاد ذلك الى تطبيقات هامة فى التكاثر الخضرى الدقيق للنباتات عن طريق زراعة الأنسجة النباتية. حيث يمكن القول أن معدل الأكثار الذي يمكن الحصول عليه بدءا من الأجزاء النباتية بشكل عام مرتبط بوجود السيتوكينين فى المحلول المغذى. فمثلا عندما تزداد نسبة الأوكسين الى السيتوكينين فأن هذا يؤدى الى تنشيط تكون الأجنة - تكون الكالوس – على العكس من هذا عندما تقل نسبة الأوكسين الى السيتوكينين فأن هذا ينشط تكون النموات الخضرية والأفرع .

تنقسم السيتوكينينات التى تؤثر فى الأنقسام الخلوى الى ثلاث مجموعات :

أ- السيتوكينينات الطبيعية التى تم أكتشافها فى الأنسجة النباتية وتضم المركبات التالية :

الزياتين Zeatin(z) ، أدينين أو ٦ أمينوبيورين 6 Amino , or Adenin (purine) ، أيزوبنتيل أدينين (Iso pentenyl adenin).

ب-السيتوكينينات الصناعية وتشمل :-

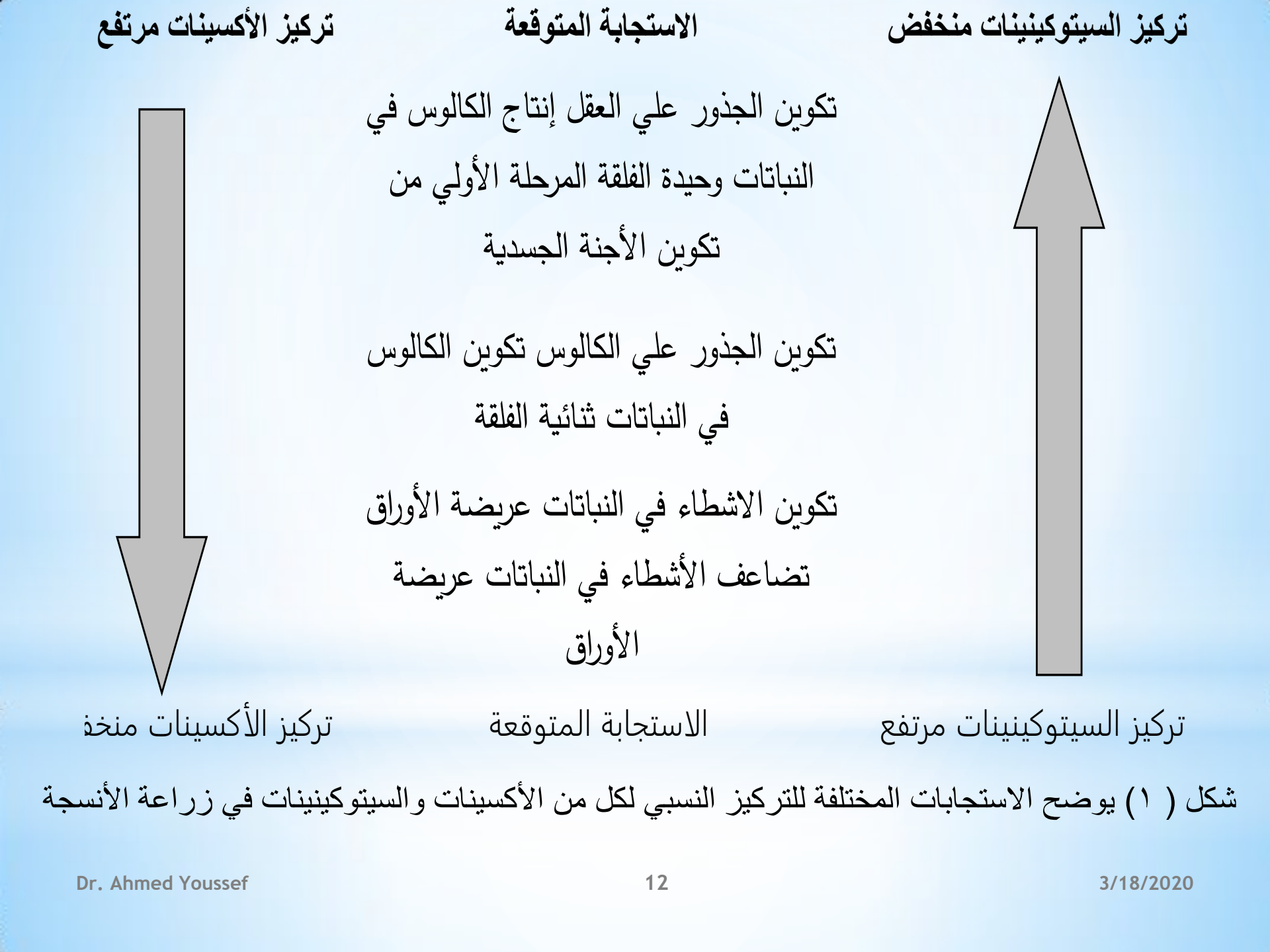
الكينتين Kinetin ، ٦ بنزيل أمينو بيورين BAP أو بنزيل أدينين BA ، بنزيل أدينوزين Benzyl- adenozin .

ج- السيتوكينينات المرتبطة وتشمل :-

الزياتين ريبوزيد Zeatin-ribozid ، أيزوبنتيل أدينوزين .

التداخل بين الأكسينات والسيتوكينينات

أصبح من المعروف في زراعة الأنسجة أن النسبة بين الأكسينات والسيتوكينينات المضافة إلي بيئة النمو من العوامل المحددة للنمو والتكشف مع الأخذ في الاعتبار التركيز الداخلي لهما. وكانت بداية تلك الملاحظات عندما وجد Skoog & Millar في سنة ١٩٥٧ أن كالوس نبات الدخان تتكشف منه الأشطاء عند إضافة تركيز منخفض من الأكسينات مع زيادة نسبية في تركيز السيتوكينينات وإذا كان العكس فإن الكالوس لا يتكشف في أغلب الحالات ، ويوضح شكل ١ تأثير التداخل بين الاكسينات والسيتوكينينات علي زراعة أنسجة نبات Amelanchier laevis .



شكل (١) يوضح الاستجابات المختلفة للتركيز النسبي لكل من الأكسينات والسيتوكينينات في زراعة الأنسجة

ثالثا الجبريللينات Gibberellins

سمى الجبريللين نسبة الى الفطر جبريلا الذى يسبب استطالة غير طبيعية فى المسافات العقدية لنباتات الأرز المصابة به . وبعدها توالت الأبحاث عن الجبريللينات فى النباتات . وقد تم الآن عزل ٥٢ نوعا من الجبريللين وسميت من حمض الجبريليك ١ حتى الجبريليك ٥٢ (GA1- GA52) وحدوث تراكيبها الكيماوية Mazliac (1981)

التأثيرات الفسيولوجية للجبريللينات:-

Physiological effect of Gibberellins :-

تعمل الجبريللينات على تنشيط الأستطالة الخلوية بشكل رئيسى كما تساهم بشكل مباشر على تنشيط الأنقسام الخلوى حيث أوضحت التجارب بأن الجبريللينات تساهم فى تخليق الأوكسينات وتزيد من فاعليتها .

كما تمنع هدم الأوكسين مما يؤدى الى زيادة النمو وتنشيط الأنقسام الخلوى ، كما ثبت أن الجبريللين ينشط بعض الأنزيمات المؤثرة فى التطور مثل أنزيم الأميليز Amylase.

ينشط الجبريللين النمو الطبيعى لبعض النباتات القزمية ويحد من التقزم الوراثى. أظهر العالم Phinney(1957) أنه عند اضافة الجبريللين الى الوسط المغذى تقضى على ظاهرة التقزم فى البازلاء. حيث لوحظ أن السبب الوراثى لظاهرة التقزم هو عجز النبات القزمى عن تكوين الجبريللين ، ففى هذه الحالة يلاحظ قصر السلاميات دون الأقلال من عددها . فعند اضافة الجبريللين الخارجى يعود النبات وينمو بشكل طبيعى. وقد تم الأستفادة من التأثير فى الأستطالة الخلوية فى مجال زراعة الأنسجة حيث تستعمل الجبريللينات فى تنشيط نمو الأجزاء النباتية المزروعة واستطالتها ، كما تشجع نمو الكالس.

رابعا مثبطات النمو :- **Growth inhibitors** تم اكتشاف كثير من المركبات الكيماوية فى النبات التى تعمل على تثبيط النمو وتوقف اذا زاد تركيزها على حد معين داخل الأنسجة النباتية ومن هذه المواد :-

حمض السيناميك Cinamic acid ، بعض اللاكتونات مثل الكيوماريك اسيد Cumaric acid ، حمض الأبسسيك هذا ويوجد عدد كبير من المركبات العضوية الطبيعية والصناعية التى تعمل على تثبيط النمو . ومن هذه المواد الهامة فى مجال زراعة الأنسجة والتابعة لهذة المجموعة ، حمض الأبسسيك والمركبات الفينولية .

١. حمض الأبسيسيك :-Abscissic acid

أحد الهرمونات النباتية التى تؤدى لتثبيط النمو ، و وله تأثيرات عديدة مثل زيادة تكوين الأفرع ويمنع تخليق ال DNA فى الأنسجة النباتية ويلغى التأثير المنشط للسيتوكينين ، والجبريللين ، ويمنع تخليق انزيم الألفا أميليز وغيره من الأنزيمات ويرجع الى منعه لتخليق الRNA وكذلك يمنع نمو الأنسجة تماما لنفس السبب .

٢- المركبات الفينولية :-Phenolic compounds

توجد المركبات الفينولية بغزارة فى مختلف الأنسجة النباتية ، ويختلف تركيزها ونوعيتها بأختلاف الأنواع النباتية وبأختلاف فصل النمو وأختلاف الأجزاء النباتية. وتتركب الأحماض الفينولية من الفينيل انين phenyl anine ولها تركيب مشابه لتركيب الأوكسين، وتضم هذه المجموعة مركبات عديدة نذكر منها على سبيل المثال حمض الكلوروجينيك chlorogenic acid والفلوروجلوسينول ploroglucinol، أورثوفينول orthophenol ، الفلورودزين phlorodzin ..... الخ وتلعب المركبات الفينولية دور مثبط للنمو حيث تعمل كمضاد للأوكسين وثبت أن بعضها تقوم بحماية الأوكسين الطبيعى من التدهور وهذا التأثير المتناقض يمكن أن يفسر النشاط الفسيولوجى لهذه المركبات ودلت الأبحاث الأخرى على الدور المنشط لبعض الفينولات مثل الفلوروجليسنول على تجذير النموات داخل الانابيب فى التفاح

James et al. (1991) & Jones et al . (1991).