زراعة الأنسجة ونباتات خالية من الفيروسات

د. رضا محمد طه

2016-03-15

يعتبر التخلص من الفيروسات ضرورياً عند بداية سلسلة الإكثار للنباتات بإستخدام تقنية زراعة الأنسجة وذلك من أجل الحصول على نباتات خالية من الفيروسات والتي بدورها سوف تكون مصدراً لشتلات من أجل الإكثار النباتي. ولأن بعض النباتات الهامة للإنسان والتي تتكاثر خضرياً مثل البطاطس والموز والفراولة وقصب السكر وغيرها قد تصاب بالفيروسات، خاصة الإصابة الجهازية حيث ينتشر الفيروس خلالها في جميع أجزاء النبات بنسب متفاوتة مما قد يؤدي إلى ضعف إنتاجيتها سواء في أجزائها الخضرية أو تلك التي تستخدم للتقاوي أو الشتلات والتي غالباً سوف تكون مصابة بالفيروس، لذلك اذا كانت سلالة نباتية نادرة ومصابة بالفيروس أو كافة النباتات من صنف معين مصابة ولا يوجد مصدر آخر للتكاثر الخضري وجب تطبيق تقنية زراعة الأنسجة للتخلص من الفيروس ومن ثم إكثارها.

نجح العلماء في استخدام تقنيات عديدة لزراعة الأنسجة لإنتاج نباتات خالية من الفيروسات من تلك المصادر النباتية المصابة كما يلي:

أولاً: زراعة الكالوس Callus culture

الكالوس هي كتلة غير متمايزة وغير منظمة من الخلايا مأخوذة من مزدرعات-إكسبلانت-Explants تلك عبارة عن أجزاء صغيرة من نسيج النبات أُخذت من نبات كامل في ظروف معقمة ثم وضعها في وسط غذائي يحتوي عناصر معدنية هامة وفيتامينات وكذلك منظمات نمو نباتية تشجع على انقسام الخلايا النباتية لتكوين جذور أو سيقان تحمل بدايات أوراق Leaf-primordial وغيرها لتكوين في النهاية نبات كامل حسب الغرض وذلك بالتحكم في نوع الهرمون النباتي المُضاف إلى الوسط، فإذا كان الغرض مجموع خضري يتم إضافة السيتوكينينCytokinin ، وإذا كان الهدف إنماء المجموع الجذري فيضاف الأوكسين Auxin وإذا كان الهدف إنماء نبات كامل فيضاف النوعين معاً بنسب محددة. يمكن إستغلال الكالوس كمصدر للخلايا النباتية وزراعة الأنسجة وذلك

بإستمرار نقلها إلى أوساط غذائية جديدة، كما يمكن تشكيلها لأي عضو نباتي وذلك بالتحكم في مكونات الوسط الغذائي.

يمكن الكشف عن نسبة خلو الأجزاء النباتية أو النباتات التي تم إنتاجها بتلك التقنية من الفيروسات بإستخدام إختبار الإليزا ELISA. وقد تبين أنه بهذه التقنية تنتج نباتات خالية من الفيروسات بنسب معقولة ويرجع تفسير ذلك كما فسره العلماء إلى أن سرعة تضاعف الفيروس أبطأ من سرعة إنقسام الخلية بدليل أنه يمكن تعجيل إنقسام الخلايا وذلك عند معاملتها بمادة الكينيتين Kinetin حيث يصاحبها زيادة في نسبة إنتاج النباتات الخالية من الفيروسات هذا بالإضافة إلى أن الفيروس في بعض الأحيان يترك خلايا في النسيج دون إصابة والتي منها يتكون النبات الخالي فيروسياً.

ثانياً: زراعة البروتوبلاست Protoplast culture

البروتوبلاست هو المحتوي الخلوي بدون جدار الخلية، ويتم الحصول عليه إما بطريقة ميكانيكية باستخدام آلة دقيقة أو عن طريق بعض الإنزيمات التي تحطم الجدار الخلوي. بعد ساعات من نزع الجدار الخلوي للخلايا النباتية من مصدر مصاب بالفيروس تُستخدم لإنتاج نباتات خالية من الفيروسات وذلك بعد وضعها في أوساط غذائية مناسبة والتي بدورها-البروتوبلاست-تعمل سريعاً على تخليق جدر خلوية جديدة ثم تبدأ بعدها في الإنقسام الخلوي العادي لتكوين الكالوس ومنه يمكن تكوين نباتات جديدة كما سبق وذكرنا. يعزو العلماء سبب التخلص من الفيروسات عن طريق هذه الطريقة إلى فشل الفيروس في غزو جميع خلايا النسيج المأخوذ منه البروتوبلاستات حيث يترك بعض الخلايا سليمة وهي من ينتج النباتات الخالية من الفيروسات. لكن الملحوظة التي يذكرها العلماء أن النباتات التي تنتج بطريق زراعة البروتوبلاست تكون متنوعة وراثياً حيث يتم خلالها دمج نوعين مختلفين وراثياً بغرض إنتاج هجن مضافاً إليها صفات وخصائص مفيدة من نوع آخر رغم بعدهما وراثياً.

ثالثاً: زراعة القمة المرستيمية Meristem-tip culture

تتواجد الخلايا المرستيمية في قمة الساق وهي خلايا تتميز عن الخلايا النباتية الأخرى في كونها صغيرة الحجم، بها سيتوبلازم عالي التركيز، ونواة كبيرة، جدار خلوي سمكه ضئيل وإنعدام وجود فجوات أو إذا وجدت فهي قليلة جداً هذا بالإضافة إلى قدرتها العالية على الإنقسام السريع.

تُعد هذه الطريقة هي الأهم والأكفأ في إنتاج نباتات خالية من الفيروسات وذلك من مصادر نباتية مصابة بالفيروس، حيث وجد العلماء أن القمة المريستيمية في النبات المصاب بالفيروس غالباً تكون خالية من الفيروس. في هذه الطريقة يتم قطع القمة المرستيمة لساق النبات المصاب-إذا كانت سلالة نباتية نادرة أو لا يوجد نبات سليم من هذا الصنف من النبات-بحجم يتراوح

قطرها من 1-2 مم ويفضل لنجاح عملية الزراعة والتخلص من الفيروسات أن يكون معها على الأقل واحد أو أكثر من بدايات الاوراق Leaf premordia، ثم توضع في بيئة غذائية مناسبة مثل بيئة موراشيج وسكوج Murashige & Skoog "MS" والتي تنمو إلى نبتة صغيرة أو نسيج كالوس ومنها يتم إنتاج العديد من النباتات التي تتميز بإحتفاظها بصفات النبات الأم وراثياً، ويرجع ذلك لكون الخلايا المرستيمية ثنائية الأساس الكروموزومي بشكل مُوحد. يعتقد العلماء أن نجاح هذه الطريقة يرجع إلى إحداث خلل في أيض الخلايا المرستيمية عند عملية القطع مما يؤثر سلباً على تضاعف الفيروس أو نظراً لوجود الهرمون النباتي "الأوكسين والذي يقوم بتحفيز آلية المقاومة للفيروسات في الخلايا بشكل كبير مما يتسبب عن إنتاج نباتات خالية من الفيروسات. بعد أنتاج النبتة بالمختبر يتم نقلها للحقل بعد مرورها بعدة مراحل لأقلمتها Acclimatisation تدريجياً لتتحمل الظروف الخارجية.

المراجع:

- Bhojwani, S.S.; Razdan, M.K. (1996) Plant tissue culture: theory and practice. Elsevier.
- Matthews, R.E.F. (1991). Plant Virology. Third edition. Academic Press New York and London.
- Mehle, N., Kovac, M. et al (2004), Spread of potato virus Y in potato cultivars (Solanum tuberosum L.) with different levels of sensitivity. Physiological and Molecular Pathology, vol.64, no.6, pp. 293-300.
- Wikipedia, the free encyclopedia.

بريد الكاتب الالكتروني: redataha962@gmail.com