استخدامات تقنية دمج البروتوبلاست فى مجال تربية النبات .. إنجازات ومحددات

مجالات استخدام التقنية

استخدمت تقنية دمج البروتوبلاست فى خدمة أهداف تربية النبات فى كل من المجالات التالية:

أولاً: التغلب على حالات عدم التوافق الجنسى

أثبتت تقنية دمج البروتوبلاستات أنها أداة فعالة فى التغلب على مشاكل عدم التوافق الخلطى فى برامج التربية، وقد أمكن الاستفادة من تلك التقنية فى حالات كثيرة نذكر منها ما يلى:

Daucus carota + Petroselinum hortense
Petunia parodii + P. Parviflora
Nicotiana tabacum + Salpiglossis sinuata
Physalis minima + Datura innoxia
Hyoscyamus muticus + Nicotiana tabacum
Solanum tuberosum + S. chacoense
S melongena + S. nigrum
Lycopersicon + Petunia
Citrus sinensis + Severinia disticha
C. reticulata + Citropis gilletina
Pyrus communis + Prunus avium
Nicotiana tabacum + N. repanda
Lycopersicon esculentum + Solanum muricatum
Brassica napus + B. nigra
B. Napus + Barbarea vulgaris
B. napus + Thlaspi perfoliatum

ثانيًا: إنتاج الـ cybrids (الهجن غير المتساوية asymetric)

من بين الأنواع النباتية التى أمكن إنتاج cybrids منها تحتوى على هيئتها الكروموسومية الكاملة بالإضافة إلى سيتوبلازمها وسيتوبلازم نوع آخر (بهدف نقل صفات سيتوبلازمية هامة) كلاً من البطاطس، والصليبيات، والأرز، والطماطم، والجزر، والتبغ، والموالح.

ثالثا: المقاومة للأمراض والآفات ومبيدات الحشائش

ترتب على التباين الوراثى الذى تحدثه عملية دمج البروتوبلاستات ظهور حالات من المقاومة أو التحمل لعدد من مسببات الأمراض، والآفات، وظروف الجفاف والبرودة، ومبيدات الحشائش إلخ، كتلك المبينة فى جدول (٤-٩)

رابعا: زيادة المحتوى النباتى من الألكالويدات ومنتجات الأيض الثانوية

إن من أهم التطورات التى حدثت مؤخرًا فى الصناعات الدوائية الزيادة فى محتوى النباتات الطبية من الألكالويدات ومنتجات الأيض الثانوية من خلال عملية دمج البروتوبلاست، والتى كان من أهمها ما يلى:

Atropa + Datura

Atropa + Scopolia

Hyoscyamus + Nicotiana

Rauwolfia + Vinca

ولقد أظهرت هجن الداتورة النوعية الجسمية زيادة قدرت بنحو ٢٠-٢٥٪ فى محتواها من الألكالويدات الكلية مقارنة بالآباء كذلك ظهر تحسن واضح فى الألكالويدات فى الهجين *Duboisia leichhardtii + Nicotiana tabacum*

خامسا: التهجين الجسمى وتحسين الأشجار

إن تربية الأشجار بطرق التربية التقليدية تتطلب سنوات عديدة، وهى مشكلة تزداد تعقيدا بحالات عدم التوافق وقد حدث تقدم كبير فى تربية الأشجار مع التقدم فى التقنيات الحيوية، حيث أمكن إجراء الإكثار الدقيق لها بأعداد هائلة فى زمن قياسى، وإنتاج نباتات أحادية، وحفظ الجيرمبلازم فى الحرارة الشديدة الانخفاض، وتجديد نمو النباتات من البروتوبلاست، والتحول الوراثى إلخ وأفادت تقنية دمج البروتوبلاست فى إنتاج الـ cybrids والهجن الجسمية — ومن ثم التغلب على مشكلة عدم التوافق فى أنواع مختلفة من الـ *Citrus*، و *Pyrus communis + Prunus avium*، و *Populus koreana + P. nigra* كذلك فإن الهجن الجسمية فى الـ *Citrus* قد تصبح من أهم

الأصول الجذرية للموالح بما قد توفره من مقاومة للبرودة، والملوحة، ولفحة الوالح، والنيماتودا.

جدول (٤-٩): أنواع نباتية أظهرت مقاومة بعد دمج البروتوبلاست.

المحصول	الأنواع المندمجة معًا	المقاومة أو التحمل
البطاطس والطماطم	*S. chacoense + S. tuberosum*	فيروسات البطاطس
	Solanum nigrum + S. tuberosum	الأترازين Atrazine
	S. brevidens + S. tuberosum	فيرس التفاف الأوراق
	S. torvum + S. tuberosum	الفيرتسيلليم
	S. brevidens + S. tuberosum	الندوة المتأخرة
	Lycopersicon piminellifolium + S. tuberosum	الـ *Erwinia*
	Nicotiana sylvestris + S. tuberosum	أوليجوميسين Oligomycin
	L. esculentum + S. acaule	تحمل البرودة
الصليبيات	*Brassica napus + B. nigra*	*Phoma lingam*
	B. oleracea + B. napus	أترازين
	Eruca + Brassica	الجفاف والحشرات
	Raphanus sativus + B. napus	نيماتودا البنجر المتحولة
	Sinapis alba + B. napus	نيماتودا البنجر المتحولة
الباذنجان	*Solanum sisymbriifolium + S. melongena*	نيماتودا تعقد الجذور
	S. torvum + S. melongena	الفيرتسيلليم – النيماتودا
	S. nigrum + S. melongena	الأترازين
التبغ	*Nicotiana glauca + N. tabacum*	فيرس موزايك التبغ
	N. tabacum + N. nesophila	دودة التبغ
	N. repanda + N. tabacum	فيرس موزايك التبغ
	Meloidogyne arenaria	

سادسًا: التهجين الجسمي بين البروتوبلاستات الأحادية والثنائية

يمكن أن يؤدى الاندماج بين البروتوبلاستات الأحادية والثنائية العدد الكروموسومى إلى إنتاج هجن ثلاثية تكون عقيمة، وقد تكون قادرة على إنتاج ثمار بكرية العقد.

سابعًا: التهجينات الجسمية فى النباتات الدنيئة

لا يختلف نظام دمج البروتوبلاست فى النباتات الدنيئة (الطحالب، وال

bryophytes، والسراخس ferns) عما في مغطاة البذور. تستعمل حشائش البحر seaweeds على نطاق واسع كغذاء للإنسان، وخاصة في اليابان والصين، كما تستخدم في إنتاج الآجار، والأسمدة، ومكسبات الطعم، وبعض المركبات ذات الأهمية الدوائية. ولذا .. فإن دمج البروتوبلاست قد يكون ذا فائدة كبيرة، وخاصة في التغلب على مشكلة عدم التوافق الجنسي (عن Bajaj ١٩٩٤).

الإنجازات الهامة

من بين إنجازات الهجن الجسمية، ما يلي:

١ — إعادة تركيب لقت الزيت *Brassica napus*، بدمج *B. campestris* مع *B. oleracea*.

٢ — دمج أنواع من الأجناس الصليبية *Eruca*، و *Sinapis*، و *Raphanus*، و *Moricandia*، و *Diplotaxis* مع أنواع مختلفة من الصليبيات، وأساسًا مع *B napus* وقد أعطت الهجن الجنسية مدى واسعًا من عدد الكروموسومات، وعديدا من الهجن ذات التعدد الكروموسومي غير التام، بالإضافة إلى بعض الهجن ذات التعدد الكروموسومي التام.

وقد أجريت التهجينات الجسمية في محاولة لنقل صفتي المقاومة للفطر *Alternaria brassicae*، ونيماتودا البنجر المتحوصلة *Heterodera schactii* من *Sinapsis alba*، وصفتي تحمل الجفاف والمنّ من *Eurca sativa*، وصفة المقاومة لنيماتودا البنجر المتحوصلة من الفجل، وصفة الـ low (O_2-compensation point) من *Moricandia arvensis*، وصفة العقم الذكري السيتوبلازمي من كل من *Diplotaxis harra*، و *Brassica tournefortii* .. نقلها جميعًا إلى لفت الزيت.

٣ — تم دمج بورتوبلاست *Arabidopsis thaliana* مع كل من *B. campestris*، و *B. napus*، علمًا بأن النوع الأول ينتمي إلى قبيلة مختلفة عن تلك التي ينتمي إليها النوعين الآخرين، وكانت الهجن الجسمية الناتجة أكثر لاسيمتيرية (أكثر طردًا لكروموسومات أحد النوعين المندمجين) عما في الهجن الجسمية النوعية أو الجنسية.

٤ — أمكن الحصول على هجن جسمية مزهرة وخصبة بين الأنواع المتوافقة جنسيًا *Medicago sativa* و *M. falcata*، وكذلك بين البرسيم الحجازى و *M. intertexta*.

٥ — حُصِل على هجن جنسية جسمية لكل من التوافيق التالية:

Panicum maximum (+) *Pennisetum americanum*

Sacchurum officinarum (+) *P. americanum*

Oryza sativa (+) *Eichinochloa oryzicola*

Triticum monococcum (+) *P. americanum*

Festuca arundinacea (+) *Lolium multiflorum*

هذا إلاّ أن الحصول على نباتات مكتملة النمو لم يكن ممكنًا إلاّ فى التهجين الجسمى الأخير، علمًا بأن هذا الهجين يمكن الحصول عليه جنسيًا كذلك.

٦ — نجحت محاولات التغلب على مشاكل الهجن الجنسية بين الأرز، وبعض الأنواع الأخرى القريبة منه، وهى: *Oryza brachyantha*، و *O. eichingeri*، و *O. officinalis*، و *O. perrieri* وذلك باللجوء إلى الهجن الجسمية، حيث أمكن الحصول على نباتات كاملة مزهرة قادرة على إنتاج حبوب لقاح خصبة فى كل الحالات، فيما عدا فى حالة التهجين مع النوع الأول

٧ — أمكن الحصول على هجن جسمية بين الباذنجان وكلاً من: *Solanum aethiopicum*، و *S. integrifolium*، و *S. khasianum*، و *S. nigrum*، و *S. sisymbrifolium*، و *S. torvum*، إلاّ أنها كانت على درجة عالية من العقم باستثناء التهجين بين الباذنجان وكلا من النوعين الأول والثانى الذى كان خصبًا فى كل منهما، علمًا بأن الهجين الجنسى فى كلتا الحالتين كان خصبًا كذلك

٨ — حُصِل على أول نبات هجين جسمى من التهجين بين *Nicotiana glutinosa*، و *N. langsdorffii*، كما حُصِل على هجن جسمية ذات مزايا هامة اقتصاديًا من الاندماج بين *N. tabacum*، و *N. rustica*، حيث أظهرت الهجن محتوى عال من النيكوتين، ومقاومة لكل من عفن الجذر الأسود الذى يسببه الفطر *Thielaviopsis basicola*، والعفن الأزرق الذى يسببه الفطر *Peronospora tabacina*

والغريب فى الأمر أن المقاومة للفطر الأخير لا تتوفر فى أى من الأبوين المهجنين جسميًا، ويبدو أنها ظهرت نتيجة للتفاعل بين التركيبين الوراثيين للأبوين. وقد أمكن كذلك نقل صفة المقاومة للـ TMV إلى هجن تبغ جسمية خصبة من كل من *N. nesophila*، و *N. stocktonii*

٩ — أمكن الحصول على هجن جسمية بين الطماطم والأنواع البرية القريبة التى يصعب تهجينها معها، وهى *L. chilense*، و *L. pennellii*، و *L. peruvianum* كذلك أمكن تهجين الطماطم جسميًا مع نباتات من أجناس أخرى، مثل *N. tabacum*، و *Solanum etuberosum*، و *S. etuberosum* x *S. brevidens*، و *S. lycopersicoides*، و *S. muricatum*، و *S. nigrum*، و *S. rickii*، و *S. tuberosum* ويتميز الهجين الجسمى بين الطماطم و *L. peruvianum* بخصوبته على خلاف الهجين الجنسى بينهما كذلك . فإنه بينما يستحيل إجراء التهجين الجنسى بين الطماطم، و *S. etuberosum*، فإن الهجين الجسمى بينهما كان ممكنًا وخصبًا.

١٠ — اقتُرح فى البطاطس إجراء التربية على سلالات ثنائية التضاعف، ثم إجراء تهجينات جسمية بينها (لاستعادة مستوى التضاعف الرباعى) . اقتُرحت هذه الطريقة كوسيلة بديلة لطرق التربية العادية للبطاطس وقد تم بالفعل فى السنوات الأخيرة إجراء عدد كبير من الاندماجات داخل النوع لهذا الغرض.

١١ — وفى اتجاه مماثل لما سبق بيانه تم — كذلك — دمج بروتوبلاست سلالات بطاطس أحادية متضاعفة مع بروتوبلاستات ثنائية التضاعف لكل من النوع الثنائى *S. phureja*، وأخرى من الهجين: *S. tuberosum* x *S. phureja*.

١٢ — أمكن بهذه الطريقة للتربية التنبؤ بمسلك عديد من الصفات فى الهجين، وذلك من واقع تواجدها فى الآباء الأحادية المتضاعفة dihaploid. وقد نقلت الصفات لمقاومة الأمراض أو الآفات، مثل جين المقاومة Ro1 المسئول عن مقاومة النيماتودا *Globodera rostochuensis* الذى نقل من أحد الآباء الأحادية المتضاعفة إلى الهجين، وكذلك نقل الجينات الرئيسية المسئولة عن المقاومة لكل من PVX، و PVY.

وقد أعطت عديد من الهجن محصولاً أعلى من محصول الأصناف القياسية التى قورنت معها.

١٣ – أمكن الحصول على هجن جسمية بين البطاطس وعديد من الأنواع البرية غير المتوافقة مع البطاطس – جزئيًا أو كليًا – فى التلقيحات الجنسية، وكان من بين هذه الأنواع، ما يلى:

S. brevidens	*S. bulbocastanum*
S. chacoense	*S. sircaeifolium*
S. commersonii	*S. nigrum*
S. pinnatisectum	*S. torvum*

كذلك أمكن الحصول على هجين جسمى مع النوع المتوافق جنسيًا مع البطاطس *S. berthaultii*

ويعد أكثر الأنواع البرية استعمالاً فى دراسات الدمج مع البطاطس النوع الثنائى الذى لا يكوّن درنات: *S. brevidens*، الذى يحمل جينات لمقاومة عديد من الأمراض، مثل PLRV، و PVX، و PVY، والعفن الطرى البكتيرى (Erwinia soft rot)، وهى التى أمكن نقلها بالفعل منه إلى البطاطس.

ولقد كانت بعض هذه الهجن الجسمية النوعية خصبة وأمكن تهجينها رجعيًا إلى البطاطس.

كذلك نقلت صفات تحمل البرودة من أنواع مثل *S. brevidens*، و *S. commersonii*، إلا أن الهجن كانت وسطا بين الأبوين فى شدة تحملها للبرودة.

وأظهر الهجين النوعى الجسمى بين البطاطس والنوع *S. circaeifolium* مقاومة لكل من *Phytophthora infestans*، و *Globodera pallida*.

١٤ – أمن كذلك الحصول على هجن جسمية بين البطاطس وكلا من *Lycopersicon esculentum*، و *L. pimpinellifolium* (عن Waara & Glimelius ١٩٩٥).

إن أكثر محاولات دمج بروتوبلاست البطاطس مع بروتوبلاست أنواع الجنس *Solanum* البرية الثنائية التضاعف أجريت بهدف نقل صفات المقاومة للأمراض، ومن أمثلة ذلك صفات المقاومة لكل من *Phytophthora infestans*، و *Globodera pallida* من النوع *S. circaeifolium*، وفيرس التفاف أوراق البطاطس من *S. brevidens*. كذلك نقلت صفات تحمل البرودة والصقيع من *S. commersonii* (عن Millam وآخرين ١٩٩٥)

المحددات والتحديات

تكون الهجن الجسمية إما متساوقة symmetric (وهى التى تحتوى على الهيئتين الكروموسوميتن الكاملتين لكلا الأبوين)، وإما غير متساوقة asymmetric (وهى التى تحتوى على هيئة كروموسومية كاملة من أحد الأبوين، بينما يكون الأب الآخر ممثلاً ببعض كروموسوماته فقط، وقد تفقد بعض الكروموسومات من كلا الأبوين فى الهجين) وجدير بالذكر أن عدم التساوق الكروموسومى أمر عشوائى يحدث تلقائيًا ولا يمكن التنبؤ به، وهو لا يقتصر على الجينات النووية فقط، حيث قد يحدث — كذلك — فى الجينات السيتوبلازمية. ويزداد الاهتمام حاليًا بالهجن غير المتساوقة كروموسوميًا، بهدف إنتاج هجن جسمية سيتوبلازمية (cybrids)، لأجل نقل صفات سيتوبلازمية هامة (مثل العقم الذكرى السيتوبلازمى، والمقاومة للأمراض، وتحمل مبيدات الحشائش) فى خطوة واحدة.

هذا ولا يمكن استعمال الهجن الجسمية المتساوقة symmetric بصورة مباشرة كأصناف جديدة من المحصول المراد تحسينه نظرًا لاحتواء تلك الهجين على الهيئة الكروموسومية الكاملة للنوع الآخر المستخدم فى التهجين، الأمر الذى يستدعى إجراء التهجين الرجعى لعدة أجيال مع التقييم المستمر قبل التوصل إلى صنف جديد مقبول زراعيًا. وفى المقابل .. فإن الهجن الجسمية غير المتساوقة asymmetric — وهى التى يحصل عليها بمعاملة بروتوبلاستات النوع المعطى بأشعة إكس — تحتوى فقط على كروموسوم واحد أو كروموسومين من النوع المعطى، الأمر الذى يقود إلى إنتاج صنف تجارى يحتوى على صفة أو صفات جديدة مرغوب فيها دونما حاجة إلى مزيد من

الجهد فى تربيته. أما إذا أمكن استبعاد جميع كروموسومات النوع المعطى مع نقل سيتوبلازمه فقط، فإن الهجين السيتوبلازمى cybrid الناتج قد يحتوى على صفات سيتوبلازمية مرغوب فيها مثل صفة العقم الذكرى السيتوبلازمى (عن Millam وآخرين ١٩٩٥).

إن عدم التطابق incongruity بين مكونات الاندماج الجسمى لخلايا الطماطم مع خلايا البطاطس أو خلايا التبغ لم يسمح بإنتاج cybrids حقيقية أو هجن جسمية خصبة؛ مما يدل على أهمية كل من تفاعل السيتوبلازم مع النواة، وتفاعل النواة مع النواة فى تلك الحالات. ومن أهم مشاكل محاولات دمج بروتوبلاستات الأنواع البعيدة عن بعضها تقسيميًّا ضعف خصوبة الهجن وعدم حدوث اقتران يذكر بين كروموسومات الأبوين. وفى حالة التهجين الجسمى بين الطماطم والبطاطس أمكن الحصول على نسل خصب بمعدل منخفض حينما تمت زراعة أعداد كبيرة من الأجنة بعد التهجين الرجعى للهجين السداسى التضاعف (طماطم ٢ن + بطاطس ٤ن) مع البطاطس الرباعية (عن Wolters وآخرين ١٩٩٤).

وغالبًا ما تكون الهجن الجسمية الناتجة عن دمج بروتوبلاستات أنواع نباتية بعيدة عن بعضها البعض تقسيميًّا .. غالبًا ما تكون عقيمة، ونادرًا ما تستعمل الهجن الجسمية بصورة مباشرة؛ مثلما حدث عند إعادة تركيب النوع الهجينى المتضاعف *Brassica napus*، وكذلك عندما أنتجت أصناف بطاطس رباعية التضاعف خليطة وراثيًّا بدمج سلالات أحادية متضاعفة، واستعمال الهجن الجسمية لأشجار الفاكهة كأصول جذرية.

ويهتم المربى بالطرق التى تتبع لأجل الحد من المادة الوراثية التى تنقل من الأنواع البرية إلى الهجن الجسمية التى تنتج من اندماجها مع الأنواع المزروعة؛ وهو أمر قد يتحقق بالتخلص من كروموسومات كاملة من بين التى حُصل عليها من النوع البرى، إلاّ أن هذه العملية تكون عشوائية؛ حيث لا يمكن التنبؤ بالكروموسومات التى يتم فقدها (عن Waara & Glimelius ١٩٩٥).

ويمكن تلخيص أهم المحددات والتحديات التى تواجه إنتاج الهجن الجسمية والاستفادة منها، فيما يلى:

١ -- تتطلب الاستفادة من عملية دمج البروتوبلاست توفر نظام كفء لتجديد النمو من لبروتوبلاستات وعلى الرغم من أن دمج بروتوبلاستات أى نوعين أمر ممكن، فإن إنتاج نباتات هجين لم يكن ممكنا إلا فى حالات خاصة

٢ -- إن عدم توفر وسيلة فعالة للانتخاب بين البروتوبلاستات المندمجة يعد أحيانا مشكلة كبيرة

٣ غالبًا ما تكون نواتج دمج البروتوبلاستات غير متوازنة (عقيمة، أو مسوهة، أو غير ثابتة)؛ ومن ثم تكون غير خصبة ولا يمكن إكثارها جنسيًا

٤ كثيرًا ما يتكون نمو كالوسى كيميرى فى مكان الهجن، ويرجع ذلك — عادة — إلى عدم اندماج الأنوية بعد اندماج الخلايا وانقسامها كل على انفراد

٥ — يؤدى دمج نوعين ثنائيين إلى الحصول على تراكيب متضاعفة هجينيًا amphidiploid، وهو أمر لا يكون — عادة — مرغوبا فيه؛ ولذا يفضل فى كثير من الأحيان دمج بروتوبلاستات النباتات الأحادية.

٦ - كثيرا ما تكون النباتات الناتجة من عملية التهجين الجسمى شديدة التباين

٧ لا يمكن أبدا الجزم بأن صفة معينة مطلوبة سوف يتم التعبير عنها بعد التهجين الجسمى

٨ — يكون الثبات الوراثى أثناء زراعة البروتوبلاست ضعيفا

٩ — لكى يمكن الاستفادة من ناتج عملية دمج البروتوبلاست فى برامج التربية فإن الهجن الجسمية التى تحتوى على خليط من الجينات من نوعين مختلفين يجب أن تكون قادرة على التكاثر الجسمى، لأنه يلزم فى الغالبية العظمى من الحالات تهجينها رجعيًا إلى النوع المزروع؛ وعلى الرغم من ذلك فإن عددًا كبيرًا من الهجن الجسمية النوعية والغالبية العظمى من الهجن الجسمية الجنسية تكون عقيمة تمامًا (عن Chawla ٢٠٠٠)

مصادر إضافية

من بين المصادر الإضافية التى يمكن الرجوع إليها بخصوص مزارع البروتوبلاست والهجن الجسمية، ما يلى:

المرجع	الموضوع
Vasil (١٩٨٠)	التحديات والتقدمات فى مجال أبحاث البروتوبلاست
Vasil & Vasil (١٩٨٠)	عزل البروتوبلاست وزراعته
Cooking (١٩٧٥، و ١٩٨٣)	استخدام مزارع البروتوبلاست فى إنتاج الهجن البعيدة
Sink (١٩٨٤)	دمج البروتوبلاست لتحسين النباتات
Lorz (١٩٨٥)	دمج مختلف عضيات الخلية فى خلايا نباتات أخرى
Power & Chapman (١٩٨٥)	عزل البروتوبلاست وزراعته
Gaynor & Kaur-Shawhney (١٩٨٥)	إنتاج محاصيل جديدة عن طريق دمج البروتوبلاست
Veilleux وآخرون (٢٠٠٥)	استخدام مزارع البروتوبلاست فى تحسين النباتات