وتعود تلك التغيرات الـ epigenetic – غالبًا – إلى ثلاثة أحداث خلوية، هي:

١ – التضخيم الجيني gene amplification.

٢ – مثلمة الدنا DNA methylation.

٣ – زيادة في نشاط العناصر التي تغير وضعها transposable elements

يعتقد بأن زيادة التعبير الجيني تحت ظروف الشدّ الانتخابي العالي – فيما يعرف بالتضخيم الجيني – يعد أحد الوسائل الرئيسية لظهور التباينات الـ epigenetic التي تختفي تدريجيًا بزوال عامل الضغط الانتخابي المؤثر.

ويقدر أن نحو ٢٥٪ من الهيئة الوراثية لأي نبات يمكن أن يحدث بها مثلمة methylation في مواقع السيتوسين cytosine وعلى الرغم من أن أهمية ذلك العامل ليست معلومة، فقد اقترح أن حدوث methylation، و demethylation للدنا هو أحد الوسائل التي يمكن عن طريقها التحكم في النشاط النسخي transcriptional activity للدنا، علمًا بأن حدوث الـ methylation والـ demethylation أمر تحفزه ظروف بيئات المزارع

أما الزيادة في نشاط العناصر التي تغير وضعها فإنها تحدث بوضوح في مزارع الأنسجة حيث تظهر عناصر elements وراثية قادرة على التحرك حول الهيئة الوراثية، بما يؤثر بشدة على عملية تنظيم عمل الجينات gene regulation، ويزداد تحرك تلك العناصر في المزارع (عن Taji وآخرين ٢٠٠٢)

تباينات المزارع الوراثية والأساس الوراثي لظهورها

تتميز مزارع الخلايا بأن كل خلية فيها يكون لها القدرة على أن تصبح فردا جديدًا، ويعني ذلك وجود احتمالات كبيرة للغاية؛ لظهور الطفرات في النباتات التي تتميز من هذه المزارع نظرا للأعداد الهائلة من الخلايا التي توجد بها فعلى سبيل المثال يحتوى كل ١٠٠ مل من مزرعة معلق خلايا التبغ على أكثر من ١ × $١٠^{٧}$ خلية ولا يحتاج الأمر إلى أكثر من تطوير طريقة مناسبة لتقييم هذه الخلايا للصفة أو الصفات المرغوب فيها، بحيث لا تبقى في المزرعة سوى الخلايا المحتوية على الطفرات المرغوبة ثم توفير الظروف التي تساعد على تميز الأجنة من هذه الخلايا المطفرة

تحدث التغيرات الوراثية — تلقائيًا — فى جميع أنواع المزارع تقريبا، وتعرف - كما أسلفنا - باسم Somaclonal Variation. وقد أمكن التعرف على اختلافات وراثية فى صفات المقاومة للأمراض، وعدد الأيام إلى الإزهار، والمحصول، وحجم النبات، وشكل الجزء الاقتصادى من النبات .. إلخ، ولوحظت هذه التباينات فى مزارع محاصيل متنوعة، مثل قصب السكر، والبطاطس، والتبغ، والأرز، والذرة، والشعير، والبرسيم، والجزر، والأناناس، والخس، والثوم، والصليبيات، والقرنفل .. إلخ (عن Carlson وآخرين ١٩٨٤، و Daub ١٩٨٤)

ويمكن إرجاع الأساس الوراثى لتباينات المزارع لأى من الأسباب التالية:

١ — حدوث تباينات على المستوى الكروموسومى

كثيرًا ما تحدث فى مزارع الأنسجة تغيرات فى كل من أعداد الكروموسومات وتركيبها؛ فالتضاعف الكروموسومى التام وغير التام أمر عادى، كما تظهر الكثير من التغيرات الكروموسومية التركيبية، مثل حالات النقص، والإضافة، والانقلاب والانتقال. وبينما تكون تلك التغيرات الكروموسومية الكبيرة واضحة بسهولة عند الفحص المجهرى، فإن التغيرات الصغيرة جدًا — التى لا يسهل رؤيتها — قد تكون أكثر حدوثًا وأكثر تأثيرًا على التركيب الوراثى.

وعلى الرغم من أن حالات التعدد الكروموسومى غير التام aneuploidy نادرًا ما تظهر فى الطبيعة إلا فى النباتات المتضاعفة بطبيعتها إلاّ أنها كثيرة الشيوع فى مزارع الأنسجة، وظهرت فى مزارع عديد من النباتات، مثل البسلة، والتبغ، والجزر، والفول. كما تنشأ حالات كثيرة من التعدد الكروموسومى غير التام، والتام فى مزارع متوك بعض النباتات مثل الداتورة، والشعير، والأرز، والبيتونيا.

كما أمكن إحداث التضاعف الذاتى بسهولة فى مزارع الخلايا؛ بإضافة الكولشيسين إليها مباشرة فأمكن — على سبيل المثال — إنتاج ٤٨٠ نباتًا متضاعفًا بانتظام من مزرعة خلايا لأحد الهجن النوعية فى الجنس *Saccharum* كان قد أضيف إليها الكولشيسين بتركيز ٥٠ مجم/لتر لمدة ٤ أيام. ويحدث التضاعف الكروموسومى الطبيعى بانتظام كذلك

فى كثر من مزارع الخلايا، وكثيرا ما وجدت حالات تضاعفت فيها الخلايا الثنائية إلى ٤ن، و ٨ن، وأحيانًا إلى ١٦ ن

ولقد ظهرت نباتات رباعية التضاعف بين نباتات القاوون التى تجدد نموها فى المزارع من كل من الأجنة الجسمية، والنموات الخضرية العرضية adventitious shoots، ومبادئ النموات الخضرية shoot primprdia، وذلك بنسبة ٣١٪، و ٣٠٪، و ٤٪ على التوالى، بينما لم تظهر أى نباتات رباعية التضاعف بين تلك التى تكاثرت من البراعم الجانبية axillary buds (Ezura وآخرون ١٩٩٢).

يحدث التضاعف فى نباتات المزارع نتيجة للتضاعف الذاتى أو لاندماج مكونات الأنوية، ويتضمن التباين الكروموسومى كلا من التضاعف الكروموسومى غير التام والتام قد تحدث حالات التضاعف غير التام نتيجة لعدم الانفصال الكروموسومى non-disjunction، أو لاختلال فى تكوين خيوط المغزل، أو نتيجة لحدوث كسور كروموسومية يترتب عليها تكوين كروموسومات عديمة السنترومير أو ذات سنترومين ومن المعتقد أن التحكم الطبيعى فى دورة الخلية — الذى يمنع انقسام الخلية قبل اكمال انقسام الدنا — هذا التحكم يختل فى مزارع الأنسجة، مما يؤدى إلى حدوث كسور كروموسومية، تؤدى بالتالى إلى ظهور حالات الاقتضابات deletions، والازدوجات duplications، والانقلابات inversions، والانتقالات الكروموسومية translocations وهذه الكسور الكروموسومية تكون غير عشوائية، حيث تتضمن المناطق الكروموسومية التى تتأخر فى الانقسام وهى التى تحتوى على الكروماتين الخامل heterochromatin وقد تؤدى الكسور الكروموسومية إلى تكون طفرات بصورة مباشرة من خلال إحداثها لظاهرة التأثير الوضعى position effect، أو تحريرها للتعبير الجينى بسبب ما تحدثه الكسور من إعادة ترتيب للمواضع الكروموسومية فى أماكن قريبة من مناطق كروموسومية خاصة ذات كروماتين خامل كذلك فإن التغيرات فى مستوى مثلمة الدنا DNA methylation يمكن أن تحفز حدوث الكسور الكروموسومية

وتختلف درجة عدم الثبات الكروموسومى فى مزارع الأنسجة من نوع نباتى لآخر،

كما تتأثر حالة عدم الثبات الكروموسومى — كذلك — بعمر الكالس، فكلما ازداد عمره كلما ازدادت درجة عدم الثبات

٢ — العبور الجسمى:

تزداد حالات العبور الجسمى somatic crossing over فى ظروف مزارع الأنسجة، كما تزداد فيها — كذلك — حالات التبادل غير المتناظر asymmetric بين الكروموسومات غير المتماثلة non-homologus أثناء الانقسام الميتوزى، الأمر الذى قد يؤدى إلى حدوث نقص أو تكرار فى أجزاء من الكروموسومات يمكن أن تنعزل فى الانقسامات الميتوزية التالية.

كما قد يتسبب العبور الميتوزى mitotic crossing over فى ظهور بعض التباينات الوراثية التى تقود إلى تعبير بعض الجينات المتنحية عن ذاتها نتيجة لتواجدها فى تراكيب عبورية أصيلة.

٣ — تكوين الطفرات العاملية.

تكون بعض التغيرات المورفولوجية التى تظهر فى النباتات التى يتجدد نموها من مزارع الأنسجة عبارة عن طفرات عاملية بسيطة قد تكون سائدة أو متنحية، وبسيطة أو كمية، ولكنها تكون غالبًا بسيطة ومتنحية وقد أوضحت الدراسات التى أجريت على المستوى الجزيئى للدنا أن تلك التغيرات تكون فى الموقع الجينى ذاته، ولا يكون مردها إلى أى فقد أو إضافة كروموسومية.

لا تعبر الطفرات العاملية البسيطة المتنحية عن ذاتها فى الجيل الذى يحدث فيه تجديد النمو (R_0)، ولكنها تظهر فى الجيل التالى — الناتج من التلقيح الذاتى — (R_1) بنسبة ١:٣.

ومن أمثلة الطفرات المتنحية التى ظهرت فى مزارع الأنسجة حالات المقاومة للذبول الفيوزارى التى ظهرت فى مزارع الطماطم، وحالات تحمل بعض مبيدات الحشائش (chlorsulfuron، و sulfometuron methyl) التى ظهرت فى مزارع التبغ، كما أمكن التعرف على ١٣ طفرة يتحكم فى كل منها جين واحد فى ٢٣٠ نباتًا تجدد نموها من مزارع أنسجة الطماطم.

٤ — التغيرات فى دنا عضيات الخلية (التغيرات الوراثية السيتوبلازمية)

تتضمن التغيرات السيتوبلازمية الوراثية دنا الميتوكوندريات، كما هو معروف بالنسبة للحساسية لسم السلالة T من الفطر *Drechslera maydis* مسبب مرض لفحة الأوراق الجنوبية فى الذرة، التى توجد فى كل التراكيب الوراثية للذرة التى تحتوى على سيتوبلازم سلالة تكساس العقيمة الذكر cms-T، فهاتان الصفتان على درجة عالية من الارتباط ويتحكم فيهما دنا الميتوكوندريا. ولقد أمكن الحصول من مزارع الأنسجة على طفرة غير حساسة لسم الفطر ولكنها كانت — كذلك — خصبة الذكر كذلك تحدث الطفرات فى دنا الكلوروبلاستيدات، ولكن بنسبة أقل مما تحدث به فى الميتوكوندريات

٥ — تغيرات وراثية من نوعية الـ deamplification (تصغير)، والـ amplification (تضخيم) للفعل الجينى، وتنشيط العناصر المتنقلة transposable elements الذى يدفع الجينات التى كانت فاقدة التأثير (الساكتة) silent إلى إظهار تأثيرها، والـ methylation والـ demethylation للدنا، كما يلى:

أ — مضاعفة وتضخيم الدنا DNA amplification:

يؤدى تضاعف وتضخيم الدنا إلى زيادة إنتاج الرنا الرسول mRNA والبروتين الذى تُنتجه الجينات المكونة لذلك الدنا، وذلك أمر قد يحدث فى تباينات المزارع، كما ظهر فى تباينات المقاومة لمبيدات الحشائش فى مزارع أنسجة البرسيم الحجازى

ب — عناصر (الدنا) المتحركة transposable elements

إن عناصر الدنا المتحركة هى أجزاء من الدنا يمكنها التحرك من مكان لآخر فى الهيئة الكروموسومية، ويمكن أن يؤدى انفصال تلك الأجزاء عن أماكنها وإعادة التصاقها فى مكان آخر من نفس الكروموسوم أو فى كروموسوم آخر إلى احتمال إحداثها لتأثيرات مباشرة على تعبير الجينات المجاورة لها

جـ - مثلمة الدنا DNA methylation.

يمكن أن يكون التباين فى مدى تشبع الدنا بالميثانول عاملاً رئيسيًا فى حدوث الطفرات فى المزارع، إذ إنه يمكن أن يؤخر انقسام الكروماتين الخامل heterochromatin، مما يترتب عليه حدوث كسور كروموسومية وتغيرات فى التعبير الجينى.

كما أن مثلمة الدنا يمكن أن يزيد من إحداث التباينات فى الصفات الكمية بسبب احتمال تأثيره على عديد من الجينات فى آن واحد هذا إلا أن التباينات الناتجة تكون من النوع الـ epigenetic، ولا يترتب على مثلمة الدنا سوى حالة من عدم الثبات الوراثى (عن Brar & Jain ١٩٩٨، و Jain ٢٠٠١، و Chahal & Gosal ٢٠٠٢)

أمثلة لبعض أنواع تباينات المزارع

جُمعَت التباينات الوراثية التى ظهرت فى مزارع الأنسجة لمختلف الأنواع المحصولية بين الصفات النوعية والكمية، ومن أمثلتها ما يلى

١ — العقم الذكرى فى الذرة.

٢ — المحتوى البروتينى المرتفع فى كل من الأرز والترتيكيل

٣ -- محتوى السكر المرتفع فى قصب السكر

٤ - التبكير فى الذرة

٥ — التغيرات فى طول النبات، والسفا، وعدد الخلفات، ولون الحبوب، وموعد ظهور السنابل، والبروتين الجلوتينى gliadin protein، والألفا أميليز فى القمح

٦ — تحمل مبيد الحشائش أترازين atrazine فى الطماطم والذرة، والجلايفوسيت فى التبغ

٧ — المقاومة للأمراض فى الذرة، وقصب السكر، والمسترد، والبطاطا

٨ — تحمل الملوحة فى الأرز.

٩ — ارتفاع محتوى الليسين والثيونين فى الحبوب

١٠ — زيادة قوة نمو البادرات فى الخس.

١١ — انعدام المفصل فى عنق ثمار الطماطم (عن Chahal & Gosal ٢٠٠٢)

ولقد أمكن العثور على تباينات مرغوبة فيما فى مختلف أنواع المزارع، كما يتبين من الأمثلة التالية:

أ — مزارع الخلايا والكالس

انتخبت سلالات طفرية كثيرة من مزارع الخلايا سواء أكان ذلك بعد تعريض المزارع للعوامل المطفرة، أم بدون ذلك التعريض. وكانت أبسط طرق الانتخاب