العوامل المؤثرة فى معدل تباينات المزارع

تتوفر تقارير تفيد حدوث تباينات مزارع بنسب عالية وصلت فى الكرفس إلى ١٠٠٪، وفى خصوبة القمح إلى ٣٪-٢٦٪، كما قدر البعض أن معدل حدوث الطفرات فى الجينات المفردة تبلغ ٤-٥٪. إلاّ أن الكثرة الغالبة من تلك التباينات هى - غالبًا - ناتجة من تكاثر نباتات مزارع أو انقسامات لخلايا ظهرت بها تلك التباينات فى المزارع ذاتها؛ بمعنى أن تلك النسبة العالية من التباينات نشأت عن تكاثر لتباين سابق.

ويمكن القول - بصورة عامة - أن نسبة تباينات المزارع تتراوح - غالبًا - بين ١٪، و ٣٪. ولا يعنى ذلك توقع ظهور طفرة فى أى جين بنسبة ١-٣٪، ولكنه يعنى أن ١-٣٪ من النباتات التى يتجدد نموها فى المزارع سوف تختلف عن النبات الذى أكثرت منه فى بعض الصفات الفيزيائية أو البيوكيميائية (عن Skirvin وآخرين ١٩٩٤).

ويتأثر مدى ظهور تباينات المزارع بالعوامل التالية:

١ - مدى انحراف النمو فى المزارع عن النمو الطبيعى المنتظم:

أصبح من المعروف والمسلم به أنه كلما انحرف النمو عن الصورة الطبيعية التى تتميز فيها الخلايا بشكل طبيعى، وكلما طالت فترة ذلك الانحراف كلما زادت احتمالات ظهور تباينات المزارع. وعلى سبيل المثال .. تُعد مزارع الكالس القديمة ومزارع معلقات الخلايا غير ثابتة وراثيًا، وغالبًا ما تُظهر النباتات التى يتجدد نموها منها أو من البروتوبلاستات التى يتحصل عليها منها قدرًا كبيرًا من تباينات المزارع.

هذا .. ويتباين كثيرًا مستوى التضاعف فى النباتات التى يتجدد نموها من مزارع الكالس، ومزارع معلقات الخلايا، ومزارع البروتوبلاست، مما يدل على ضعف التحكم فى تنظيم خطوات الانقسام الميتوزى أثناء تكاثر الخلايا بالمزارع.

٢ - فترة النمو المرزعى (فى البيئة الصناعية):

كثيرًا ما تتراكم التباينات فى المزارع القديمة التى حوفظ عليها لفترة طويلة - كما أسلفنا بيانه - إلى درجة أنه عند الإكثار الدقيق يتعين التوقف عن إعادة زراعة المزارع بعد فترة معينة (بغرض الحد من الـ subculturing)؛ لما قد تتضمنه كثرة إعادة الزراعة من مخاطر ظهور تباينات المزارع. ولذا .. تلجأ شركات الإكثار الدقيق إلى بدء مزارع

جديدة بصورة منتظمة، مع إنهاء المزارع القديمة (عدم تجديدها) لضمان استمرارية إنتاج الشتلات

أما عندما تكون المحافظة على المزارع لأطول فترة ممكنة أمرا ضروريًا – كما فى بنوك الجيرمبلازم – فإن المزارع تحفظ فى أوعية محكمة الإغلاق فى الثلاجة أو فى النيتروجين السائل

وعلى الرغم من أهمية المحافظة على الجيرمبلازم من التغير الوراثى، فإن الجيرمبلازم المخزن لفترة طويلة يمكن أن يكون مصدرًا جيدا للتباينات الجديدة

٣ – التركيب الوراثى للنبات الذى يؤخذ منه الجزء المزروع:

يتباين مدى الاستعداد لظهور تباينات المزارع باختلاف التركيب الوراثى للنبات الذى أخذ منه الجزء المزروع، كما أن النباتات المتضاعفة – بما لها من قدرة أكبر على تحمل التغيرات الوراثية فيها – تكون أكثر إنتاجًا للتباينات فى المزارع وبينما يكون للطفرات الجينية فرصة أكبر للظهور فى النباتات الأحادية والثنائية فإن فرصتها للبقاء تكون أكبر فى النباتات المتضاعفة، حتى وإن كانت لها تأثيرات ضارة.

وتحديدًا .. فإن معدل ظهور تباينات المزارع يتوقف على العوامل التالية التى تتعلق بالتركيب الوراثى للنبات الذى يؤخذ منه الجزء المزروع:

أ - التركيب الوراثى للصنف المستعمل

يستدل من عديد من الدراسات على أن معدل ظهور تباينات المزارع تتأثر بالتركيب الوراثى للنبات المستعمل، حيث توجد تباينات صنفية داخل النوع النباتى الواحد، وأخرى نوعية داخل الجنس الواحد

ب – عمر الصنف المستعمل:

يبدو أنه لا يوجد ارتباط كبير بين عمر الصنف المستعمل فى الزراعة ومعدل ظهور التباينات فيه، على الرغم من توقع ظهور تباينات أكثر فى الأصناف القديمة التى قد تتراكم فيها الطفرات وتأخذ فرصتها للتعبير عن ذاتها فى مزارع الأنسجة

جـ – مستوى التضاعف:

يبدو أن التباينات التى تظهر فى المزارع تكون أعلى فى النباتات المتضاعفة، وفى الأنواع التى تحتوى -- أصلاً — على عدد كبير من الكروموسومات عما فى النباتات الثنائية العدد الكروموسومى وتلك التى ينخفض عدد الكروموسومات فيها ولعل قصب السكر من الأمثلة التى تؤيد ذلك، وهو نبات يحتوى على عدد كبير من الكروموسومات، وكان أول نبات اكتشفت فيه تباينات المزارع وعند عمل مزارع الكالس أو البروتوبلاست فى البرسيم الحجازى الثنائى العدد الكروموسومى، فإن أول التباينات التى تلاحظ فى مزارع الكالس أو البروتوبلاستات تكون النباتات الرباعيه التضاعف، بينما تكثر فى مزارع البرسيم الحجازى الرباعى العدد الكروموسومى كلا من حالات التضاعف الكروموسومى غير التام aneuploidy والتام autoploidy

ويمكن القول أن مستوى تضاعف النبات المستخدم فى الزراعة يعد أحد أهم العوامل المؤثرة فى هذا الشأن. حيث يزداد ظهور التباينات — على الأقل تلك التى تتضمن حالات عدم الثبات الكروموسومى — بزيادة مستوى التضاعف. وقد يكون مرد ذلك إلى زيادة تحمل النباتات المتضاعفة لحالات عدم التوازن الجينى التى قد تحدث بفعل التغيرات الكبيرة التى تدخل ضمن حالات التضاعف الكروموسومى سواء أكان ذلك بالزيادة، أم بالنقصان أما بالنسبة للطفرات العاملية فإن فرصة ظهورها تكون أكبر فى النباتات الأحادية والثنائية عما فى النباتات المتضاعفة، إلا أن فرصة بقاءها — إن كانت لها تأثيرات ضارة — تزداد فى النباتات المتضاعفة

ويعد الموز (وهو ثلاثى التضاعف) من أكثر الأنواع النباتية تكوينا للتباينات فى مزارع الأنسجة، ففى أستراليا ذكر أن ٩٠٪ من نباتات الموز التى نتجت من مزارع الأنسجه كانت مخالفة للصنف تحت ظروف الحقل. وكانت معظم تلك التباينات من نوع واحد يطلق عليه اسم choke throat، وهى حالة تمنع سُباطة الموز من البزوغ من خلال الساق الكاذبة للنبات، وتعطى سُباطة شديدة الاندماج ذات أصابع صغيرة الحجم ويعتقد بأن هذا المحصول — الذى لا يحدث فيه تقدمًا يذكر عند محاولة تحسينه بطرق التربية التقليدية — قد يشهد تقدمًا ملموسًا فى تربيته إذا ما أمكن الاستفادة من التباينات الكبيرة التى تظهر فى مزارع الأنسجة

٤ – محتوى بيئات الزراعة من منظمات النمو:

تؤثر منظمات النمو - مثل الـ 2,4-D، و الـ BA – على تباينات المزارع خلال مرحلة النمو فى بيئة الزراعة من خلال تأثيرها على انقسام الخلايا، ودرجة عدم انتظام النمو، والتكاثر السريع لفئة خاصة من الخلايا ولقد وجد – على سبيل المثال – أن منظم النمو 2,4-D يتسبب فى ظهور نسبة عالية من التباينات كذلك يتسبب غاز الإنيلين عند تركيزات تقل عن ٠,١ جزء فى المليون بالحجم فى ظهور تغيرات مورفولوجية، وذلك إذا سمح له بالتراكم فى أوعية المزارع.

ومن المعتقد أن معدل ظهور التباينات يزداد بزيادة التركيز العام لمنظمات النمو، كما يمكن أن يؤثر التركيز العالى على معدل التباينات التى تظهر نتيجة للتضاعف الكروموسومى مقابل تلك التى تنشأ كطفرات عاملية

هذا إلاّ الأنواع النباتية تختلف فى مدى استجابتها لمختلف منظمات النمو، كما تختلف كذلك – فى محتوى الأجزاء النباتية المزروعة منها من منظمات النمو الطبيعية، ولذا يكون من الصعب – غالبًا – تحديد البيئة المثلى لتحفيز ظهور تباينات المزارع

كما وجد أن السيتوكينينات تقلل من مدى التضاعف بالمزارع

٥ المكونات الأخرى لبيئات الزراعة:

وجد – على سبيل المثال أن تغيير مستويات الفوسفات والنيتروجين وصور النيتروجين فى بيئة الزراعة يجعل من الممكن التحكم فى مستوى التضاعف

٦ – ظروف المزارع

تؤدى بعض الظروف التى تتعرض لها المزارع، مثل الحرارة الأعلى عن ٣٥°م، وطول مدة بقاء المزرعة إلى زيادة معدل ظهور التباينات فى النباتات التى يتجدد نموها منها

٧ – الجزء النباتى المزروع:

تجب عند محاولة الحصول على تباينات مزارع فى صنف أو نوع نباتى جديد محاولة إجراء الزراعة باستعمال explants مختلفة لأنها لا تتماثل – غالبًا – فى معدل

ظهور التباينات فيها. وبصورة عامة .. فإن التباينات تكون أقل ظهورًا عندما تستخدم فى الزراعة نموات سابقة التكوين، مثل: البراعم الإبطية، والقمة النامية الخضرية والميرستيمية، مقارنة باستخدام explants لا يوجد بها ميرستيمات سابقة التكوين لنموات خضرية، مثل: الأوراق، والجذور، والبروتوبلاست. وبعبارة أخرى .. فإنه كلما كانت الأنسجة فى الجزء النباتى المستعمل فى الزراعة أكثر تخصصًا وأكبر عمرًا كلما زادت فيها فرصة ظهور تباينات المزارع؛ ذلك لأن معظم التغيرات الوراثية المسئولة عن تلك التباينات غالبًا ما تصاحب عملية التميز النسيجى فى النمو والتطور النباتى الطبيعى.

ونجد فى الأقحوان — على سبيل المثال — أن النباتات التى يتجدد نموها من البتلات المزروعة يظهر بها قدرًا أكبر من التباينات الخاصة بلون الزهرة عن تلك التى يتجدد نموها من أعناق الأزهار.

٨ — معدل التكاثر والتزايد فى العدد proliferation rate:

تُظهر المزارع التى تزداد فيها أعداد النموات الجديدة بمعدلات عالية تباينات أكثر مما يكون عليه الحال فى المزارع التى يكون فيها معدل التكاثر متوسطًا.

٩ — إمكانية الانتخاب للتباينات فى البيئة:

يمكن إجراء الانتخاب للتباينات فى بعض الصفات المرغوب فيها، مثل: المقاومة للأمراض، وتحمل مبيدات الحشائش، وتحمل الملوحة. ولكى يكون هذا الانتخاب ذا قيمة، فإن الصفات التى يتم الانتخاب لها على المستوى الخلوى يجب أن تعبر عن ذاتها على مستوى النبات الكامل، وهو أمر لا يتحقق فى كل الصفات (عن Skirvin وآخرين ١٩٩٤، و Karp ١٩٩٥، و Gosal & Chahal ٢٠٠٢، و Taji وآخرين ٢٠٠٢).