السيتولوجيا[1]

وعلاقته بالخلية النباتية وتركيبها

الدكتور سيّد خربوش
مدرس علم النبات بمدرسة الزراعة العليا

اتسعت معلوماتنا عن التركيب السيتولوجي للخلية النباتية اتساعاً مطرداً في السنوات العشر الاخيرة ويرجع ذلك الى تقدم السيتولوجيا تقدماً محسوساً بزيادة المشتغلين به من ذوي الكفاءات العلمية البارزة من حيث الدقة في البحث وقوة الملاحظة والابتكار وما قاموا به من ضروب التغيير والتحسين في طرق الابحاث الفنية وما ابتدعوه أيضاً من الطرق الحديثة في هذا الصدد

حقاً إن السيتولوجيا حديث العهد ولو انهُ خطا خطوات جليلة في الثلث الاول من القرن العشرين الاّ انهُ اعتراه من العقبات ما لم يسهل تذليله الاّ بعد ابحاث دقيقة ومشاهدات عديدة بذلها عدد كبير من نوابغ السيتولوجيين المشهود لهم بدقة البحث وصحة التفكير . فمن تلك الصعاب طريقة فحص الخلية حية in Vitro وطريقة فحصها بعد تثبيتها (Fixation) او بعبارة اخرى درس الحياة كما هي في الطبيعة ثم الوقوف على مصيرها بعد الموت

ففي الحالة الاولى كانت تفحص الخلايا الحية باجراء مقطوعات في الانسجة او بفصل جزء منها ثم توضع في بيئة صناعية خاصة لفحصها . وقد أظهرت التجارب ان هذه الطريقة تسبب تغيرات ظاهرة في تركيب الخلايا البنائي الطبيعي فضلاً عن انها لم تأت بالغرض المقصود من جهة درسها بدقة لان اجزاءها المختلفة كانت تظهر وتتنثر ككتلة شفافة بصعب تمييز بعضها عن بعض . اما في الحالة الثانية التي تعتبر مكملة للاولى وهي فحص الخلايا بعد قتلها بالطرق الكيمائية المختلفة فكانت تؤثر الطريقة المذكورة بلا ريب تأثيراً شديداً في التركيب الهستولوجي (تشريحها الدقيق) الطبيعي للخلايا باحداث تغيرات ربما كان بعضها هاماً لجعل البحث غير مطابق للواقع . لذلك اعتقد بعض الباحثين حينذاك ان هذا العلم الحديث ليس مبنيًّا على طرق وقواعد ثابتة ذات نتائج علمية صحيحة

غير ان التجارب المتعاقبة العديدة اثبتت نجاح هذه الطرق الفنية لاسيما فيما يتعلق بدراسة النواة وطرق انقسامها المختلفة . بيد ان محتويات السيتوبلازما[2] الخلوية الاخرى ظلّ

(١) السيتولوجيا هو علم يتناول التشريح الدقيق للخلية بطرق فنية خاصة
(٢) سيتوبلازما الخلية هو الكتلة البروتوبلازمية الحية التي يتركب منها جسم الخلية ما عدا النواة

فحصها سهلاً وغير كاف حتى نشوب الحرب العظمى الاخيرة . ووقتئذٍ فقط ابتدأت أفكار الباحثين أن توجه العناية الكافية نحو درسها درساً وافياً يتفق واهميتها الحيوية العظمى اذ هي مصدر الحياة . فكانت اول خطوة موفقة في هذا الصدد هي تبديل وتحسين طرق الفحص الفنية القديمة التي كانت بلا شك ناقصة . وقد وصلوا فعلاً الى نتائج مرضية في هذا السبيل وذلك باستعمال طرق جديدة قد توصلوا لها اخيراً واسموها الطرق الميتوكوندريالية Méthodes mitochondriales التي كان لها الفضل في جعل الباحث السيتولوجية الحديثة قريبة للحقيقة والواقع

ولا يخفى ان فحص الخلية النباتية فحصاً حيوياً مع كبر حجمها احياناً أكثر ملاءمة وأقل صعوبة منه في الخلية الحيوانية . ذلك لانهُ يمكن للباحث مشاهدة خلايا الانسجة الداخلية الشفافة لكثير من النباتات الورقية بمجرد نزع البشرات الواقية لها من ضرر الماء الغزير بدون اجراء اي عملية اخرى . كذلك توجد نباتات مائية كثيرة يسهل فحصها في نفس البيئة الطبيعية النامية فيها بدون ان يحدث اي تغيير محسوس في تركيب السجتها الطبيعي

وبمقارنة التركيب الناتج من الفحص الحيوي لنبات ما بما ينتجه الفحص الغير حيوي لنفس النبات اي بعد عملية التثبيت يمكن الحكم على مقدار فعل وتأثير كثير من المحاليل الكيمائية القائمة للانسجة النباتية الحية في سيتوبلازمها ومحتوياته واعطاء كل منها قيمته الهستوكيمائية[1] الخاصة . اضف الى ما ذكر اكتشاف كثير من الصبغات الحية التي تكاد تكون خاصة بكل طائفة من طوائف سيتوبلازما الخلية والتي بواسطتها تصبغ اجزاء هذه الطوائف حية حيث يسهل على الفاحص درس كل منها على حدة ومشاهدته . ومن أجل هذا قد امتازت تلك الطرق الحديثة امتيازاً عظيماً عن غيرها من حيث الدقة في البحث وعدم وجود اي التباس في ادراك الحقيقة

اذن يتبين مما تقدم انه بابتكار تلك الطرق الفنية الحديثة النوه عنها توصل السيتولوجيون الى فحص السيتوبلازما ومحتوياتها فحصاً ادق واضبط عن ذي قبل ودرسها خصوصاً فيما يتعلق بالمملكة النباتية . ولا شك في ان هذا قد فتح باباً جديداً لتطور هذا العلم وتقدمه من جهة سيتولوجيا الخلية الحيوانية ايضاً التي ابتدأت دراستها ان تنهض فعلاً كما في النبات . وعلى الجملة فان السيتولوجيا النباتية وتقدمها المطرد يعزز الامل بأن تصبح علماً ثابتاً في المستقبل القريب واسع النطاق له شأن في تسهيل حل كثير من المسائل الفسيولوجية المعقدة التي لم يعرف كنهها بعد

(١) أي تأثيرها الكيماوي في اجزائه المختلفة

بعض الطرق السيتولوجية لفحص محتويات الخلية النباتية

(السيتوبلازما وفحصها حية) : اتجهت كما ذكرنا افكار الباحثين من السيتولوجيين حديثاً الى اتباع طريقة فحص الخلية حيةً ومشتملاتها كلما استطاعوا نظراً الى صحة نظريتهم بأنها انجع الطرق وأقربها للواقع فاعتبروها اذن بمثابة ميزان توزن به نتائج الطرق الاخرى القاتلة والصابغة العديدة لانها توضح الاجزاء المختلفة للخلية وتركيبها توضيحاً مفصلاً لا سيما وقد عثروا اخيراً على بيئة صالحة لدرس الخلية حيةً بدون ان يطرأ على تركيبها اي تغيير فوجدوا ان محلولاً مخففاً جداً Solution isotonique من سكر القصب (بنسبة ٥ر٧ ٪) افضل بيئة لذلك. وقد اصبح استعماله دائماً الآن في المعامل السيتولوجية الحديثة

ثم ان فحص السيتوبلازما حية خطا في العشر السنوات الاخيرة خطوات واسعة يرجع الفضل فيها الى الابحاث القيمة لكثير من العلماء امثال دانجارد وجيلرمون وكودري Dangeard & Guillermond & Cowdry وغيرهم فانها اظهرت لنا جلياً نتيجة تأثير صبغات الاجزاء الحية المختلفة لسيتوبلازما الخلية وكيفية استعمالها واختصاص كل منها بالنسبة لهذه الاجزاء

فمثلاً وجد كل من العالمين دانجارد وجيلرمون ان طائفة الفجوات الحلوية Vacuome تشتمل في جميع اطوارها البيولوجية على مواد غروية (كولويدية) ذات جاذبية هستوكيائية عظيمة لامتصاص معظم الاصباغ الحية للخلية والاحتفاظ بها كالاحمر المعادل (المحايد) Rouge neutre والكريزيل الازرق Bleu de Cresyl والازرق النيلي Bleu de Nil والميثيلين الازرق Bleu de Methylène اذ بواسطة تلك الاصباغ يسهل دراسة الفجوات باتقان ويمكن للباحث ان يتتبع تطوراتها المتتالية المختلفة التي يتعذر مشاهدتها مفصلاً كما توضح باتباع طرق الفحص الاخرى اي بعد تثبيت الخلية وصبغها

هذا فيما يتعلق بأجزاء الماكيوم اما فيما يختص بكوندريوم[1] Chondriome الخلية النباتية فقد وفق العالمان جيلرمون وكودري في ابحاثهما الى العثور على صبغات اخرى تصبغ اجزاءه حيةً الا انهما لاحظا ان سرعة قابلية اجزاء الكوندريوم للاصطباغ بهذه الصبغات والاحتفاظ بها اقل وأبطأ من تلك كما لاحظا ايضاً ان الصبغات الكوندريومية قلما تؤثر في اجزاء الماكيوم التي قد لا تصبغ الا نادراً

وأهم صبغات الكوندريوم الجانوس الاخضر «Vert Janus» والداهليا البنفسجي Violet de Dahlia والميثيل البنفسجي رمز (٥ ب) (5 B) Violet de Methyl

(١) يحتوي سيتوبلازما الخلية على عدة طوائف مستديمة مستقلة بعضها عن بعض ذوات وظائف خاصة أهمها طائفة الماكيوم والكوندريوم والبلاستيدوم

وقد وفق جايرمون في عام ١٩٢٣ الى طريقة سريعة للصبغ المزدوج وذلك بخلط محلولين مخففين (ايزوتونك) من الاحمر الحايد مع الجانوس الاخضر او من الاحمر الحايد والداهليا البنفسجي فتنتج عن الطريقة الاولى صبغ الفاكيوم بالاحمر الحايد وصبغ الكوندريوم بالجانوس الاخضر وعن الثانية صبغ الفاكيوم بالاحمر الحايد كما في الاولى والكوندريوم بالداهليا البنفسجي . ولكن لنجاح مثل هذه الطريقة لا بدَّ من التدريب والدقة عند تطبيقها

اما فيما يختصُّ بفحص المواد الدهنية في سيتوبلازما الخلية النباتية فلم يوفق الباحثون الى طريقة حيوية ناجعة حتى سنة ١٩٢٣ التي توصل فيها الاستاذ زفيبوم Zweibaum الى اكتشافها وتطبيقها بنجاح على الخلية الحيوانية اولاً والنباتية ثانياً باشتراكه مع مانجنو Mangenot فكان نجاحها في هذه الحالة لا يقلُّ عنه في الحالة الاولى اذ حصلا على اشكال في الحالة الاخيرة من الاجسام الزيتية المتحركة الزرقاء الجميلة

وقد اثبتت تجارب الباحثين فيما بعد صحة هذا الاكتشاف المهم وتأكدتُ منه انا ايضاً في ابحاثي الخاصة . اضف الى ذلك ما اسفرت عنهُ تلك الطريقة من النتائج الحسنة في صبغ الزيوت الطيارة والجدران الخلوية المركبة من السيوبيرين والكيوتين[1] غالباً وهذه الصبغة تعرف بصبغة الاندوفينول الازرق Bleu d'Indophenol وتحضر قبل الاستعمال مباشرة وذلك بأكسدة ملحي الالفا نافتول Naphto والـ Diamethylparaphinylendiamine بخلط بعضها مع بعض بالنسب الآتية وهي : —

المحلول الاول : ٠٫٥ جرام من الالفا نافتول Naphtol

١٠٠٫٠ س م٣ من الماء المقطر

٠٫٥ س م٣ من محلول البوتاسا المركز بنسبة ٣٣ ٪

مع تسخين المحلول قليلا حتى يذوب الالفا نافتول تماماً

المحلول الثاني : يذاب ٠٫٥ جرام من ملح Chlorohydrate de Diamethyparaphin.. ine

في ١٠٠٫٠ س م٣ من الماء المقطر

يؤخذ سنتيمتر مكعب من كل من المحلولين السالفي الذكر ويخففان بأضافة عشرين سنتيمتراً من الماء المقطر فيحصل على الصبغة المطلوبة التي ينبغي استعمالها فوراً والا تفسد

(السيتوبلازما وفحصها بعد تثبيتها) : اما الطرق المتبعة لفحص السيتوبلازما بعد التثبيت فتتلخص فيما يأتي : —

(١) بعض الجدران الخلوية النباتية لا تتكون مبنية من السلولوس فقط بل يدخل في بنائها مواد كيماوية اخرى مختلفة وهاتان منها

تعرف هذه الطرق بالميتوكوندريالية Méthodes Mitochondriales لانها بقتلها الخلية لا تسبب تغيراً يذكر في شكل محتويات السيتوبلازما وتركيبها خصوصاً في اجزاء (كوندريوسها وبلاستيدوسها) وذلك لخلوها من الكحول والحامض الخليك اللذين يؤثران تأثيراً رديئاً في اجزاء هاتين الطائفتين الدائمتين من سيتوبلازما الخلية النباتية الراقية فان وجدا سببا تغيراً محسوساً في شكل تلك الاجزاء وتركيبها وخاصة الميتوكوندري التابعة لطائفة الكوندريوم

وبين هذه الطرق الميتوكوندريالية طريقة ريجو Regaud الدائمة الاستعمال التي تتركب من جزء من محلول الفورمول التجاري Formol وثلاثة أجزاء من محلول بيكرومات البوتاسيوم المخفف بنسبة ٤٪ وطرق بندا وميفس Benda & Meves التي يدخل في تركيبها حامضا الكروميك والاوزميك بنسب مختلفة بعلول شرحها هنا

وان احسن الاصباغ الهستولوجية التي يمكن استخدامها بنجاح في هذه الحالات هي الهياتوكسيلين الحديدي رمز (٥) لريجو (5) Regaud وصبغة الفوكسين الحمضي لكول Kull فانها يصبغان اجزاء البلاستيدوم والكوندريوم بوضوح تام

(النواة وفحصها) : اما الطرق المستعملة لدرس نواة الخلية بعد تثبيتها فهي هي التي كانت تستخدم من قبل ولم تتغير الا قليلاً: فمثلاً محاليل كل من فلمنج Flemming ولنهوسك Lenhossek وبوان Bouin وجوول Juel وكرنو Carnot وغيرها من المثبتات للنواة لا تزال مستخدمة في معامل الهستولوجيا الى الآن لانها معدودة من أفضل المحاليل القاتلة للنواة . وبعض الباحثين لا يزال يستخدمها لهذا الغرض رغماً عما تحتوي عليه من الكحول والحامض الخليك في مقادير غير قليلة

ولكن شارب L.W. Sharp السيتولوجي المعروف اجرى في عام ١٩١٢ مباحث عديدة على النواة وتطوراتها المختلفة بأن استعمل قاتلاً مركباً من بيكرومات البوتاسا والسليماني Sublimate والفورمول فقط بحيث انه لم يدخل في تركيبه اي مقدار من الكحول ولا الحامض الخليك فأتت تلك الابحاث بنتائج عظيمة فاقت الطرق الفنية القديمة التي سبقتها بكثير

وفي سنة ١٩٢١ ظهرت ابحاث دي ليتاردير De Litardière الجليلة على نوى[1] كثير من النباتات السرخسية مع استخدامه لمحلول فلمنج المعدل حسب معادلة بندا وميفس الذي يكاد يكون خالياً من الحامض الخليك . فقد وجد ان هذا المحلول يثبت النواة مع المحافظة على تركيبها الطبيعي فلا يحدث فيها اي تغير يذكر في حين ان المحلول الاصلي لفلمنج يسبب تغيراً في التركيب الطبيعي لنوى هذه الكائنات

(١) جمع نواة

وفي سنة ١٩٢٢ وجد نويل ومانجينو Nöel & Mangenot ان معظم المحاليل المثبتة للنواة المجردة عن الكحول والحامض الخليك والتي اساس تركيبها الفورمول افضل من غيرها بكثير لانها تحفظ كيان النواة وتركيبها الطبيعي وتفوق في ذلك محاليل اخرى يدخل في تركيبها هذان السائلان . وقد حققت ذلك ابحاث هوفاس Hovasse وتشمبرس Chambers فيما بعد (١٩٢٤) فالاول بفحصه نوع من البريدينيان (Péridinien) فحصاً حيوياً قارنه بآخر بعد التثبيت للنبات نفسه والثاني بقيامه بسلسلة ابحاث ايرى تأثير المثبتات المختلفة في نرى خلايا كثير من النباتات المتنوعة

وبعدئذ ظهرت ابحاث مارتنس (Martens) القيمة سنة ١٩٢٥ في هذا الصدد فأثبتت صحة نظريات من تقدموه من الباحثين . والخلاصة هي اجتناب المحاليل المثبتة الداخل في تركيبها الحامض الخليك والكحول بكثرة في الابحاث الستولوجية الخاصة بالنواة ودراستها من هذه الوجهة كما سبقت الاشارة الى ذلك هنا بخصوص السيتوبلازما ومشتملاتها

هذا وان مسألة فحص النواة حية قد شغلت افكار الباحثين زمناً . فمنذ عشرين سنة قد افرد لها لوندجارد Lundegardh بحثاً مسهباً بملاحظاته العديدة عن درسها حية وفي سنة ١٩١٢ نجح كل من كيت Kie وتشمبرس Chambers في صبغ كروموسوم النواة حية بصبغة الاخضر الجانوس Vert Janus مع ان النواة لا تصطبغ بالاصباغ الحية بسهولة كما هو الحال في الكوندريوم . وجاء بعدئذ شودا Chodat بأبحاثه الحديثة في سنة ١٩٢٤ على الانقسام الاختزالي في نبات Gymnadenia Conopea وحقق ما تقدم

(الجدر الخلوية وفحصها) : اكتشف بوجنون Bugnon في عام ١٩١٩ طريقة جديدة لصبغ الجدر الخشبية خصوصاً ثم السوبرية والكوتينية عموماً اطلق عليها اسم الاخضر الفاتح Ver lumière الذي يعتبر الآن من احسن صبغات الجدر الخلوية . واشار هذا الباحث ايضاً باستعمال محلول مركز من صبغتي الاخضر الفاتح والسودان (٣) في محلول من الكحول الخفيف لدرجة ٧٠ للغرض نفسه . كما انهُ اكتشف حديثاً طريقة ثالثة لصبغ الجدر البكتوسيلوزية وذلك باستخدام الحبر العادي التجاري

ثم أتى بعد ذلك ميراند R. Mirande بابحاثه النفيسة مبيناً ان الكارمن الاليوني Carmin aluné والاخضر اليودي Vert d'Iode يكوّنان معاً صبغة ثنائية للمركبات البكتينية لا السيلولوزية كما زعم بعض الباحثين

سوف يتلو هذه التوطئة فصل يتناول بناء الخلية النباتية وأحدث ما عُرف عنهُ