محاضرات زراعة الانسجة النباتية

اعداد: ا.د. عبدالمنعم حسن الموسوي أ.م.د.ساجدة ياسين العسكري

المرحلة الرابعة

المحاضرة الاولى

الزراعه النسيجية: نظرة عامهPlant Tissue Culture: Over view

الزاعة النسيجية Plant tissue culture هي عبارة عن حقل من العلوم له عدة وجوه وتطبيقات مختلفة فبالامكان عن طريق هذه التقنية اجراء عمليات تتعلق بالاكثار بسهولة من قبل عامل بسيط داخل مطبخ البيت الى عالم مشهور يعمل داخل مختبر محكم متقن .

حديثا استخدم مصطلح التقانات الحيوية النباتية او **Plant Biotechnology** وهذا المصطلح يكون اعم واشمل من المصطلح من المصطلح الاول وذلك لتقدم العلوم وظهور التقنيات الحيوية المختلفة التي تدخل في التطبيقات النباتية المختلفة . وعلى العموم يمكن تقسيم تطبيقات التقانات الحيوية النباتية الى مجموعتين :

1. المجموعة الاولى والتي يطلق عليها الزراعة النسيجية والتي تتعلق بزراعة الخلايا والانسجة النباتية والتي تؤدي الى تكوين النباتات الكامله من هذه الاجزاء المزروعه. وهذه التقنية نشئت بالاعتماد على مفهوم قديم وهي القدرة الكامنه في الخلايا للتحول الى انواع مختلفة من الخلايا (Totipotency) والتي اشار اليها او ذكرها العالم هايبرلنت Haberlandt سنة 1902 واظهرها العالم ستيورت Steward في عام 1958 اذ استطاع فريقه العلمي وللأول مره من تحويل الخط الخلوي (Cell Line) في نبات الجزر الى الاجنة الصناعيهArtificial embryos () والتي عرفت فيما بعد بالاجنة الجسميه somatic embryo
2. بينماالمجموعة الثانية هي اكثر حداثة وهي مستمدة من المعرفة المتوفرة من شريط الDNA الحلزوني والتي اكتشفت من قبل العالمين واتسن وكريك سنة 1953. وهما اي الباحثين اساسا هذه القاعة الستراتيجية للبايلوجي الجزيئي.

ان مصطلح الزراعة النسيجية Plant tissue culture هو في الواقع اسم مغلوط Misnomer قد تم استعارته من حقل الزراعة النسيجة الحيوانية Animal Cell Cultureوذلك لأن اكثار النباتات يتعلق بالنبات بصورة كاملة وليس بجزء منها او بالانسجة المعزولة منها فقط لذا فمن الافضل استخدام مصطلح زراعة النبيتات Plantlet culture أو الأكثار الدقيق **Micropropagation** أو الأستنساخ بالزراعة النسيجية Cloning Tissue Culture او من الممكن أن نسيمه بالنشوء خارج الجسم الحي Growing In vitro وعلى العموم اي من المسميات المذكوره آنفا كلها تعني العملية نفسها وهي الأكثار الخضري للنباتات. وعلى اي حال ان هذه الطريقة من الأكثار أصالية أصبحت مقبولة من قبل حرفيو صناعة المشاتل في العالم كما ان لها تأثير كبير في التجارة البستنية بصورة عامه سنأتي على ذكرها فيما

يمكن ان نعرف الزراعة النسيجية على انها زراعة اي قطعة نباتية سواء اكانت من جذر اوساق او برعم او ورقة او نسيج او خلية في انبوبة او وعاء زرعي حيث تتوفر لها سيطرة مناسبة من الغذاء والبيئة خارج الجسم الحي كما ويجب ان تكون عملية الزراعة خالية من الملوثات (الكائنات الدقيقة كالبكتريا والفطريات).

وتقسم عمليةالاكثار بالزراعةالى اربعة مراحل مهمة:

1. المرحلةالاولى: مرحلة التأسيس ***Stage1: Establishment***
2. المرحلة الثانية: مرحلة التضاعف **Stage2: Multiplication**
3. المرحلة الثالثة: مرحلة التجذير: **Satage3: Rooting**
4. المرحلة الرابعة: مرحلة الأقلمة **Stage4: Acclimatization or Hardening**

ولكن قد تتداخل هذه المراحل مع بعضها البعض في بعض الحالات كما وقد تختلف احتياجات هذه المراحل من مرحلة الى أخرى او من نبات الى اخر كما وقد تضاف مرحله او اثنين وحسب النبات المكثر او حسب اسلوب او طريقة الاخلاف المتبعه.

ان مصطلح الزراعة النسيجية Plant tissue culture هو في الواقع اسم مغلوط Misnomer قد تم استعارته من حقل الزراعة النسيجة الحيوانية Animal Cell Cultureوذلك لأن اكثار النباتات يتعلق بالنبات بصورة كاملة وليس بجزء منها او بالانسجة المعزولة منها فقط لذا فمن الافضل استخدام مصطلح زراعة النبيتات Plantlet culture أو الأكثار الدقيق **Micropropagation** أو الأستنساخ بالزراعة النسيجية Cloning Tissue Culture او من الممكن أن نسيمه بالنشوء خارج الجسم الحي Growing In vitro وعلى العموم اي من المسميات المذكوره آنفا كلها تعني العملية نفسها وهي الأكثار الخضري للنباتات. وعلى اي حال ان هذه الطريقة من الأكثار أصالية أصبحت مقبولة من قبل حرفيو صناعة المشاتل في العالم كما ان لها تأثير كبير في التجارة البستنية بصورة عامه سنأتي على ذكرها فيما بعد.

يطلق على القطعة الصغيرة الماخوذه من اي جزء من النبات بالـ**Explant** وتستطيع هذه القطعة الصغيرة أن تتكاثر وتتنتج نباتات كامله فقط اذا توفرت لها ظروف ملائمة .

الوسط الغذائي **Medium** والجمع **Media** وهي عبارة عن القاعدة الاساسية **Substrate** لنمو النباتات وهي من المصطلحات الخاصة بالزراعة النسيجية وتعني خليط من موا د كيميائية محددة لتكون وسط غني بالمواد الغذائية والوسط الغذائي اما يكون سائلا **Liquid** او صلبة **Solid** ملائمة لنمو الاعضاء **Organs** او النبيتات **Plantlets** او الخلايا**Cells** .

تبدأ السيقان الفتية بالتطور في المزراع النسيجية عندما يزرع الـ**Explant** في الوسط الغذائي وهي تذكر بالنمو والتطور الأولي للبادرات عند زراعة البذور. وتستمر السيقان الصغيرة بالتضاعف منتجة اوراق خلال الدورة الزراعية خارج الجسم الحي وقد يكون هذا من حسن الحظ لأن اكثار النباتات المزروعة خارج الجسم الحي قد لاتنجح بالأكثار بصورة واسعة داخل الانابيب. تنقل النباتات الناتجه من عملية الأكثار الدقيق بعد عملية التضاعف الى خارج المختبر حيث يبدأ النبات بتكوين اوراق طبيعية في الحجم ومن المؤمل ان يكون لهذا النبات نفس خصائص النضوج للنباتات التي نشأ منها.

تسمى النباتات الناتجه من الزراعة النسيجية بالـ**Clone** اي النسخة المطابقة للنبات الام تمييزا لها عن النباتات المكثرة خضريا بأستخدام العقل او النباتات الناتجة من البذور وتتميز النباتات من الزراعة النسيجية بان التركيب الوراثي**Genetic make-up** لكل خلفه**Clone** مطابقة لجميع النسخ الناتجه من الزراعة النسيجية وكذلك للنبات الأم

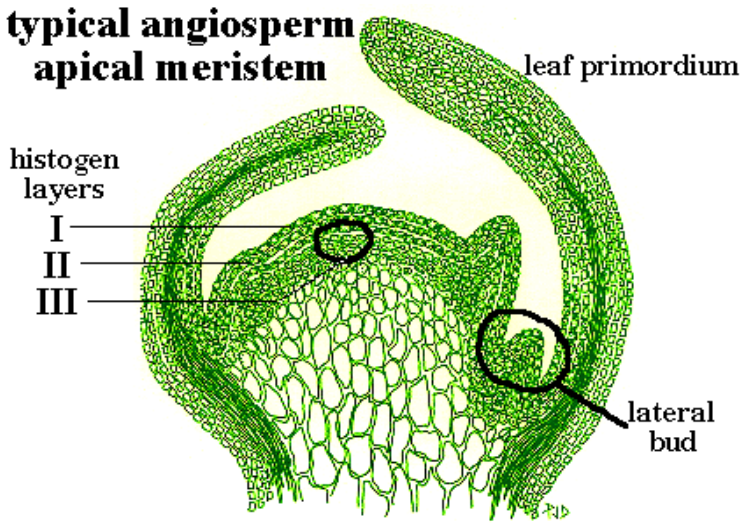
أهداف الزراعة النسيجية :

يمكن اجما ل هذه الأهداف بمايلي:

1. الأكثار الغزير للنباتا ت الصعبة الاكثار Recalcitrant plantاو النادره.
2. انتاج النباتات الخالية من الفايروسات
3. أكثار النباتا المعدلة وراثيا.
4. حفظ الجيرم بلازم للنباتات
5. شحن النباتات لمسافات بعيده
6. انتاج سلالات نباتية جديده.
7. انتاج المركبات الصيدلانية.
8. انتاج النباتات احادية الكروموسومات haploid plants

ان تنميةالنباتات بالطرق التقليدية الاعتيادية بأستخدام البذور او العقل غير عملية وذلك لعدة اسباب يمكن اجمالها بمايلي:

1. تفتقر النباتات الناتجه من البذور الى التماثل.
2. عدم مطابقة النباتات الناتجه من البذور للصنف الوراثي الاصلي الذي تولدت منه البذور
3. تاخذ البذور وقتا طويلا لتصل الى مرحلة النضج او النباتات الكامله.
4. يصعب حمل البذور
5. عدم توفر البذور بصورة دورية
6. العقل تنمو بصورة بطيئة
7. معدل بقاءها قليل
8. تحتاج الى الكثير من الرعاية
9. تكون معرضة لاصابة بالامراض
10. هناك قصور في الحصول على اصول النباتات او الاصول النباتية والتي تؤخذ منها العقل وذلك بسبب:
11. هناك هجين واحد فقط
12. هناك نبات واحد خالي من الفايروسات
13. هناك طفرة وراثية واحد فقط
14. ان عملية زراعة البذور او العقل الساقية في المشاتل يجب ان تكون في فصل محدد من السنة



أذن الزراعة النسيجية هي الطريقة العملية الوحيدة لنتاج الاعداد المطلوبة من النباتات ، لكن اذا توفر التجهيز المناسب للنباتات عن طريق البذور او العقل في هذه الحالة ستكون الزراعة النسيجية غير عملية لانها ستكون مكلفة خصوصا اذا كانت اعداد النباتات المطلوبه اقل من **1000** نبته.

أما اذا كانت النباتات الناتجه من البذور مقبوله ولكن لاتوجد كميه كافية منها اذن يمكن استخدام البذور او الاجنة المستاصلة من البذور كمادة او نسيج او عضو ملائم للبدء بالزراعة النسيجية.

في الطرق التقليدية بأكثار النباتات باستخدام العقل او البذور فان كل عقلة او كل بذرة تكون نبات واحد بينما بالمقابل فان القطعة النسيجية الواحده Explant يمكنها من الناحية النظرية ان تنتج اعداد لامتناهية من النباتات وبوقت قياسي . فعملية التضاعف في الزراعة النسيجية تكون بشكل لوغارتمي .من الامور المهمة في الزراعة النسيجية ان النباتات المزروعة داخل الانابيب لاتحتاج الى الرعاية اليومية التي تحتاجها النباتا في البيئة الحية كما هو الحال عند زراعة البذور او العقل الساقية . فالنباتات المزروعة داخل الانابيب تحتاج الى ان تنقل الى بيئات جديده(تجديد الوسط الغذائي) كل 2-6 اسابيع وهي لاتحتاج عند نقلها الى عمليات ري او تعشيب كما هو الحال في البيئة الحية.من الامور الواجب مراعاتها في مختبرات الانتاج التجاري الكبير للنباتات انه يجب ان يلحق بها مختبر بحثي صغير وذلك لغرض تنقية البروتوكولات الخاصه باكثار النباتات بالاضافة الى اجراء فحوصات السلامة الوراثية للنباتات . كما ويتم في هذا المختبر اصدار القرار بخصوص اكثار او عدم اكثار النباتات تجاريا . بالاضافة الى ان في هذا المختبر يتم التحري او تشخيص الملوثات البكترية او الفطرية التي تسبب فساد المزارع النسيجية. وعلى العموم فقبل البدء بانشاء مختبرات الاكثار يجب التاكد من وجود سوق لهذه النباتات والا سيكون انشاء هذه المختبرات غير ذي جدوى اقتصادية.

مساوىء الزراعة النسيجية Disadvatage of plant tissue culture

1. حدوث طفرات وراثية Mutation
2. يتطلب مختبرات خاصه او متطلبات خاصه
3. يتطلب مهارات خاصه
4. حدوث اخطاء يصعب تمييزها خلال عملية الأكثار