

زراعة الأنسجة النباتية

Plant Tissue Culture

المحاضرة السادسة

الخطوات المتبعة في عملية زراعة و تعقيم الجزء النباتي

أولا - تعقيم الجزء المستعمل Sterilization of the Explant

- بعد الحصول على الجزء النباتي من مصدره الأمهات تجرى عليه عملية التعقيم كالاتي:
- (1) يغسل الجزء النباتي المستعمل تحت تيار من ماء الحنفية لمدة ساعة أو أكثر وهذه تقلل من نسب التلوث إلي درجة كبيرة وإذا كان السطح الخارجي مغطى بطبقة شمعية فإن غسيل الجزء المنفصل بإحدى مساحيق الغسيل يساعد على جعل السطح الخارجي أكثر قابلية للبلل.
 - (2) يوضع في كحول إيثانول 70% لمدة نصف إلى واحد دقيقة ثم يغسل بالماء المقطر.
 - (3) يوضع في هيبوكلوريت الصوديوم (الكلوروكس) 5-20% لمدة ثلاث ساعة مع الرج والتقليب المستمر.
 - (4) يغسل بالماء المقطر المعقم 4-5 مرات للتخلص من آثار المادة المعقمة وبعدها يصبح الجزء النباتي قابل للزراعة. الخطوات من 2 حتى 4 تجرى داخل الهود.

ثانيا - زراعة الجزء المستعمل على سطح البيئة Culture of the explant

يتم زراعة النسيج المستعمل بعد تعقيمه على سطح البيئة المعقمة المحضرة سابقا باستخدام أدوات معقمة وهذه الزراعة تتم داخل هود معقم وهذا في حالة البيئة الصلبة أما اذا كانت البيئة سائلة فيوضع الجزء النباتي المستخدم على ركاب منغمس في البيئة ويسمى (قنطرة) وهي من ورق الترشيح الذي يتشرب المحاليل وينقلها إلي الجزء المنزرع. ويفضل أن تكون البيئة المستخدمة في المراحل الأولى صلبة وقد تكون سائلة في المراحل التالية.

ثالثا - تحضين المزارع Incubation of the cultures

ويتم تحضين المزارع في حضانة أو في غرفة نمو Growth Chamber التي تحتوى على ال Stands وهذه تحتوى على أرفف مضاءة توضع عليها المزارع والعوامل

البيئية اللازم توافرها عند زراعة الأنسجة وهي رطوبة مناسبة للمحافظة على الأنسجة من الجفاف ودرجة حرارة مناسبة واحتياجات ضوئية مناسبة. الاحتياجات البيئية المطلوبة هي:

أ - الاحتياجات الضوئية **Light requirement** وتشتمل على:

1 - الكثافة الضوئية **Light intensity**

تحتاج الأنسجة النباتية التي تم زراعتها في أوعية تحتوي على بيئة مغذية إلى ضوء لمساعدتها على نشأة وتخليق الأعضاء **Initiation** فالضوء ينظم عمليات التشكل **Morphogenetic processes** فهو يساعد على تكوين مبادئ الجذور والسوق وتخليق الأجنة النيوسيلية والأجنة الخضرية العرضية من نسيج الكالس ولعل صعوبة تكشف الأعضاء في بعض الزراعات الغير ناجحة يرجع إلى عدم تعرضها لشدة الإضاءة المناسبة وقد لوحظ أن زراعة الأنسجة يلزمها التدرج في شدة الإضاءة من 1000 إلى 3000 لوكس وهناك بعض المزارع تحتاج إلى 10000 لوكس.

2 - الفترة الضوئية **Photoperiod**

تحتاج معظم المزارع إلى 16 ساعة إضاءة و 8 ساعات ظلام وهناك البعض يحتاج إلى 12 ساعة إضاءة ومثلها ظلام.

ب - الاحتياجات الحرارية **Heat requirement**

في معظم الأحيان تكون درجة الحرارة 22 - 27°م هي أنسب درجة لنمو مزارع الأنسجة بالنسبة لنباتات المناطق المعتدلة إلا أنه في النباتات الاستوائية ونباتات المناطق الحارة يكون تكشف الأعضاء بصورة أفضل في درجات حرارة تتراوح ما بين 27 - 35°م.

عملية الأقلمة و الزراعة في التربة و الحقل للنباتات المستولدة

بعد تمام تكون النباتات داخل البرطمانات تأتي عملية الأقلمة

أقلمة النباتات **Acclimatization**

يجب تقسية النباتات قبل النقل وذلك بتعريض النباتات لشدة إضاءة عالية 10000 لوكس ثم نقل النباتات إلى أصص تحتوي على بيت موس والفيرمكوليت وتزرع النباتات تحت ضباب **Under mist** ويفضل تدفئة قاعدة أواني الزراعة فإن ذلك يشجع المجموع الجذري وتغذى ب ½ محلول هوجلاند أسبوعيا وبعد 3 - 4 أسابيع تنقل النباتات في الظل ثم تدريجيا

في الجو الخارجي بأرض المشتل أما النباتات التي لها طور راحة مثل الكورمات فيجب إستيفاء درجات الحرارة لكسر طور سكونها. وفي هذه المرحلة تؤقلم النباتات في حجرة الأقلمة وتنقل إلي الصوبة أو الحقل وتزرع في تربة مكونة من البيت موس والرمل بنسبة 1 : 1 بالحجم وأحيانا يضاف بيرلايت أو فوم لزيادة التهوية ثم ترش بعد ذلك بمحلول غذائي متكامل وأحيانا يستخدم هرمون تجذير لتشجيع تكوين مجموع جذرى وغالبا ما تتم هذه العملية في حضانات مجهزة لذلك ومزودة بعدادات لدرجات الحرارة ليلا ونهارا وأخرى للرطوبة والإضاءة (شدة الإضاءة - عدد ساعات الإضاءة) وهذا على النطاق البحثى أما على النطاق التجارى فإنها تتم في صوب مجهزة لذلك وغالبا مايستخدم نظام الري بالرش (الضباب) أو التغطية بأكياس البلاستيك. وهذه المرحلة هي الترجمة النهائية للعمل في مزارع الأنسجة وهي هامة للغاية ويجب ملاحظة أن لكل نبات طبيعة خاصة في الأقلمة.

الزراعة في الصوبة أو الحقل Greenhouse and Field الهدف من هذه المرحلة هو إعداد النباتات بصورة صالحة للنقل للتربة حيث تتوقف طريقة الإكثار الناجحة باستخدام زراعة الأنسجة على الإعداد الجيد لهذه النباتات وذلك بتجذيرها حيث تزيد نسبة الأوكسين في البيئة في هذه المرحلة ويقل أو لا يضاف السيتوكاينين ويجب معرفة طبيعة النباتات فمثلا:

- 1 - النباتات التي لها دور سكون فيجب كسره بالتعرض لدرجات الحرارة المنخفضة لفترة زمنية معينة.
- 2 - بعض النباتات تعمل على تقليل كمية السكر والأملاح في البيئة وزيادة الإضاءة لتنشط إنزيمات البناء الضوئى لزيادة الكفاءة التمثيلية للنباتات فيسهل أقلمتها.
- 3 - وفي بعض الأحيان تنقل النباتات مباشرة من المرحلة الثانية إلي التربة مباشرة مع إستخدام هرمونات التجذير.