



كلية العلوم

القسم : علم الحياة

السنة : الرابعة

المادة : تغذية ونمو

المحاضرة : التاسعة / عملي / د. مريم

{{ مكتبة A to Z }}

مكتبة A to Z : Facebook Group

كلية العلوم ، كلية الصيدلة ، الهندسة التقنية

يمكنكم طلب المحاضرات برسالة نصية (SMS) أو عبر (What's app-Telegram) على الرقم 0931497960

## التغذية المعدنية النباتية - الزراعات النسيجية

تستخدم زراعة الأنسجة النباتية كأسرع الوسائل لإكثار النباتات بتكلفة منخفضة وأعداد كبيرة وذلك من خلال الحصول على عدد كبير من النباتات في حيز محدود من المختبر وانطلاقاً من جزء نباتي واحد، ودون التقيد بموسم زراعي معين وفي أي وقت من العام. وتمتلك النباتات القدرة على الاستمرار في التكاثر اللاجنسي وإعطاء نباتات جديدة، وذلك لأنها تحتوي على الخلايا الميرستيمية في مختلف أعضائها وفي أماكن مختلفة مثل القمم النامية أو الأوراق أو الساق أحياناً بعد أنواع الجذور أو الأعضاء التكاثرية (مدقة، أسدية) أو الأجنة النباتية.

ولأن كل خلية من خلايا النبات تحتوي في نواتها وبنيتها السيتوبلاسمية مجموعة من المعلومات الضرورية لتكوين الفرد الجديد كنسخة طبق الأصل عن النبات الأم. يقصد بزراعة الأنسجة النباتية زراعة أي جزء صغير ومعقم من أجزاء النبات المختلفة مثل القمة الميرستيمية أو جزء من الورقة أو الساق أو جزء من الجذر أو الأعضاء التكاثرية وغيرها في أنابيب اختبار أو أربلميرات أو أطباق زجاجية حاوية على بيئة مغذية معقمة (صلبة أو سائلة)، وتتم عملية الزراعة في ظروف معقمة داخل غرفة خاصة بزراعة الأنسجة (Laminar Flow Hood) ومن ثم تحضن الزراعات في حاضنة نمو نباتية Plant Growth Room ضمن شروط خاصة من درجة الحرارة والشدة والكثافة الضوئية والرطوبة ولمدة محددة من الضوء والظلام، وتختلف تلك الشروط باختلاف النوع النباتي، ويمكن بتطبيق هذه التقانة الحصول على فرد جديد بدءاً من خلية أو قطعة صغيرة من أحد أعضاء النبات الأم أو الجنين النباتي أو الميرستم ذاته أو برعم جانبي.

يتم اختيار الجزء النباتي لاستخدامه في هذه التقانة وفقاً للهدف المرجو من ذلك حيث تزرع البراعم القمية والبراعم الجانبية وكذلك العقد الساقية على أوساط مغذية وبوجود تراكيز هرمونية مناسبة للإكثار السريع كونها تحوي نسجاً ميرستيمية، وتعد أسرع عمليات الإكثار. ويمكن زراعة القمم الميرستيمية للساق أو الجذر أو زراعة القطع الورقية وقطع من الساق لبادرات حديثة النمو بهدف الحصول على الكالوس ومن ثم تحريضها لإنتاج نباتات جديدة أو استخدامها لإنتاج مركبات الاستقلاب الثانوي

تعد زراعة الأنسجة النباتية من أهم التقانات الحديثة التي تساعد على فهم آلية تأثير المغذيات بأنواعها المختلفة على نمو وتطور النباتات وقد عمد العلماء على تجريب العديد من الأوساط الزراعية التي استندت في بنيتها الرئيسية على العناصر المعدنية الكبرى والصغرى وضيف لها بعض المتممات اللازمة لعمليات النمو مثل الحموض والامينية والفيتامينات كمصدر للطاقة والغذاء الملائم للنمو وكذلك عدد من الهرمونات حسب النوع النباتي المزروع وكذلك أضيف السكر كمصدر للكربون وبذلك تكون هذه البيئات المغذية محاكاة للبذور ومدخراتها أو بديلاً عن النبات الأم الذي يمد الفروع الجديدة بالمغذيات في حال التكاثر الخضري الطبيعي، وقد استفاد الباحثون في هذه التقانة من قدرة الخلايا على العودة عن التمايز والبدء بالانقسام من جديد وتشكيل فرد كامل، ومن هنا تمكن الباحثون من عزل خلايا منفردة أو قطع من أجزاء نباتية تحتوي على نسج ميرستيمية وزرعها في أوساط صناعية تؤمن لها ما ينقصها من غذاء ومواد نمو نباتية ونجحوا في الحصول على أفراد جديدة تحمل الصفات ذاتها للأصل وبأعداد كبيرة وضمن مساحة صغيرة من المختبر. ومن أهم أهداف ومميزات زراعة الأنسجة النباتية PLANT

:TISSUE CULTURE

- 1- التخلص من العوامل الفيروسية الممرضة حيث ان انقسام النسيج الميرستيمية أسرع من انقسام الفيروسات وكذلك النسيج الميرستيمية خالية من النسيج الوعائية التي تحتاجها الفيروسات لتنتقل ضمن النبات وتنتقل العدوى.
- 2- اختصار الدورة الزراعية للنبات والحصول على اعداد كبيرة من النباتات وفي مساحة صغيرة من المختبر.
- 3- الحصول على نباتات ذات صفات اقتصادية مرغوبة.
- 4- تحديد الأوساط المغذية الملائمة للأنواع النباتية بهدف إجراء العديد من الدراسات الفيزيولوجية من حيث منع ردود الفعل بين أجزاء النبات المختلفة من جملعة جذرية وجملعة فارعية.
- 5- عدم تدخل جملعة الامتصاص وبخاصة الأوبار الجذرية التي تبدل من تركيب المحاليل المغذية.
- 6- عدم الاعتماد على المدخرات كنقطة بدء وتوفير المساحات الزراعية اللازمة للحصول على النباتات في المشاتل.
- 7- تبديل الإمكانيات الوراثية وبخاصة لنباتات الحبوب (قمح، شوفان،.....الخ) وذلك عن طريق مايلي:
  - زراعة البروتوبلاست.
  - استخدام الأشعة والمواد الكيميائية لإحداث طفرات وراثية ضمن النسيج النباتية.
  - إنتاج نباتات أحادية الصيغة عن طريق زراعة الأعراس.
  - التغلب على العقم عند بعض الأصناف من خلال إنتاج النباتات الهجينة.

### شروط نجاح زراعة الانسجة النباتية:

- 1- يجب ان يتم إعداد الأوساط المغذية الصناعية وتحضير النبات المراد أخذ الجزء منه. الوسط المغذي المعدني MS لتنمية البادرات و زراعة القطع النباتية بهدف الإكثار أو الحصول على الكالوس، ويتألف هذا الوسط من العناصر المعدنية الكبرى و الصغرى الأساسية اللازمة لنمو النبات وبعض الفيتامينات والحموض الأمينية و السكروز بنسبة 3% و أضيفت هرمونات النمو بتركيز مختلفة وهي : من الاوكسينات (NAA: Naphthalene acetic acid & 2,4-D: Dichlorophenoxy acetic aside) ومن السيبتوكينينات مركب 6-Benzylamino purine (BAP) ثم تم ضبط درجة PH على القيمة 5.7، وأضيف إليه 8 غرام آغار لكل 1 لتر.
  - 2- العمل ضمن ظروف تامة التعقيم أي العمل ضمن جهاز تعقيم وتنقية الهواء Laminar flow hood. وتعقيم الأجزاء النباتية والأدوات والمواد. يتم تعقيم البذور سطحياً باستخدام الكحول 70% لمدة دقيقتين، ثم تغسل بالماء المقطر المعقم وتنتقل إلى محلول هيبوكلوريت الصوديوم 10% لمدة 15 دقيقة، ثم تم تغسل بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات متتالية لإزالة آثار الهيبوكلوريت وتزرع البذور في أطباق بتري باستخدام ماء الصنبور فقط.
  - 3- وضع الزراعات ضمن غرف نمو خاصة مجهزة بتحكم آلي بشروط الإضاءة والرطوبة والحرارة والتي تختلف وفقاً لنوع العينة النباتية ومصدرها وحسب الهدف المرجو من الزراعة. وغالباً تحضن الزراعات بالدرجة  $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$  وبإضاءة 16 ساعة بالتناوب مع 8 ساعات ظلام وبشدة ضوئية 3500 - 5000 لوكس ودرجة رطوبة  $75 \pm 2\%$ .
- المواد او المكونات المطلوب توافرها في معمل الزراعات النسيجية النباتية:

**أقسام معمل الزراعات النسيجية:** جب أن يتضمن معمل زراعة الأنسجة النباتية على غرف خاصة بالزراعات المعقمة تعرف بغرف الزراعة النباتية المعقمة أو laminar flow hood وكذلك على غرف خاصة بتحضير الاوساط الزرعية وتعرف باسم Media preparation room وغرف خاصة بالتعقيم تحوي اجهزة خاصة بالتعقيم Autoclave ومن ثم غرف الحاضنات النباتية plant growth room وتضبط الشروط المناسبة لكل نوع نباتي حسب احتياجاته البيئية من حرارة وضوء ورطوبة.

**أما الأدوات:** تشمل الأدوات المستخدمة في التحضير للزراعات النسيجية النباتية (ملاقط معدنية، مقاييس مدرجة وبالون معايرة و أرلنمايرات بأحجام مختلفة وناييب اختبار زجاجية او علب زجاجية او اطباق بتري قابلة للتعقيم الاوتوغلاف، أوراق ترشيح ومصاصات ومقياس PH وميزان حساس )

و فيمايلي بعض انواع الأوساط المستخدمة في الزراعات النسيجية النباتية:

الكمية مقدرة بـ م/ل وفقا لعدد من البيئات المغذية المقترحة من العلماء						
E1	N6	Nitsch's	B5	M&S	White	
العناصر الكبرى						
400	185	185	250	370	750	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O
250	400	68	–	170	–	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
–0	–	–	150	–	19	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O
2100	2830	950	2500	1900	80	KNO <sub>3</sub>
600	–	720	–	1650	–	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>
450	166	–	150	440	–	CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O
–	463	–	134	–	--	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
العناصر الصغرى						
3	1.6	–	3	6.2	1.5	HBO <sub>3</sub>
–	4.4	25	–	22.3	5	MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O
10	3.3	–	10	–	–	M2nSO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O2
2	1.5	10	2	8.6	3	ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O
0.25	–	0.25	0.25	0.25	–	NaMoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O

CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	0.01	0.025	0.025	0.025	–	0.025
CoCL <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	–	0.25	0.025	0.025	–	0.025
KI	0.75	0.83	0.75	–	0.80	0.80
FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	–	27.8	–	27.8	27.8	–
NaEDTA. 2H <sub>2</sub> O	–	37.3	–	37.8	37.8	–
EDTA Na ferric salt	–	–	43	–	–	43
Socarose (gr)						
	20	30	20	20	25	25
الفيتامينات						
Thiamine HCL	0.01	0.5	10	0.5	1	10
Pyrodoxine HCL	0.01	0.5	1	0.5	0.5	1
Nicotinic acid	0.05	0.5	1	5.0	0.5	1
Myoinositol	–	100	100	100	–	250
Glycine	3	2	–	2	–	–
Folic acid	–	–	–	0.5	–	–
Biotin	–	–	–	0.05	–	–
PH						
	5.8	5.8	5.5	5.8	5.8	5.5

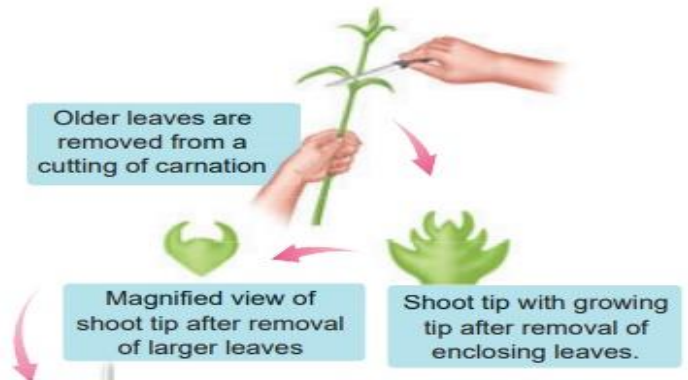
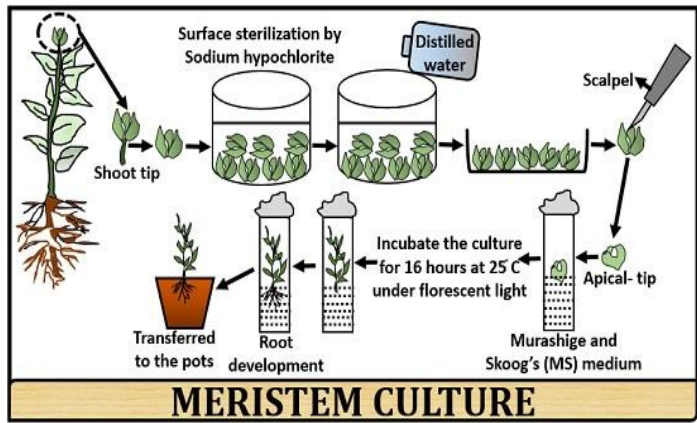
### طريقة العمل:

تجمع العينات النباتية المراد زراعتها حسب الهدف من الزراعة (أفرع نباتية أو باردات حديثة النمو أو أعضاء تكاثرية أو أجنة نباتية... الخ) وتجهز العينات للتقطيع إلى عدد من القطع النباتية وفقاً لهدف الزراعة كما في الشكل 1 (عقد وبراعم قمية للإكثار مباشرة، وأما الأوراق والقطع الساقية فهي للحصول على الكالوس ومن ثم الإكثار)

تعقم العينات النباتية بعد غسلها جيداً إذا تم جمعها من الطبيعة ويتم التعقيم والزراعة كما هو موضح في الشكل التالي الذي يوضح زراعة الميرستم النباتي.

- توضع العينات في كحول إيثيلي بنسبة 75 % لمدة 3 دقائق ومن ثم تغسل بالماء المقطر المعقم مرة واحدة.
- توضع في محلول هيبوكلوريت الكالسيوم بتركيز 10% لمدة تتراوح من 2- 15 دقيقة حسب نوع الجزء النباتي (المدة القليلة للأنسجة الطرية والمدة الأطول للأنسجة البالغة).

- تغسل العينات بالماء المقطر المعقم 3 مرات متتالية لإزالة آثار الهيبيكلوريت.
- تجفف العينات على ورق ترشيع معقم.
- تزرع العينات باستخدام ملاقط معقمة معدنية في أنابيب اختبار أو أطباق بتري مجهزة بالأوساط المغذية الملائمة حسب الهدف من الإكثار.
- تحضن العينات في حاضنة نمو نباتية مجهزة بإضاءة وحرارة ورطوبة مناسبة للنوع النباتي.



#### أقلمة النباتات الناتجة من زراعة الأنسجة:

يتم نقل البراعم الناتجة من الإكثار على الوسط الأفضل إلى أنابيب زجاجية تحوي الوسط MS بدون هرمون بهدف تنميتها، وتحضن الزراعات في حاضنة نمو نباتية بالشروط الملائمة.

يتم نزع السدادات القطنية عن الأنابيب الحاوية على البادرات المتجذرة واستبدالها بغطاء من الشاش لمدة 24 ساعة، وبعد ذلك تم نزع البادرات المجذرة من الأنابيب، ومن ثم تغسل الجذور للتخلص من الآغار الصلب وتزرع هذه البادرات في أصص أو أحواض تحوي تورب مغذٍ، ويمكن أن تحضن في غرفة زجاجية مجهزة بشروط ملائمة وذلك بهدف أقلمتها مع الطبيعة.

شارك بتدريس وتطبيق الجزء العملي:

د. وليد علي - د. أيثم إبراهيم

## الجلسة التاسعة

التاريخ // 2025	عنوان الجلسة: التغذية المعدنية - زراعة الأنسجة النباتية	عملي تغذية ونمو نباتي
-----------------	---	-----------------------

						أسماء الطلاب
						السلامة المهنية والتزام الطالب 3 درجات
						إنجاز التقرير 4درجة
						الدرجة النهائية 7 درجة

اكتب بشكل مختصر ما تعلمته من زيارتك لمعمل زراعة الانسجة النباتية في رحلتك العلمية

