



كلية العلوم

القسم : علم الحيوان

السنة : الرابعة

91

المادة : تغذية ونمو

المحاضرة : التاسعة / عملي / د. مريم

# A to Z مكتبة

# Facebook Group : A to Z مكتبة



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، دون 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 اوحياناً بعد انواع الجذور أو الأعضاء التكاثرية (مدققة، أسدية) أو الأجنة النباتية.

ولأن كل خلية من خلايا النبات تحتوي في نواتها وبنيتها السيتو بلاسمية 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 ارلنمايرات أو أطباق زجاجية حاوية على بيئة مغذية معقمة (صلبة أو سائلة)، وتم 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 والكتافة 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 او الميرستم ذاته أو برمجماني.

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 لـ لإكثار السريع كونها تحوي نسجاً ميرستيمية، وتعد أسرع عمليات الإكثار. ويمكن زراعة القمم الميرستيمية للساقي 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 الثاني.

تعد زراعة الأنسجة النباتية من أهم التقانات الحديثة التي تساعد على فهم آلية تأثير المغذيات بتنوعها المختلفة على نمو وتطور النباتات وقد عمد العلماء على تجريب العديد من الأوساط الزراعية التي استندت في بنيتها الرئيسية على العناصر المدنية الكبرى والصغرى واضيف لها بعض المتممات الازمة لعمليات النمو مثل الحموض والأمينية 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 ومدخلاتها 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 اهداف ومميزات زراعة الأنسجة النباتية PLANT

:TISSUE CULTURE



- 1- التخلص من العوامل الفيروسية الممرضة حيث ان انقسام النسج الميرستيمية أسرع من انقسام الفيروسات وكذلك النسج الميرستيمية خالية من النسج الوعائية التي تحتاجها الفيروسات لتنقل ضمن النبات وتنقل العدو.
- 2- اختصار الدورة الزراعية للنباتات والحصول على اعداد كبيرة من النباتات وفي مساحة صغيرة من المختبر.
- 3- الحصول على نباتات ذات صفات اقتصادية مرغوبة.
- 4- تحديد الأوساط المغذية الملائمة لأنواع النباتية بهدف إجراء العديد من الدراسات الفيزيولوجية من حيث منع ردود الفعل بين أجزاء النبات المختلفة من جملة جذرية وجملة فارعية.
- 5- عدم تدخل جملة الامتصاص وبخاصة الأوبار الجذرية التي تبدل من تركيب المحاليل المغذية.
- 6- عدم الاعتماد على المدخلات 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 النسج 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 المعdeni MS لتنمية البادرات وزراعة القطع النباتية بهدف الإكثار أو الحصول على الكاللوس، ويتألف هذا الوسط من العناصر المعدنية الكبرى و الصغرى الأساسية اللازمة لنمو النبات وبعض الفيتامينات والحموض الأمينية و السكاروز بنسبة 3% وأضيفت هرمونات النمو بتراكيز مختلفة وهي : من الاوكسينات (NAA: Naphthalene acetic acid & 2,4-D: Dichlorophenoxy acetic aside) ومن السيتوكونينات 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 وتنقل 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 آلبي بشروط الإضاءة والرطوبة والحرارة والتي تختلف وفقاً لنوع العينة النباتية ومصدرها وحسب الهدف المرجو من الزراعة. غالباً تحضن الزراعات بالدرجة  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  وبإضاءة 16 ساعة بالتناوب مع 8 ساعات ظلام ويشدة ضوئية 3500-5000 لوكس ودرجة رطوبة  $75\pm 2\%$ .

المواد او المكونات المطلوب توافرها في معمل الزراعات النسيجية النباتية:



**أقسام معمل الزراعات النسيجية:** يجب 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 الأوساط الزرعية وتعرف باسم Media plant وغرف خاصة بالتعقيم تحوي أجهزة خاصة بالتعقيم Autoglove ومن ثم غرف الحاضنات النباتية preparation room وتحدد الشروط المناسبة لكل نوع نباتي حسب احتياجاته البيئية من حرارة وضوء ورطوبة growth room.

**أما الأدوات:** تشمل الأدوات المستخدمة في التحضير للزراعات النسيجية (ملاقط معدنية، مقاييس درجة وبالون معايرة وأرناميرات بأحجام مختلفة وانابيب اختبار زجاجية أو علب زجاجية أو اطباق بتري قابلة للتعقيم الاوتوفلاف، أوراق ترشيح وماصات ومقاييس PH وميزان حساس )

و فيما يلي بعض انواع الأوساط المستخدمة في الزراعات النسيجية النباتية:

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



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

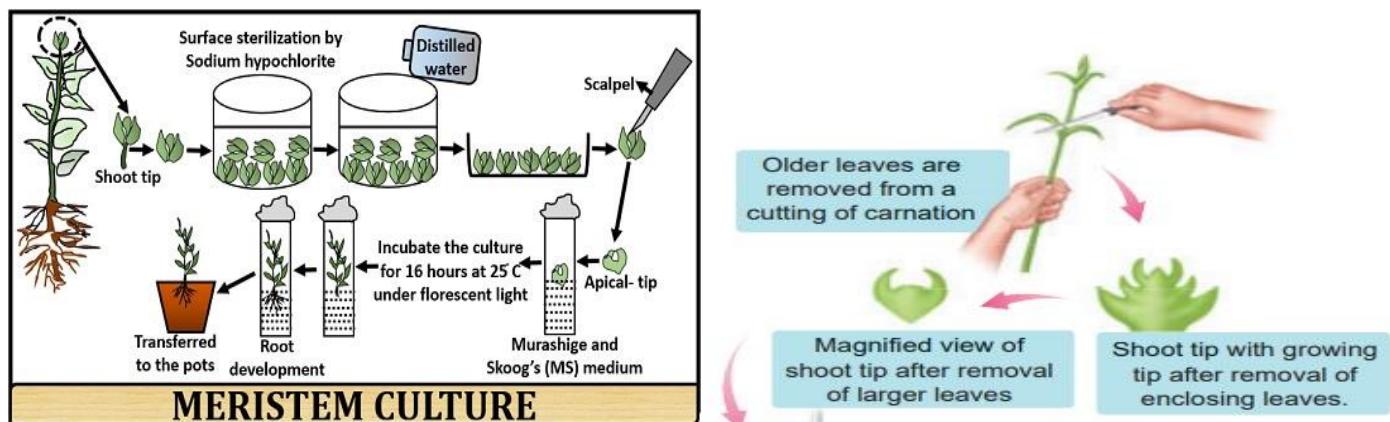
### طريقة العمل:

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

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 ايثيلي بنسبة 75 % لمدة 3 دقائق ومن ثم تغسل بالماء المقطر المعقم مرة واحدة.
- توضع في محلول هيبوكلوريت الكلسيوم بتركيز 10% - 15 دقيقة حسب نوع الجزء النباتي (المدة القليلة للأنسجة الطيرية والمدة الأطول للأنسجة البالغة).

- تغسل العينات بالماء المقطر المعقّم 3 مرات متتالية لإزالة آثار الهيبوكلوريت.
- تجف العينات على ورق ترشيح معمق.
- 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 لنوع 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 تتميّتها، وتحضن الزراعات في حاضنة نمو نباتية بشروط الملائمة.

يتم نزع السدادات القطنية عن الأنابيب الحاوية على البادرات المتتجذرة واستبدالها بغطاء من الشاش لمدة 24 ساعة، وبعد ذلك تم نزع البادرات المجذرة من الأنابيب، ومن ثم تغسل الجذور للتخلص من الأغار الصلب وتزرع هذه البادرات في أصص أو أحواض تحوي تربة 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 ابراهيم



## الجلسة التاسعة

التاريخ // 2025

عنوان الجلسة: التغذية المعدنية - زراعة الأنسجة النباتية

عملي تغذية ونمو نباتي

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

اكتب بشكل مختصر ما تعلمته من زيارتك لمعامل زراعة الأنسجة النباتية في رحلتك العلمية

Blank area for writing a short summary of what was learned during the visit to the plant tissue culture laboratory.

