

# تدريسات الامل وامله الامل سلله فله النباتات البستنه

أ. د. محمود شاهر عبد الواحد

كلية الزراعة / جامعة ذي قار



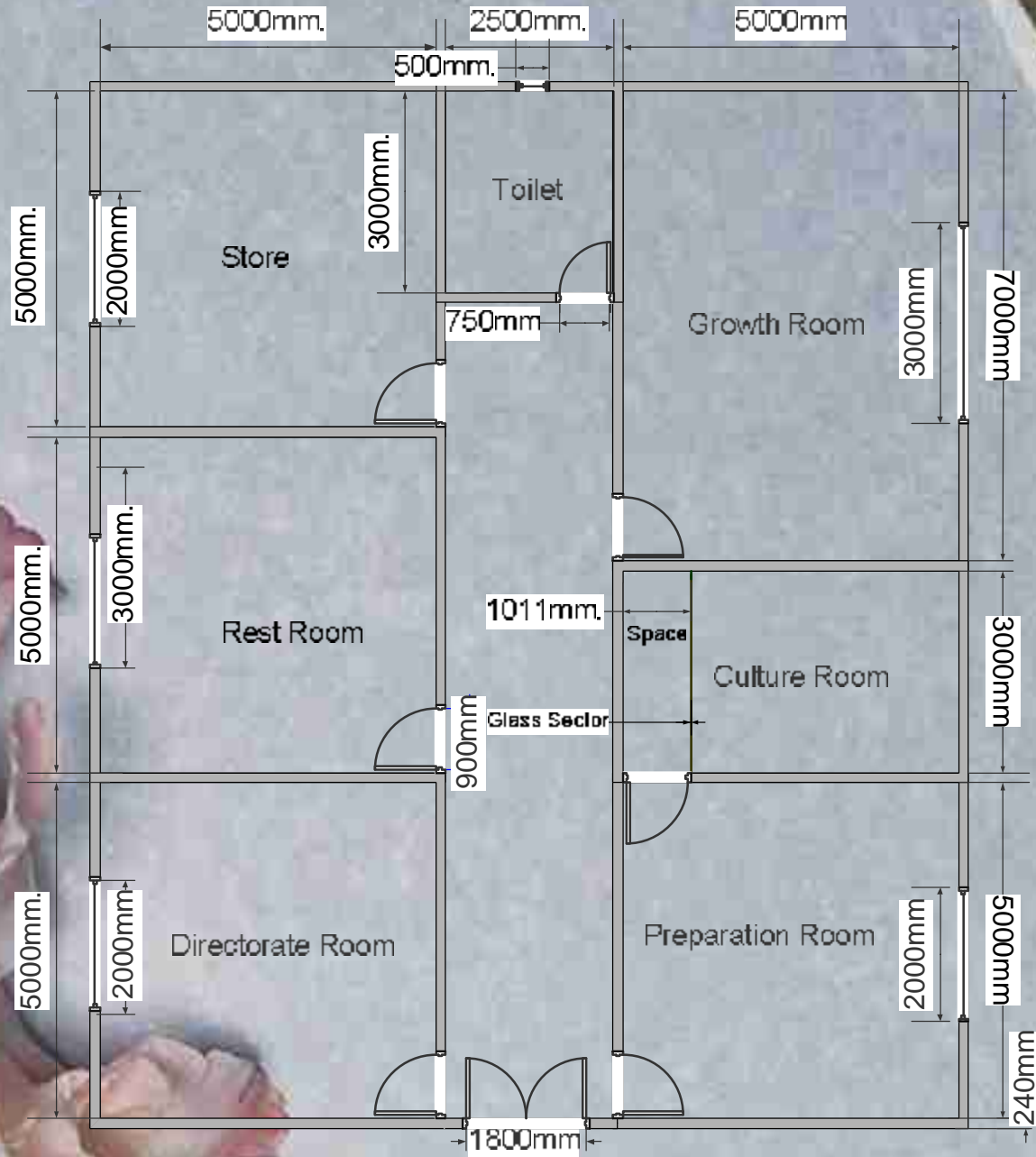
# ما هي زراعة الأنسجة كيف تنفذ عمليا

زراعة الانسجة تعني زراعة جزء من النبات مثلا جزء من الورقة او الجذر او البرعم حسب نوع النبات وزراعته في وسط غذائي صناعي تحت ظروف معقمة.

خطوات الاكثار بزراعة الانسجة :

١. الحصول على مزرعة معقمة
٢. تحفيز الأجزاء النباتية على التضاعف
٣. تجذير النموات المتضاعفة
٤. اقلمة النباتات الناتجة حتى تواجه ظروف الحقل الطبيعية ولتنفيذ الخطوات السابقة يجب توفر مختبر متكامل مع وحدات الأقلمة

# تصميم مختبر لزراعة الأنسجة



## اكثار النخيل بزراعة الأنسجة

**Schroeder** البدايات عام ١٩٧٠ من قبل الباحث ولم يحصل على نتائج ايجابية تبعة الباحث وعمل من ١٩٧٩ الى ١٩٨٨ وتمكن **Tisserat** من الحصول على نباتات نخيل مؤقلمة وكذلك الباحث تمكنوا من الإنتاج التجاري **Zaid** و **Buschene** للنخيل بزراعة الأنسجة.

اما في الدول العربية فتتوفر مختبرات تجارية في المغرب و الإمارات وتونس والسعودية والكويت إلا ان مختبر دولة الإمارات في مدينة العين يحتل موقع الصدارة في الإنتاج (ربع مليون فسيلة في السنة)

# الطرق المتبعة في الإكثار

## النسيجي في مختبرات البصرة

تتضمن طرق الإكثار النسيجي الخطوات التالية:

- ١- زراعة البرعم القمي للفسائل أو البراعم الأبطية
- ٢- تحفيز تكوين الكالس والكالس الجنيني والأجنة الخضرية وإنباتها
- ٣- تحفيز تكوين البراعم العرضية واستطالتها وتجزيرها
- ٤- أقلمة النباتات الناتجة بكلتا الطريقتين
- ٥- الزراعة في التربة

# فسائل نخيل كمصدر للأجزاء النباتية









# البرعم القمي لفسيلة النخيل





# البرعم الأبطي







# نمو البراعم المزروعة على الأوساط الغذائية



# خلايا الكالس وتكون الأجنة الخضرية







# انبات الأجنة الخضرية وتكوين النبيتات



# نمو البراعم العرضية واستطالتها













## نمو النباتات بعد تجاوز مرحلة الأقامة





# نبات بعمر سنتين نامي في التربة



# ازهار اول نخيل نسيجي بعمر ٤ سنوات



اول اثمار لنخيل الأنسجة  
صنف البرحي في البصرة



## التطبيقات العملية لزراعة الانسجة

- اولاً - في مجال اكثار النباتات خضرياً - استعملت زراعة الانسجة النباتية خلال العشرين سنة الماضية في اكثار العديد من الانواع النباتية مثل نباتات الزينة والخضر والفاكهة لما لهذه الطريقة من مميزات تميزها عن الطرق التقليدية



## ومن هذه المميزات

- انتاج اعداد كبيرة جدا من النباتات باستعمال جزء صغير من النبات الام
- امكانية الاختصار بالوقت
- المحافظة على الصفات الوراثية لنبات المكثر
- الانتاج على مدار السنة بسبب سهولة السيطرة على الظروف البيئية في اماكن الاكثار
- الاقتصاد في المساحة المخصصة للإكثار
- يمكن بهذه الطريقة اكثار النباتات التي يصعب اكثارها بالطرق التقليدية

## ثانيا - في مجال وراثه وتحسين النبات

- توفر زراعة الانسجة النباتية امكانية كبيرة للحصول على نباتات بمواصفات خاصة من خلال تغير التركيب الوراثي للفرد الناتج ويتم ذلك بزراعة حبوب اللقاح او المتك او نسيج النيوسيطة وتعد زراعة المتك وحبوب اللقاح من الطرق المهمة في مجال وراثه وتحسين النبات بسبب امكانية الحصول على نباتات احادية المجموعة الكروموسومية وبمضاعفة العدد الكروموسومي للنباتات الناتجة يمكن الحصول على نبات نقي من الناحية الوراثية

## ثالثا - في مجال امراض النبات

تلعب المزارع النسيجية دورا هاما في طرق دراسة امراض النبات التي تسببها الفطريات والبكتريا والفيروسات على سبيل المثال استعملت المزارع النسيجية في دراسة مرض موزائيك التبغ ذو المسبب الفطري من حيث قابلية الاصابة والظروف الملائمة الموثرة في شدة الاصابة وكيفية الانتقال وكذلك العلاقة بين النبات والفايروس

## رابعاً - في المجال الطبي

- تسعى بعض المؤسسات العلمية ومختبرات صناعة الادوية الى استعمال طريقة زراعة الانسجة النباتية للحصول على بعض المركبات الكيميائية النباتية التي تدخل في الصناعات الدوائية المختلفة ومن هذه المركبات القلويدات والزيوت الطيارة من خلال اثمار النباتات ذات الفائدة الطبية مثل نبات النعناع ونبات عين البز ون ونبات الداتورة وزيادة المادة الطبية فيها من خلال بعض المعاملات مثل تعريضها لبعض الاجهادات مثل الاجهاد الملحي من اضافة ملح  $\text{NaCl}$  داخل الوسط الغذائي



التعقيم

## sterilization

ان من اهم الامور الواجب دراستها ومعرفتها بالتفصيل هو التعقيم سواء تعقيم الوسط الغذائي أو تعقيم المختبر . . . الخ حيث إن اهم نقطتين يجب مراعاتها في زراعة الانسجة النباتية هي النظافة والتعقيم هناك نقطتين مهمتين يجب مراعاتها لضمان عدم التلوث هما

1 - اجراء عمليات الزراعة في مكان منعزل عن اماكن العاملين في مجالات الاحياء المجهرية

2 - ابعاد اوعية الزراعة التي تظهر فيها حالات التلوث حال ملاحظتها وإتلافها ومن المصادر المحتملة في التلوث هي

## المصادر المحتملة لتلوث

- اوعية الزراعة
- الوسط المستعمل للزراعة
- الجزء النباتي
- الادوات المستعملة في الزراعة
- محيط غرفة النقل
- محيط غرفة الزراعة
- الشخص الذي يقوم بالزراعة

## مكونات معمل زراعة الانسجة

- تجري زراعة الانسجة النباتية في ظروف معقمة في معامل او مختبرات خاصة تسمى ( معامل او مختبرات زراعة الانسجة) ويجب ان تتوفر فيها شروط معينة وان تجهز تجهيزا خاصا ويجب ان يكون المعمل خاليا من جميع الكائنات الممرضة وان يكون بعيدا عن الاماكن والطرق المتربة التي يمكن ان تلوث المزارع النسيجية لذلك يمكن القول ان مختبر زراعة الانسجة يتكون من عدة غرف وهي بالتسلسل كالتالي

## ١- غرفة التحضير

- وتحتوي هذه الغرفة على حنفية ماء نقي ومناضد حديدية لخرن المواد الكيميائية التي تستعمل في تحضير الوسط الغذائي وتحتوي هذه الغرفة على بعض الاجهزة الكهربائية المهمة مثل جهاز قياس تركيز ايون الهيدروجين وجهاز المسخن والمقلب اضافة الى ثلاجة ومجمدة وكذلك يعتبر جهاز autoclave من اللوازم الرئيسية في هذه الغرفة كذلك يجب توفر ميزان حساس لأربع مراتب من اجل تقدير المواد الكيميائية الداخلة في تركيب الوسط .

## ٢ - غرفة الزراعة (الغرفة المعقمة)

- تجري داخل هذه الغرفة كافة عمليات التعقيم والزرع للأجزاء النباتية ويجب ان يعزل جميع ما موجود داخل هذه الغرفة عن التلوث حيث ان ظروف الزراعة يجب ان تكون معقمة تماما حيث ان عملية الزراعة يجب ان تكون داخل كابينة انسياب الهواء الطبقي و يجب عدم فتح باب المنضدة اثناء عملية الزراعة وإدخال كل معدات ومواد الزراعة قبل عملية الزراعة وعادتا يكون الباب مصنوع من الزجاج الشفاف يفتح بطريقة الانزلاق حتى يسهل من عمل الشخص القائم بالزراعة والصورة توضح غرف الزراعة الحديثة وفق التطور العالمي

## ٣ - غرفة التنمية growth room

- تستعمل هذه الغرفة لتنمية النباتات بعد زراعتها وهذه قد تتألف من غرفة واحدة او عدة غرف حسب طبيعته العمل وحجمه ان وجود عدة غرف لتنمية تجعل من الممكن استعمال فترات اضاءة مختلفة ودرجات حرارة مختلفة تلائم احتياجات الاجزاء النباتية المزروعة وتزود هذه الغرفة برفوف خاصة توضع عليها اوعية الزرع وهذه يجب ان تكون مشبكه لسماح بوصول الضوء الى كل النباتات داخل الغرفة .

## الوسط الغذائي

توجد عدة اوساط تستعمل في زراعة الانسجة ولكن من اكثر  
الاوساط استعمالا مع النباتات هو ms 1962  
وكذلك وسط white 1963



أوعية زجاجية معقمة



## مراحل اكثار النباتات بتقنية زراعة الانسجة

- من اكثر استعمالات زراعة الانسجة النباتية في الوقت الحاضر هو اكثار النباتات خضريا وعلى نطاق تجاري حيث يوجد اكثر من ٢٩٠ نوع من النباتات يمكن اكثارها بهذه الطريقة والمخطط التالي يوضح مراحل الاكثار

# مخطط يوضح مراحل اكثار النباتات نسيجيا



## المرحلة الصفريّة

- وفي هذه المرحلة يتم اختيار الجزء النباتي الذي يسمى (المنفصل explant) الذي يتم زراعته سواء كان ورقة او برعم قمّي ..... الخ ويفضل ان يختار الجزء النباتي من افرع نشطة وبحالة فسيولوجية جيدة وخالي قدر الامكان من الفطريات والحشرات والمسببات المرضية الاخرى

## المرحلة الاولى

- وتسمى مرحلة انشاء الزر وعات حيث بعد جلب الجزء النباتي من الحقل الى المختبر يتم التخلص من الاجزاء المصابة ثم يتم تقطيعه حسب طبيعة التجربة ثم يترك تحت الماء الجاري لمدة نصف ساعة بعد ذلك يغسل بالماء والصابون (الزاهي) قطره واحدة لكل واحد لتر ماء ثم تغسل الاجزاء النباتية بالماء المقطر المعقم خمس مرات ثم ينقل بعد ذلك داخل بيكر معقم الى غرفة الزراعة حيث يتم تعقيم الجزء النباتي هناك

## زراعة الجزء النباتي

- بعد تحضير الوسط الغذائي وإثراء تحضير الجزء النباتي تفتح غرفة الزراعة وتشغل اجهزة التعقيم حيث توجد كابينه الزراعة حيث تفتح قبل نصف ساعة من الزراعة من اجل عمل شمعة التعقيم حيث تزرع الاجزاء النباتية داخل الانابيب الحاوية على الوسط الغذائي بعدل جزء واحد لكل انبوبة وحسب حجم الانبوبة ان الهدف من هذه المرحلة الحصول على نباتات معقمة تستخدم في المراحل اللاحقة بعد عشرون يوم تبدأ الزرع وعات بالانبات والصورة الاتية توضح الزرع وعات بعد عشرون يوم من الزراعة

## صوره توضیح مرحله أنشاء الزر وعات



## المرحلة الثانية – مرحلة التضاعف

بعد تنشئة الزر وعات يتم نقل النباتات الى اوعية جديدة تحوي نفس الوسط ولكن التغير يكون فقط بتركيز منظمات النمو ان الغاية من هذه المرحلة هو مضاعفة عدد النباتات الناتجة وبالتالي زيادة الانتاج وتعتبر هذه المرحلة من اهم المراحل لأنها يتوقف عليها كمية الانتاج والصورة الاتية توضح مرحلة التضاعف

# مرحلة التضاعف





## المرحلة الثالثة - مرحلة التجذير

- ان الهدف من هذه المرحلة هو تجذير النباتات الناتجة من مرحلة التضاعف حيث تنقل النباتات الى اوعية جديدة تحوي نفس الوسط الغذائي لكن الاختلاف فقط بنوع وتركيز منظمات النمو وذلك باستخدام انواع معينة من منظمات النمو تسمى ( الاوكسينات ) وبتراكيز معينة من منظمات النمو تختلف باختلاف النبات وطبيعة التجربة

## الكالس

هو كتلة من الخلايا البرنكيميية سائبة غير منتظمة الشكل تنشأ من الخلايا المولدة المرستيمية لنباتات ويتكون الكالس غالبا بسبب الجروح للأجزاء النباتية

صورة توضح الكالس المتكون بزراعة الانسجة النباتية



## الاجزاء النباتية المستعملة لتنشئة الكالس

- إن جميع الاجزاء النباتية المأخوذة من نباتات متعددة الخلايا تعتبر مصادر جيدة لتنشئة الكالس حيث يمكن استعمال اجزاء نباتية مختلفة من نباتات ذوات الفلقتين وذوات الفلقة الواحدة أو معراة البذور ولكن تفضل النباتات ذوات الفلقتين في تنشئة الكالس بسبب استجابتها السريعة للمعاملات والعوامل المحفزة لنشوء الكالس اضافة الى كثرة الاجزاء والأنواع النباتية التي تستجيب لتلك المعاملات حيث يمكن تنشئة الكالس من الورقة والجذر أو من خلايا الدائرة المحيطة أو برنكيميا الخشب . . الخ

## نشوء الكالس

يمكن تقسيم مسار نشوء الكالس الى ثلاثة مراحل هي

### • مرحلة التحفيز induction

هي المرحلة التي تنتهياً خلالها الخلايا لانقسام وتنشط فيها العمليات البنائية المختلفة ويبقى حجم الخلية فيها ثابتا تختلف فترة هذه المرحلة تبعا للحالة الفسيولوجية لخلايا النبىة وضروف الزراعة لاتستجيب جميع الخلايا الموجودة في قطع النسيج لتحفيز بسبب وضعها على المحيط الجديد ولكن فقط الخلايا الموجودة في الطبقات الخارجية لنسيج تحفز وتنقسم حيث يودي ذلك الى تكوين كتلة من نسيج جديد تحيط باللب غير المنقسم إن سبب بدء الانقسام في الطبقات المحيطة ( الخارجية ) للأنسجة أو الاجزاء المزروعة يعود الى عدة عوامل متداخلة منها

## من هذه العوامل

- تأثير المواد المتحررة من الانسجة المجروحة من مناطق القطع
- توفر الاوكسجين بكميات كبيرة
- سرعة تحرر ثاني اوكسيد الكربون الى المحيط الخارجي
- وفرة العناصر الغذائية بسبب التماس المباشر مع الوسط
- تحرر المواد النشطة والمتطايرة بسرعة اكبر

## المشاكل التي تواجه الاكثار بزراعة الانسجة

اولا – التلوث من اهم المشاكل التي تعاني منها زراعة الانسجة هو التلوث ويأتي التلوث من عدة اسباب

- التلوث الناتج من الجزء النباتي
- التلوث الناتج من الشخص القائم بالزراعة
- التلوث الحاصل من اوعية الزراعة
- التلوث الحاصل من الوسط الغذائي
- التلوث الناتج من الماء المستعمل
- التلوث الناتج من جو المختبر

## ثانيا / التلون باللون البني

- تؤدي زراعة الانسجة البالغة المفصولة من بعض النباتات الخشبية الى تغير لون الوسط الى البني الداكن وان سبب ذلك يرجع الى اكسدة المواد الفينولية التي تتحرر من القطع الموجودة على النبيتة والتي تحول لون الوسط الى بني داكن وتؤدي الى تسمم الانسجة المزروعة وهناك طرق لتخلص منها

## طرق التخلص من اللون البني

- نقل الجزء المزروع الى اوساط جديدة مرتين او ثلاث مرات خلال عدة ايام
- استخدام مضادات الاكسدة مثل الفحم المنشط او حامض الستريك او حامض الماليك وبتراكيز مختلفة حسب طبيعة التجربة .



## ثالثا / التزجج

- وهي ثالث المشاكل التي يعاني منها الاكثار بزراعة الانسجة حيث يظهر ا لجزء النباتي لماع سهل الكسر والتفتت اثناء التعامل معه وتظهر هذه الحالة في الاوساط السائلة غالبا ويمكن التغلب على هذه الحالة من خلال زيادة نسبة الاكرفي الوسط وكذلك وجد ان الاوساط السائلة لها علاقة بها لذا يمكن استخدام الاوساط الصلبة كبديل لها



***In Vitro Propagation  
of Dwarf Banana  
(Musa sp.)***

# Objectives

- 1- To test a protocol for mass production of dwarf banana
- 2- Hardening of plantlets
- 3- Planting in the field

## Materials & Methods

Source of explants: Offshoots imported from Egypt CV Indian dwarf banana

Explants: Shoot tip (0.5 x 0.5) cm

Sterilization: Commercial bleach (20% V/V)

Medium: MS salts, Vit. B1, Glutamine, PVP,  
Different Conc. Of BAP (0,1,2,3,4,5,mg/l),  
Sucrose























***THANK YOU***

