إكثار النباتات بإستخدام تقنية زراعة الأنسجة

Propagation of plants using tissue culture technology

المقصود بزراعة الخلايا و الأنسجة النباتية هو زراعة أجزاء من النباتات أو الخلايا المفردة تحت ظروف متحكم فيها داخل المختبر *In vitro*.

حيث توالت محاولات الباحثين للحصول على نباتات كاملة من الخلايا المفردة أو من أنسجة نباتية غير متخصصة على وسط غذائي صناعي (Medium) و توالت الأبحاث على البيئات المغذية لمعرفة مدى الملائمة لنمو النباتات المختلفة وتركيب هذه البيئات والمواد والمركبات التي تضاف إليها لتحسين النمو. وتعتبر بيئة موارشيجى وسكوج (Murashig and Skoog, 1962) من أهم وأشهر هذه البيئات المستخدمة وبيئة Gamborg والمعروفة باسم B5 medium ، وبيئة White وغيرها من البيئات ذات الاستخدامات المختلفة على حسب النوع النباتي. كما تناولت بعض الدراسات على أهمية الجزء النباتي المستخدم في الزراعة ومدى ملائمته واستجابته للنمو والتطور حتى نحصل على نبات كامل (نبيته Plantlet) يمكن إدخالها بعد ذلك في مرحلة الأقلمة. كما تم دراسة تأثير العوامل البيئية من إضاءة ودرجة الحرارة والتوصل إلى أفضل الظروف الملائمة لنمو الجزء النباتي معمليا ، وعموما تختلف هذه الظروف باختلاف الأنواع النباتية اذ إكثار النباتات باستخدام تقنية زراعة الأنسجة يمكن أن تدرج تحت طريقتين أساسيتين الطريقة الأولى وهى عن طريق تكشف العضو النباتي Organogenesis، والطريقة الثانية عن طريق تكشف الأجنة الجسدية Embryogenesis.

الإكثار الدقيق للمحاصيل البستانية :-

يعرف الإكثار الدقيق وهو استخدام أنسجة مرستيمية مثل القمة النامية والبراعم الغضة وتعقيمها ثم زراعتها على بيئة غذائية تحتوى على العناصر الغذائية المطلوبة (عناصر كبرى وصغرى وفيتامينات وأحماض أمينية و الهرمونات النباتية وسكر) بالإضافة إلى بعض الهرمونات لإكثارها وتضاعفها وأقلمتها وإنتاج نباتات مشابهة للام في مدة قصيرة وخالية من الأمراض.

والغرض من إكثار المحاصيل البستانية المختلفة هي :-

١- الحصول على عدد كبير من النباتات في وقت قصير.
٢- الحصول على شتلات خالية من الأمراض والفيروسات.
٣- الحصول على نباتات جيدة من ناحية المجموع الخضري والجذري.
٤- الحفاظ على النباتات النادرة عن طريق إكثارها مختبريا .
٥- إنتاج مختلف النباتات الطبية والعطرية مختبريا دون اللجوء إلى زراعتها في الحقل .
٦- إنتاج نباتات مشابهه للام في صفات الجودة والإنتاج المتميز وخلوها من الأمراض .
٧- المحافظة على الأصول الوراثية نقية .

أهم المجالات العلمية والعملية لإكثار النباتات باستخدام تقنيات زراعة الأنسجة :-

أولا :- إنتاج بعض المواد الكيمائية العلاجية والمواد الطبيعية:-

بعض النباتات تنتج مواد طبيعية وهى احد نواتج التمثيل الغذائي بها ، وهذه المواد يمكن استخلاصها واستخدامها في صناعة الدواء والزيوت العطرية واعطاء الطعم والنكهة. وباستخدام تنقية زراعة الأنسجة نوفر الأرض والوقت والمجهود وإنتاجها في أي وقت من العام، من هذه المواد الفعالة.

.Alkaloids, Flavonoids, Phenolics, Terpenoids and Glycosides

ثانيا :- الحصول على سلالات خالية من الفيروسات:-

بعض النباتات مثل البطاطا والفراولة وغيرها من النباتات التي تتكاثر خضريا تصاب إصابة جهازيه بالفيروس، وباستخدام طرق الإكثار التقليدية مثل العقل أو الدرنات تؤدى إلى انتقال الإصابة الفيروسية من النباتات الأم إلى النباتات الجديدة ويمكن استخدام زراعة الأنسجة النباتية في الحصول على نباتات سليمة بالرغم من اخذ الجزء النباتي المراد زراعته من أمهات مصابه وذلك بأخذ الطرق التالية :-

١- زراعة القمة المرستيمية:- Apical meristem culture

تتميز سرعة انقسام القمة المرستيمية بأنها أسرع من سرعة انقسام الفيروس كما أن المرستيمية لا تحتوى على الخيوط البلازموديزميه والتي تعمل على نقل محتوى خلية إلى خليه أخرى وبالتالي ينقل الفيرس مع العصارة. وتعزل القمة المرستيمية بأحجام ميكروسكوبية في حدود ١٠ ميكرون (١ ميكرون = ١/١٠٠٠ ملليمتر) . كما أن القمة المرستيمية هي قمة القمة النامية.

٢- زراعة القمة النامية:- Shoot tip culture

تعتمد هذه الطريقة أولا على تعرض النبات الأم المصابة لدرجة حرارة ثابتة من ٣٧-٤٢°م ولمدة تتراوح ما بين ٤- ٨ أسابيع (معاملة حرارية) مما يؤدى إلى تخلص القمة النامية من الفيرس أو بالتعقيم الشديد ببعض المواد الكيماوية (معاملة كيماوية) على نبات الأم. ولكن قد تؤدى هذه المعاملة إلى التأثير على الخلية النباتية وظهور بعض الطفرات وقد يؤدى إلى موت الخلية أو حدوث بعض التشوهات النامية من هذه المعاملة.

٣- التطعيم الدقيق:- Micro-grafting

تستخدم هذه اطريقة على الموالح ويجب التأكد من خلو القمة النامية (الطعم) والأصول من الفيروسات على الرغم من إصابة النباتات بالفيروس والذي تم اخذ الطعم منه.

ثالثا :- التحسين الوراثى:-

١- إنتاج نباتات أحادية المجموعة الكرموسومية :- Haploid

يمكن إنتاج نباتات بنصف العدد الكروموسومى وذلك عن طريق زراعة حبوب اللقاح وبعد ذلك يحدث لها تضاعف فنحصل على نباتات ثنائية وبالتالي تكون أصلية ونقية ١٠٠% . وهناك بعض المعاملات التي تزيد من نجاح العملية مثل حفظ البراعم الزهرية في درجة حرارة منخفضة (٥°م بالثلاجة لمدة ٤٨ ساعة) قبل الزراعة على البيئة المغذية المعدة لذلك وهذه النباتات الناتجة لها أهمية كبيرة في مجال تربية النباتات.

٢- زراعة البروتوبلاست :- Protoplast culture

وتستخدم هذه الطريقة في إنتاج هجن أو أصناف جديدة، حيث انه من الصعب إجراء التهجين بين الأجناس أو الأنواع النباتية بالطرق التقليدية. ولكن يتم بدمج البروتوبلاست من خلية تحتوى على صفة مرغوبة مع بروتوبلاست خلية لا تحتوى على هذه الصفة ويسمى الهجن الناتج بالهجين الجسمي .Somatic hybrid

وهذا بالإضافة إلى إمكانية عزل جين بمفردة ونقله ليدمج مع المادة الوراثية لنبات أخر وهو ما يعرف باسم الهندسة الوراثية . ويستخدم بعض المركبات الكيميائية مثل البولي اثيلين جليكول Polyethylene glycol أو مادة Dextran أو استخدام إحدى الطرق الفيزيائية مثل استخدام التيار الكهربي.

٣- إحداث وانتخاب الطفرات الوراثية :- Induction and Selection of mutants

الانتخاب (البحث عن تراكيب وراثية جديدة) وهو من أهم الطرق فى برامج التربية لذلك فهي من أهم مهام مربي النبات إذا تضاءلت أمامه وجود مصادر الاختلافات الوراثية وكذلك فى حالة وجود مصادر متنوعة ومختلفة فيصعب عليه عملية التوافق بين تلك الصفات المرغوبة . ولكن باستخدام تقنية زراعة الخلايا المعلقة Cell Suspension Culture يمكن لمربى النبات التعامل مع عشيرة كبيرة جدا فى طبق بتري فيسهل عليه عملية الانتخاب حيث تجرى على مستوى الخلية وليس على مستوى النبات

بالكامل. حيث ينتخب هذه الخلايا ونقلها على بيئة مغذية لتكوين الكالس ومن ثم يتجه إلى تكوين نبات كامل وبنفس الطريقة تحدث طفرات وإجراء الانتخاب بعد ذلك.

رابعاً :- استخدام تقنية زراعة الأنسجة كوسيلة سريعة لإكثار النباتات :- Rapid multiplication of plants

يعد ذلك من أهم الفوائد العملية لاستخدام هذا التكنيك، ويكون ذلك مفيد خاصة مع الأصناف الجديدة أو السلالات الممتازة أو الخالية من الفيروسات.

ومن أهم مميزات هذا الأسلوب هو إمكانية إنتاج النباتات على مدار السنة وذلك عن طريق تهيئة الظروف الملائمة من بيئة ومناخ مناسبة للنمو، وهذا بالإضافة إلى قصر المدة في المعمل عن فترة إكثارها في الحقل.

خامساً :- استخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية في حفظ المادة الوراثية:- Germplasm conservation

حيث يتم ذلك عن طريق حفظ النبيتات Plantlets أو الجزء النباتي Explant في وسط غذائي مناسب وتحت شدة إضاءة منخفضة ودرجة حرارة منخفضة وذلك لحين الحاجة إليها. أو عن طريق إستخدام مثبطات النمو أو موقفات النمو في الوسط الغذائي لتحد من النمو. وبعد انقضاء الفترة يتم نقل الجزء النباتي إلى وسط محفز للنمو فنحصل على النباتات المطلوبة في الوقت المحدد لذلك.

سادساً :- إنتاج نباتات خالية من الأمراض:-

من أهم أهداف استخدام تقنية زراعة الأنسجة إنتاج نبات شبة الأم وخالية من الأمراض خاصة الفيروسية.

سابعاً :- انخفاض التكاليف والإنتاج والوقت دون الارتباط بموسم معين:-

ويكون هذا واضح جدا خاصة في النباتات الحولية كما في نباتات الزينة.