



مدم . ك . د ق . ت . زي

مادة علمية

أستاذ دكتور /عزه عبد العزيز توفيق

أستاذ بساتين (زهور ونباتات زينة)



### مواصفات المقرر:

معرفة أساسيات والتدريب على إكثار النباتات باستخدام مزارع من الخلايا , الأنسجة والأعضاء النباتية مع التركيز على نباتات الزينة والنباتات الطبية

### محتويات المقرر:

- 1- أساسيات زراعة الأنسجة النباتية
- 2- تصميم وإنشاء معمل لزراعة الأنسجة النباتية وأهم متطلبات المعمل من أجهزة ومعدات
- 3- مكونات بيئات زراعة الأنسجة وأشهر أنواع البيئات المستخدمة تجاريا
- 4- وسائل وطرق إكثار نباتات الزينة معمليا
- 5- المراحل المختلفه لزراعة الأنسجة ومتطلبات كل مرحلة.
- 6- إكثار بعض نباتات الزينة وبعض أمثله من النباتات الطبية

### أهداف المقرر:

بإنتهاء دراسة هذا المقرر سيتمكن الطالب من:

- 1- معرفة أساسيات زراعة الأنسجة النباتية والمصطلحات الخاصة بها
- 2- أهمية استخدام زراعة الأنسجة النباتية
- 3- كيفية تصميم وإنشاء معمل نموذجي لزراعة الأنسجة وأهم متطلبات هذا المعمل من أجهزة وكماويات
- 4- طريقة عمل بيئات الزراعة ومكونات أهم البيئات المستخدمة تجاريا والبيئة المناسبة للنبات المطلوب إكثاره معمليا
- 5- الإلمام بأهمية التعقيم والنظافة في هذا النوع من الزراعة وذلك لتلافي حدوث التلوث بالفطريات وغيرها
- 6- معرفة أهم مراحل الزراعة ومتطلبات كل مرحلة وهذا يشمل إعداد الجزء النباتي المستخدم في الزراعة explant والعناية به حتى مرحلة الحصول على نباتات مشابهة للنبات الأم
- 7- الإلمام بالطرق المتبعة لإكثار بعض نباتات الزينة الهامة والتي يتم إكثارها معمليا وعلى نطاق تجارى
- 8- دراسة بعض الأمثلة للنباتات الطبية والعطرية وكيفية إكثارها معمليا

### المتلقون:

- طلبة الدراسات العليا تخصص زهور ونباتات زينة
- الخريجون الذين يأملون في عمل مشروعات صغيرة في مجال زراعة وإكثار الزهور ونباتات الزينة للإنتاج المحلى أو التصدير



# خطو ن م ل ن

## *Establishment of tissue culture lab*

!!!!!!!

بغض النظر عن مساحة المكان المتوفر لإنشاء معمل لزراعة الأنسجة فإن هذه المساحة لابد من تقسيمها على الأقل إلى ثلاث حجرات كالتالى:

- 1- حجرة لعمل وتجهيز البيئات
- 2- حجرة للزراعة
- 3- حجرة لحفظ ماتم زراعته والتي سيتم فيها متابعة النمو والتكشاف.

هذا ولكل حجرة متطلباتها الخاصة من الأجهزة و الأدوات وغيرها. وفيما يلي أهم الأجهزة والأدوات المطلوب توافرها قبل البدء بأى عمل.

### أولاً: متطلبات حجرة تجهيز البيئات:

#### ثانياً: متطلبات حجرة الزراعة:

- لابد من أن يتوفر لها الآتى:
- 1- كابينة التعقيم Laminar flow air
  - 2- مكيف هواء للمحافظة على درجة حرارة الغرفة ثابتة.
  - 3- أدوات زراعة من مشارط وملاقط - قفاز طبي- غطاء للرأس.
  - 4- رشاشات بلاستيك سعة -1 1,5 لتر لرش الكحول.
  - 5- مطهرات للأنسجة النباتية ( أشهرها الكلوراكس التجارى 5,5 % صوديوم هيبوكلوريت)- مادة ناشرة Tween 20
  - 6- ميكروسكوب
  - 7- جهاز طرد مركزى Centrifuge ويستخدم بصفة خاصة فى تكتيكات خاصة مثل عزل وزراعة البروتوبلاست Protoplast isolation
  - 8- بالطو أبيض

#### ثالثاً: متطلبات حجرة الحفظ والأقلمة:

- 1- أرفف بإضاءة فلورسنت

- 2- حضانات Incubators للمزارع التي تتطلب درجات حرارة وفترات إضاءة خاصة حيث يتم التحكم في ذلك داخل الحضان .
- 3- هزاز Shaker وهو ضروري لمزارع المعلق الخلوى Cell suspension cultures وزراعة الأجنة Embryo cultures.
- 4- مكيف هواء للمحافظة على درجة حرارة الغرفة ثابتة.
- 5- مقياس لقياس شدة الإضاءة





CaSO4

Ca

CaCl2

Ca(NO3)2

Mg

Mg SO4

Fe

FeSO4

(ethylene-diamine tetraacetic acid (EDTA

!

6cf]WUX

f6L

6cfcb %

< '6C'

fA cL

Molybdenum 2- موليبيدم

B U&A cC ("&< &C

GcXi a 'a c mWUX

A b'CC (

'A Ub[ UbYg'

&

'7c' (!

7c7`&

Nb'CC (

Nb' )!

&

'7i' \*!

7i CC () < &C

'7U7`&

'7`' +!

fP =L

'=cX]bY' ;!

تربو مش سو

دم ك ديد من نو ت A i fUg\][ Y/ 'G\_cc[ 'fA Gk'

يُنْتِجُ رَمَّ شَرْدٍ

يُنْبِتُ لِنَازِكِ تِ

K ccXmD`UbhA YXji a`fK DA ٤ ت





لعل أهم وأبسط طرق الإكثار الدقيق :

- زراعة المرستيم culture of Meristem-tip
- زراعة البرعم الطرفى culture of Shoot-tip
- زراعة البرعم الجانبي culture of Axillary (lateral) bud
- زراعة العقدة Single node culture



إعداد الجزء المستخدم في التكاثر وزراعته في بيئة معقمة

مرحلة التضاعف

مرحلة التجذير

مرحلة الأقامة والنقل للبيئة الخارجية



•

•

•

•

•

## البيئة المستعملة

MS

MS

MS

Anderson Formula

MS

MS

MS

WPM

WPM

## الجزء المستخدم

القمة النامية

المرستيم

القمة النامية

البراعم الخضرية

القمة النامية

القمة النامية

البراعم الأبوية

القمة النامية

القمة النامية

## النبات

الورد

القرنفل

الجريرا

الأنثوريم

الروودوندرن

حصى لبنان

المريمية

الكافور

الميلالوكا



## متطلبات حجرة تجهيز البيئات:

في هذه الحجرة سيتم طبخ وتجهيز البيئة لذلك لابد من توافر الآتى:

1 - مصدر للمياه

2- حوض للغسيل

3- أرفف وأدراج وأدلة لحفظ الكيماويات والزجاجيات وخلافه.

4- أجهزة:

- جهاز لتقطير المياه

- ثلاجة : لحفظ المحاليل القياسية stock solutions محاليل

الهرمونات والتي تجهز منها البيئات

- فريزر: لحفظ محاليل البيئات المجهزة للإستعمال ومنظمات النمو.

- فرن كهربائى: لتجفيف الأوعية والأدوات الزجاجية.

- ميزان حساس: يزن حتى أربع أرقام عشرية على الأقل لوزن الكميات

الصغيرة من العناصر الصغرى ، منظمات النمو ، الفيتامينات.

- ميزان : لوزن الكميات الكبيرة نوعا مثل السكر والآجار وخلافه.

- جهاز لقياس الرقم الهيدروجينى pH meter .

- مقلب مغناطيسى magnetic stirrer يوضع بجوار ال pH meter

- مسخن hot plate مزود بقلاب مغناطيسى لتسخين وإذابة الآجار وما

به من المركبات التى تتكون منها البيئة.

- جهاز تعقيم بالبخار تحت ضغط (أوتوكلاف autoclave): لتعقيم

الأدوات والبيئات وفى حالة عدم توفره يمكن إستخدام قدور الطهى تحت ضغط

المنزلية وفى هذه الحالة لابد من توفر مصدر للتسخين(بوتاجاز).

Media dispenser- أسطوانة مدرجة من 5-50 مل تستخدم فى صب

البيئات فى أوانى الزراعة بكميات موحدة وثابتة.

- ترولى "عربة دورين بعجل" لنقل البيئات والأدوات.

5- زجاجيات:

وهذه تشمل على :

- أوانى الزراعة: من الزجاج الذى يتحمل حرارة التعقيم داخل

الأوتوكلاف وتشمل

\* أنابيب tubes (طول 10سم وقطر 2,5 سم) تسع 10مل من

البيئة الغذائية بأغبيتها المصنوعة من مادة

البوليروبيلين Polypropylene.

\* برطمنات غذاء الأطفال baby food jars وتسع 20-30 مل  
من البيئة.

\* أطباق بترى بسعة 10 مل , 15 مل

- دوارق مخروطية بأحجام مختلفة من 100 إلى 2000 مل

- كأس Beakers بأحجام مختلفة 100, 250, 500, 1000 مل

- مخابير مدرجة بسعة 25, 50, 100, 500, 1000 مل

- ماصات مدرجة 1, 2, 5, 10 مل

- أقماع بأقطار 5, 10, 15, 20 مل

- زجاجة تنقيط لضبط ال pH بإستخدام نقط من محلول Hcl أو NaoH

عيارى

- زجاجات بغطاء محكم الغلق لحفظ محاليل البيئات .

6- كيماويات:

كل الكيماويات والمواد اللازمة لتحضير البيئات المختلفة من عناصر  
عناصر كبرى- منظمات نمو- فيتامينات - سكر نقي- آجار نقي والتي سيتم ذكرها  
لاحقا وتكون موضوعة على الأرفف بطريقة منظمة ومرتبة حسب الحروف الأبجدية.

7- كحولات:

أبيض نقي 95% ويخفف عند الإستعمال إلى 70%

أحمر تجارى

8- حامل أنابيب Test tubes rack من السلك أو الزنك أو البوليروبيلين

التي تتحمل حرارة التعقيم Polypropylene

9- زجاجة غسيل 250-500 wash bottle مل لإضافة الكميات الصغيرة من

الماء المقطر إلى المحاليل القياسية وغسل الكترود ال pH .

10- مستلزمات أخرى:

ملعقة spatula - ورق وزن weighing papers لوزن الأملاح والكيماويات

عليها فلا تتأثر كفة الميزان - أكياس بلاستيك - شريط لزق وأقلام markers للترقيم وكتابة

البيانات- ورق مناديل paper towels- ورق ألومونيوم Aluminum foil -صوانى ماكينة

حاسبة - محاليل ومساحيق نظافة ومطهرات للنظافة وفرشة زجاج لتنظيف الأنابيب.

