الزراعة النسيجية

تكنولوجيا زراعة الخلايا والأنسجة والأعضاء النباتية

د. طارق قابيل

متخصص فى الوراثة الجزيئية والخلوية والتكنولوجيا الحيوية
قسم النبات والميكروبيولوجى - كلية العلوم – جامعة القاهرة

د. طارق قابيل

أستاذ التقنية الحيوية المساعد – كلية العلوم والآداب ببلجرشى – جامعة الباحة
قسم النبات والميكروبيولوجى - كلية العلوم – جامعة القاهرة

.

2015

الزراعة النسيجية

تكنولوجيا زراعة الخلايا والأنسجة والأعضاء النباتية

د. طارق قابيل

©

جميع حقوق النشر محفوظة
د. طارق قابيل

ويحظر نشر أو توزيع أو طبع أى مادة دون إذن مسبق من الناشر

كتاب

من إعداد

د. طارق قابيل

للأستفسار أو طلب معلومات يرجى مراسلتنا على العناوين التالية:
tkapiel@sci.cu.edu.eg
tkapiel@gmail.com

2015

Dr. Tarek Yehia Kapiel

Tissue Culture (Plant Cell, Tissue and Organ Culture Technology)

الزراعة النسيجية

تكنولوجيا زراعة الخلايا والأنسجة والأعضاء النباتية

د. طارق قابيل

الفصل الأول

مقدمة

مقدمة

في الوقت الحالي الذي تشهد فيه البشرية تناميا مذهلا في المجالات التقنية التي لم يسبق لها مثيل، لا يزال هناك أكثر من 826 مليون إنسان لا يجدون ما يسدون به رمقهم، ويواجه 70 مليون إنسان يعيشون في السودان وجيبوتي وإريتريا والصومال واثيوبيا وكينيا وأوغندا خطر المجاعة.

ويعتبر توجيه البحوث الزراعية نحو تحسين إنتاج السلع الزراعية الأساسية من أهم الوسائل الكفيلة بإتاحة حلول ممكنة لمعضلة الجوع، التي تواجه دول العالم العربي والإسلامي.

وقد زاد الاهتمام في السنوات الأخيرة بالتطبيقات العملية في مجال التقنيات الحيوية، وبصفة خاصة تقنية الزراعة النسيجية (زراعة الخلايا والأنسجة النباتية) التي تعتمد على أساليب بسيطة لا تحتاج إلى تجهيزات معملية معقدة ومكلفة، والتي يمكن ممارستها بدون استثمارات كبيرة في التجهيزات والبنية التحتية.

وقد حفلت التجربة العربية في هذا المجال بنجاحات كثيرة، واستطاع الباحثون العرب استيعاب هذه التقنية، وتطويرها بما يتناسب مع الظروف المحلية والإقليمية لكل بلد.. وأظهر بعضهم تفوقا ملحوظا في هذا المجال العلمي التطبيقي.. ونشرت دراسات بعضهم في أهم المطبوعات والنشرات العلمية الدولية في هذا المجال.

وسنحاول في هذا الكتاب التعرف على هذه التقنية التي يحتفي علماؤها هذا العام بمرور قرن كامل على ظهورها للوجود، وعلى بعض الجهود العربية التي تستحق الإشادة في هذا المجال.

ويعتبر علم زراعة الأنسجة من المجالات الحديثة الهامة المنتمية حديثا لعلم الوراثة، ومجموعة علوم التكنولوجيا الحيوية. ولقد أصبح علم زراعة الأنسجة من أهم التقنيات الحديثة المستخدمة فى مجال الزراعة وذلك لما له فوائد عديدة فى مواجهة المشاكل الزراعية حول العالم. ولقد حقق علم زراعة الأنسجة انتشارا واسعا بين العلوم المختلفة التي تهتم بدراسة الكائن الحي ومراحل تطوره المتعاقبة كما أنه ساهم فى تقدم العديد من الدراسات فى مجالات العلوم المتعددة والتي ليس بآخرها علم الهندسة الوراثية.

وتعد تقنيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية الحديثة (الزراعة النسيجية) سلاحا هاما من أسلحة تطور علوم البيولوجيا الجزيئية والهندسة

الوراثية، والصناعات الكيماوية والصيدلية، ولقد نالها الجانب الأكبر من التطوير العملي ومن التطبيقات التجارية. كما غيّرت هذه التقنيات الزراعية من مفهوم بعض المزارعين وأصحاب المشاتل في جميع أنحاء العالم، وجعلتهم يسعون إليها كثيرا لحل مشاكل إكثار النباتات، حيث أدى تطبيقها إلى إستيلاد النباتات والأشجار والشجيرات التى كان يصعب إكثارها بالطرق التقليدية. وأسست كثير من الشركات العاملة فى المجال الزراعي حاليا مختبرات الزراعة النسيجية النباتية، وأجرت عمليات ذات نطاق تجاري لحد كبير فى هذا المجال وتستثمر فيها حاليا مبالغ طائلة.

1-1. الزراعة النسيجية.. مسيرة قرن كامل

تعود بدايات تأسيس علم الزراعة النسيجية إلى عام 1902م، عندما بدأت محاولات العالم الألماني "هبرلانت" في زراعة الخلايا النباتية في مستنبت غذائي اصطناعي، وتنبأ بأن الخلايا النباتية يمكن أن تنمو على أوساط غذائية نقية مثل الكائنات العضوية الدقيقة، كالبكتيريا والفطريات.. كما تنبأ بقدرة الخلية النباتية الواحدة على تجديد نفسها، وتكوين نبات كامل.

وفي عام 1939م نجح العالمان الفرنسيان "جوثيريه" و"نوبيكور" والعالم الأمريكي "سكوج" - كلٌ على حدة- في تنمية خلايا النبات على أوساط غذائية بالمختبر، وتم استنساخ الخلايا النباتية لأول مرة في عام 1958 على يد العالم الإنجليزي "فريدريك ستيوارد" في جامعة "كورنل".

وفي الوقت نفسه اكتشف الألماني "جاكوب ريندر" طريقة لتنمية شتلات جزرة كاملة من استنبات خلايا منفردة لجزرة واحدة.

وتم استكمال المبادئ الأساسية لهذا العلم، عندما اكتشف العالم الأمريكي "سكوج" في جامعة "ويسكنسون" أن تحفيز خلايا النبات لإنتاج المجموع الجذري أو الخضري يعتمد بالدرجة الأولى على التوازن بين الهرمونات النباتية بالبيئة، وبالأخص الأوكسينات والسيتوكينينات.

وبعد ستين عامًا من تنبؤ العالم "هابرلند" بقدرة الخلية النباتية الواحدة على تجديد نفسها، نجح العالم الأمريكي "هيلدبراند" في جامعة "ويسكنسون" أيضًا في تشكيل نبات كامل بزراعة خلية منفردة ورصد انقسامها ونموّها.

و تم استنساخ (تنسيل) Cloning خلايا نباتية لأول مرة في عام 1958م على يد العالم الإنجليزي "فريدريك ستيوارد" فى جامعة كورنل. و فى نفس الوقت اكتشف الألماني "جاكوب ريندر" طريقة لتنمية شتلات جزر كاملة، من استنبات خلايا منفردة لجزرة واحدة.

كما تمكن العالمان الأمريكيان "موراشيجي وسكوج" في عام 1962م من وضع الأسس العلمية للبيئة النباتية المستخدمة في الزراعة النسيجية، ومنذ ذلك الوقت طبّقت زراعة الأنسجة النباتية في إكثار عدد كبير من أصناف النباتات الاقتصادية، وكان لها الأثر الفعّال في إنتاج نباتات وأصناف جديدة خالية من الأمراض والحشرات.

وقد قدمت الزراعة النسيجية النباتية العديد من الحلول لمشكلات الزراعة الحديثة، لا سيما أن بعض أصحاب المشاتل سارعوا إلى هذه التّقنيات الحديثة، وجنَوا فوائد الإكثار الدقيق بالرغم من مخاطر استعماله والاستثمارات الكبيرة اللازمة لاستخدامه كأداة توليد للنباتات.

كما كان لطموح العملاء وأحلامهم المستمرة عظيم الأثر في تطوير هذه التقنيات والاستفادة منها؛ ولذلك ظهرت للوجود تقنيات هامة جديدة مثل طرق متنوعة لإنتاج الكالس، وزراعة معلقات الخلايا المنفردة والخلايا منزوعة الجدر (البروتوبلاست)، والاندماج الخلوي والتهجين الجسدي للبروتوبلاست، وإنتاج هجائن جديدة، وزراعة الخلايا النباتية الحية في المفاعلات الحيوية، والتعامل مع خلايا النباتات الراقية باستخدام تقنيات الكائنات الدقيقة.

وفي الولايات المتحدة وبعض الدول المتقدمة أصبحت هذه التقنية في متناول الجميع؛ حيث أصبح بإمكان أطفال المدارس وهواة العلم القيام بهذه التجارب العلمية الأساسية بكل سهولة، وظهرت جماعات على الإنترنت تقوم بتيسير الخطوات العملية اللازمة لهذه التقنية، وتبسيطها بحيث تصبح كوصفات الطبخ، ويتعلم أي مطلع على هذه المواقع كيف يمكنه إعداد مكونات البيئات الغذائية اللازمة لنمو النباتات في مطبخ

المنزل، كما يتعلم كيفية إعداد الأجهزة اللازمة للقيام بمشروع صغير في هذا المجال.

وعلم زراعة الأنسجة هو مجال تطبيقي أحدث ثورة في مجال الزراعة، ومن المتوقع أن يساهم فى تطوير النظم الزراعية وطرق إكثار النباتات وتربيتها. فالنباتات تتميز عن بعضها البعض بصفات مثل اللون، الشكل، الطعم والرائحة، وتحمل الظروف المناخية ومقاومة الآفات. وقد ظل العلماء لسنوات عديدة مهتمون بإيجاد طرق تسمح بإنتاج نباتات متماثلة من النباتات ذات الصفات المتميزة. ولكن عادة ما تتكاثر النباتات عن طريق التكاثر الجنسي، حيث تلقح البويضات فى الزهور بواسطة حبوب اللقاح و كل من حبوب اللقاح و البويضات تحتوى على مواد وراثية فى شكل حامض نووي، و أثناء عمليه التكاثر الجنسي يتحد الحامض النووي من كلا الأبوين ويؤدى ذلك إلى إنتاج بذور نباتات جديدة قد تختلف عن الآباء.

وتمثل النباتات ذات الصفات غير المتوقعة الجديدة هذه مشكلة للمربيين؛ حيث يستغرق مربى النباتات سنوات عديدة للوصول الى نبات به صفات مرغوبة. و قد يعتقد البعض أن جميع النباتات تنمو من البذور، و لكن نجح العلماء فى الوصول إلى طرق مختلفة للحصول على نسخ متطابقة من النباتات دون الحاجة إلى بذور، و يتم ذلك من خلال تقنيه

يطلق عليها تقنية زراعه الانسجه أو الزراعة النسيجية. وتسمح هذه التقنية بتنمية أجراء صغيرة من الأنسجة النباتية Explant أوالحيوانية يتراوح حجمها تقريباً بين عدة مليمترات إلي ما يقرب من البوصة المربعة علي بيئات صناعية معروفة المكونات وتحت ظروف بيئية متحكم فيها صناعياً ويتم هذا بغرض انقسام ونمو الخلايا وكذلك إعادة التشكل مرة أخرى في هذه الأنسجة. وعادة ما يتكون نمواً من الخلايا غير المتمايزة يعرف بالكالوس Callus، أو كائن كامل فى كثير من الأحيان (مثل نبات كامل) ثم يتم نقله وأقلمته للظروف البيئية الزراعية وبذلك يعطي بعض الأصناف النباتية ذات مميزات خاصة يستفاد منها استفادة كبيرة في مجال الزراعة وهذا يتم إنجازه في جيل أو جيلين وبذلك نتلافى برامج التربية التقليدية التي قد تستغرق من 10 - 15 عاماً.

وتعتبر الظروف البيئية التي يتعرض لها النسيج من أهم العوامل التي تؤثر علي نجاح عمليات زراعة الأنسجة وهذه الظروف مثل الضوء (شدته - مدة التعرض له - موجاته) ودرجة الحرارة (هل هي ثابتة أو متغيرة حسب الليل والنهار) والرطوبة (ملائمة فلا تساعد على نمو الكائنات الدقيقة وكذلك لا تساعد علي سرعة جفاف البيئة).

لكن التقدم في مجال زراعة الأنسجة الحيوانية يواجه بعض الصعوبات حيث أن الخلايا الحيوانية ليست لها القدرة علي إعادة الشكل مرة أخرى.

2-1. تعريف علم زراعة الأنسجة

زراعه الانسجة **Tissue Culture** هى زراعه خلايا او انسجه او اعضاء نباتية فى بيئات صناعيه ذات عناصر غذائيه معينه بغرض الحصول على نبات كامل. وتتم زراعة الأنسجة النباتية فى المعمل تحت ظروف خالية من التلوث وهو ما يعرف بتقنية زراعة الأنسجة. ويستعمل المصطلح العلمى عادة للدلالة على زراعة أي جزء نباتي على بيئة صناعية فى المعمل وقد تكون زراعة خلية أو مجموعة خلايا أو زراعة الأعضاء أو أجزاءها أو زراعة البروتوبلاست وهو خلايا معزولة الجدار. وتتمم هذه الطريقة في ظروف تعقيمية أشبه بحجرات العمليات الجراحية حيث أن البيئات المستخدمة تكون عادة موطن خصب للكائنات الدقيقة.

وتُعرّف تقنية الزراعة النسيجية النباتية في الوقت الحالي بأنها زراعة النسيج النباتي داخل الأنابيب (*In vitro*) وتحت ظروف خالية من الأمراض والميكروبات.

أما الإكثار بوساطة زراعة الأنسجة **Micropropagation** فيعني استخدام زراعة الأنسجة النباتية "الخالية من الأمراض" لأغراض إكثار النباتات وإنتاج الشتلات؛ بحيث تبدأ عملية الإكثار بالزراعة داخل الأنابيب عن طريق فصل خلايا بعض الأنسجة النباتية عن بعضها،

ونشرها على مستنبتات غذائية صناعية تتكون من الآجار "مادة تشبه الجيلي" الذي يحوي مخلوطا غنيًّا من الكربوهيدرات، والقواعد، والأحماض الأمينية، والهرمونات النباتية والأملاح والمعادن وغيرها.

وتستطيع الخلايا النمو على هذه البيئات؛ لتكوّن كتلة صغيرة من الخلايا غير المتشكلة التي تسمى كالس (Callus) فإذا ما نقل هذا الكالس إلى مستنبت آخر يحوي هرمونات معينة، أمكنه التشكل وتحوير نفسه إلى ساق وجذر وأوراق، مكونًا نباتًا كاملاً جديدًا.

ويمكن تعريف زراعة الأنسجة النباتية بأنه علم يتألف من عدد من الطرق المختلفة لإنماء الأعضاء النباتية أو الأنسجة أو الخلايا على بيئات صناعية أمكن تركيب محتوياتها فى المعمل، ويتم النمو فى ظروف متحكم فيها. وقد شغل هذا العلم الجديد العديد من العلماء والباحثين فى العالم خلال الثلاثة عقود الأخيرة وأجريت العديد من الأبحاث الأكاديمية كانت من نتيجتها زيادة الفهم عن كيفية تمييز وتكشف وتكوين الأعضاء أو الأجزاء النباتية المفصولة والمنماة فى البيئات الصناعية وأدت أيضاً إلى ابتكار العديد من الطرق الحديثة فى هذا المجال وأمكن توجيه تلك الأبحاث الأكاديمية لخدمة النواحي التطبيقية فى سبيل تطوير الإنتاج الزراعي والتغلب على العديد من المشاكل التي تواجه إنتاج تقاوي الحاصلات الزراعية الاقتصادية الهامة.

وتعتبر تكنولوجيا زراعه الانسجه النباتيه من أهم التقنيات الحيوية الحديثة الملائمة للإستخدام فى البلدان الناميه لانتاج نباتات خاليه من الامراض وعاليه الجودة، وتتميز بالانتاج السريع لنباتات متماثله تماما. كما تقوم زراعة الأنسجة على استخدام جزء من النبات قد يكون البذرة أو جزء من الجذر أو جزء من الساق أو جزء من الأوراق أو المتك أو حبوب اللقاح غلي بيئة مغذية غالباً ما تحتوي علي العناصر الكبرى والصغرى ومصدر للسكريات وغالباً ما يستخدم السكروز كبيئة مغذية وأحياناً تضاف بعض من منظمات النمو مثل الأكسينات Auxins لتشجيع تكوين الجذور ونموها و السيتكوينيتات Cytokinins لتشجيع نمو الساق والهرمونات التي توجه النبات لتكوين نسيج الكالوس Callus وهو عبارة عن مجموعة من خلايا منتظمة أو غير منتظمة أي أنها خلايا إنشائية متشابهة لا يمكن تمييز خلايا خاصة بالجذر أو الساق أو الأوراق - وزراعة تلك الخلايا المفككة علي بيئة مغذية يمكن الحصول علي أفراد تشبه النبات الأم الأصلي في تركيبها الوراثي بكميات كبيرة في أوقات قصيرة .

ولقد حقق المتخصصون في هذا المجال تقدم كبير في زراعة الأنسجة النباتية لما تمتاز به الخلايا النباتية من قدرة على إعادة الشكل مرة أخرى.

وكان لطموح العلماء وأحلامهم المستمرة عظيم الأثر فى تطوير هذه التقنيات والاستفادة منها ولذلك ظهرت للوجود تقنيات هامة مثل

طرق متعددة لإنتاج الكالوس (مجموعة من الخلايا غير المتشكلة)، وزراعة معلقات الخلايا المنفردة والخلايا منزوعة الجدر (البروتوبلاست)، والاندماج الخلوي والتهجين الجسدي للبروتوبلاست، وإنتاج هجائن جديدة، وزراعة الخلايا النباتية الحية فى المفاعلات الحيوية والتعامل مع خلايا النباتات الراقية باستخدام تقنيات الكائنات الدقيقة.

وتزداد أهمية هذا العلم مع التطوير التكنولوجى وبخاصة الثورة العلمية الهائلة فى مجال الهندسة الوراثية التى تشمل التعرف الدقيق والمحدود على الجينات الوراثية التى تحكم سلوك وصفات الكائن الحي فى مراحل تطورة المختلفة وما يتلو هذا من محاولة تعديل التركيب الجيني ليتوافق مع البيئة التى يعيش فيها ولتتواءم مع رغبات الشعوب.

3-1. أهداف زراعة الأنسجة

تعتبر طريقة التكاثر بالوسائل والطرق التقليدية بطيئة لدرجة أنها لا تفي بالدرجة الكافية بالطلب المتزايد على التقاوي والشتلات مما يدفع الكثير من الدول إلى استيراد هذه التقاوي والشتلات من الخارج. هذا بالإضافة إلى أن بعض أنواع هذه الشتلات صعبة وبطيئة الإكثار وعلى هذا فقد أدى استخدام طريقة زراعة الأنسجة إلى إنتاج أعداد كبيرة جداً من تقاوي النباتات وفى مساحة محدودة بالمقارنة بالطرق التقليدية لإنتاج هذه النباتات مع الحفاظ على صفاتها الوراثية ومطابقتها لنباتات الأم.

وأهم مايميز تقنية زراعة الأنسجة هو إنتاج شتلات خالية من المسببات المرضية أهمها الفيروس. فمن المعروف أن بعض النباتات التي تتكاثر خضريا مثل البطاطس والفراولة والموز والثوم وغيرها تصاب بالفيروسات العديدة التي تؤدى إلى ضعف النباتات ونقص الإنتاجية ورداءة التقاوي والشتلات وحيث أن هذه الإصابة تنتشر فى جميع أجزاء النباتات. ومن الممكن أن تنتقل هذه الأمراض عن طريق التكاثر بالطرق التقليدية باستخدام الدرنات أو الريزومات أو المدادات الأمر الذي يؤدى إلى تدهور التقاوي عاماً بعد عام ويؤدى أيضا إلى ضرورة استيراد العديد من النباتات من الخارج. و لكن باستخدام أسلوب زراعة الأنسجة يمكن إنتاج

نباتات خالية من هذه المسببات المرضية سواء كانت مسببة لأمراض فطرية أو بكتيرية أو نيماتودية أو حتى فيروسية و بالتالى ينعكس ذلك على جودة و كفاءة التقاوي والشتلات الناتجة من زراعة الأنسجة.

ويمكن تلخيص أهم فوائد الزراعة النسيجية فيما يلي:

1. إكثار النباتات التى يصعب إكثارها بالطرق المعتادة فى وقت قصير.
2. تربية النباتات المرغوبة والحصول على طفرات أو هجن جديدة جيدة الصفات.
3. الحصول على سلالات خالية من الفيروس.
4. استخدام الهندسة الوراثية بصورة أكثر سهولة بإدخال أو نقل صفات جيدة مرغوبة كمادة الى نواة الخلية الأم.
5. إنتاج المواد العطرية والطبية النادرة بطريقة اقتصادية فى المعمل.

ولا تقتصر أهمية علم زراعة الأنسجة النباتية على هذا فقط بل تمتد إلى أنها تعتبر الوسيلة الفريدة التى لم تكن فى متناول العلماء من قبل لدراسة فسيولوجيا النباتات والتطوير البيولوجى للكائن النباتى الحي من صور بسيطة إلى صور متراكبة معقدة البناء ولكنها متوافقة الوظائف، ودراسة التشكل الخلوى وغيره من الدراسات الأكاديمية الهامة.

4-1. مميزات زراعة الأنسجة

توفر طرق إكثار النباتات من خلال مزارع الأنسجة مايلى:-

1. إنتاج نباتات متماثلة التركيب الوراثى:

النباتات المنتجة من نشاط القمم المرستيمية تكون من الناحية الوراثية مطابقة تماماً للنسيج الأم المأخوذة منه القمم المرستيمية، ويطلق على هذه النباتات الناتجة لفظة سلالة " **Clone** " وهي النباتات الناتجة بدون تغير وراثي من فرد بمعني أنها سلالة طبق الأصل من نبات واحد دون تغير في الصفات الوراثية، أي أن جميع النباتات متشابهة وراثياً تماماً، مما يؤدي إلي المحافظة علي الصفات الوراثية. ويعد إنتاج نباتات بهذه الكيفية إحدى مميزات التكاثر الخضري للمحافظة على السلالات.

2. إكثار سريع للنباتات:

تقدم الزراعة النسيجية وسيلة مناسبة للإكثار السريع للنباتات، ومن الممكن أن يتم إنتاج النباتات والشتلات على مدار العام، وتتراوح فترة كل خطوة من خطوات زراعة الأنسجة من 4- 6 أسابيع فقط.

3. إكثار كثيف للنباتات

تقدم الزراعة النسيجية وسيلة مميزة للإكثار الكثيف **production Mass** للنباتات، بمعني إنتاج أعداد كبيرة في فترة قصيرة.

4. تبادل وحفظ التراكيب الوراثية [الأنواع]

توفر زراعة الأنسجة فرصة مناسبة لتبادل وتخزين الأصناف النباتية **Germplasm Storage and exchange** بين الدول دون الخوف من انتشار الأمراض من الدول المصدرة إلى الدول المستوردة فمثلاً ظهور صنف جديد في منطقة أو دولة ما قد تقف إجراءات الحجر الزراعي والخوف من انتشار الأمراض عائقاً في سبيل نشر هذا الصنف، ولكن عن طريق زراعة الأنسجة يمكن التغلب علي هذا العائق.

كما تؤدى تقانات الزراعة النسيجية إلى سهولة حفظ التراكيب الوراثية، وهو ما يعتبر هدف عظيم بالنسبة لعلماء التربية حيث يمكنهم حفظ أنواع معينة أو أصناف معينة في أنابيب تحفظ في ثلاجات لإيقاف نموها حتى يحتاج إليها في عمليات التربية والتهجين المختلفة، وذلك بدلاً من زراعتها في الحقل مباشرةً، حيث يتطلب نظام المحافظة عليها في الحقل كثيراً من الوقت والجهد فضلا عن إمكانية فقدها في أي لحظة بسبب الظروف البيئية والحيوية في الحقل.

5. إنتاج نباتات خالية من مسببات الأمراض

تقدم تقانات الزراعة النسيجية وسيلة هامة للتخلص من المسببات المرضية، وإنتاج نباتات خالية من الفيروسات **Virus Free Plants** فمن المعروف أن بعض النباتات التي يتم إكثارها خضرياً تكون عرضة للإصابة بالأمراض الفيروسية والتي تنتقل من خلال وسائل الإكثار ومن أهم الأمثلة نباتات البطاطس، الموز، الثوم، الفراولة، وغيرها. لذلك فمن خلال مزارع الأنسجة يتم زراعة جزء صغير جداً 0.2 - 0.5 ملليمتر. هذا الجزء غالباً خالي من الفيروس حتى من النباتات المصابة بالفيروس لعدم احتوائه على أنسجة وعائية، بالإضافة لبطئ حركة الفيروس في المنطقة النشطة الإنقسام. ولذلك فالنباتات الناتجة من هذا الجزء هي نباتات خالية من مسببات الأمراض وبذلك يمكن توفير ملايين الدولارات التي تستخدم في استيراد شتلات من مناطق باردة حيث لا ينمو الفيروس فيها.

6. إنتاج العديد من المركبات العضوية والأمصال

تنتج الكثير من النباتات الطبية والعطرية مواد عضوية، ومواد ثانوية فعالة ذات أهمية خاصة طبية وصناعية مثل نباتات الداتورا والسكران والدجيتالس والريحان والنعناع والونكة وغيرها. وتستخدم مزارع الأنسجة حاليا بشكل مكثف في إنتاج العديد من هذه المواد الفعالة وبخاصة المواد الصيدلانية منها. ويقوم الباحثون بالعديد من الدراسات

لإنتاج هذه المواد فى المختبرات، ونقل الخبرات للصناعة لإنتاج هذه المواد بشكل تجارى. ويقوم الباحثون بزراعة أجزاء من النباتات لإنتاج نسيج الكالوس CALLUS الذي نستخلص منه المادة الفعالة بدلاً من اللجوء إلى زراعة النبات نفسه. كما نجح العلماء فى إنتاج كميات هائلة من هذه المواد الفعالة على مدار العام من خلايا وأنسجة النبات الطبية والعطرية. كما يمكن إنتاج المواد الصناعية مثل إنتاج الكاكاو معملياً.

كما تستخدم مزارع الأنسجة في إنتاج العديد من الأمصال Vaccines بنفس الأسلوب، فضلاً عن توفير الفرصة للتحوير الوراثى للنباتات.

1-5. شروط نجاح زراعة الأنسجة:

لكي تتم عملية زراعة الأنسجة بنجاح يجب أن تتوافر فى المعمل عناصر ضرورية وأهم شرطين يجب توافرهما: النظام والنظافة حتى يتم فصل الجزء المراد زراعته من النباتات الأم بطريقة سليمة وسريعة. وإلى جانب النظام والنظافة فمن الأهمية بمكان التأكد من سلامة ونظافة الكيماويات المستعملة، كذلك الماء المقطر المستخدم فى تحضير البيئات.

2-5. معمل [مختبر] زراعة الأنسجة

بغض النظر عن الإمكانيات المتاحة فى المساحة أو التجهيزات فى كل معمل يجب أن تتوافر حجرات منفصلة لمعمل زراعة الأنسجة على هيئة الوحدات الآتية:

1. غرفة الاستقبال:

وهي غرفة بعد مدخل المعمل مباشرة، وتستخدم كإستراحة للعاملين بالمعمل ولاستقبال الضيوف وكذلك لإتمام الأعمال الإدارية الخاصة بالمعمل. ويحذر على غير العاملين المرور من تلك الغرفة والدخول للمعمل إلا لغير العاملين به، أما بالنسبة للعاملين فيتم إستبدال الملابس وارتداء البلطو وواقي القدم ثم الدخول للمعمل، وتشمل هذه الغرفة على مكتب للإدارة ودولاب لحفظ الأوراق ومكان لاستقبال الضيوف وكذلك مكان مخصص لاستبدال الملابس به.

2. غرفة البداية:

وهي حجرة يتم فيها إعداد الأجزاء النباتية المراد زراعتها من النباتات المراد إكثارها معمليا. حيث يتم إجراء عملية التعقيم الأولية عليها ويكون بها كبينة زراعة (هود) ودواليب زراعة بدون إضاءة لتحضين

تلك الأجزاء بعد زراعتها على البيئة المخصصة لذلك في مدة لا تتجاوز الشهر،

3. وحدة الغسيل والتخفيف للأواني الزجاجية المستخدمة

تتم في هذه الغرفة غسيل جميع الأدوات المستخدمة في هذه الأنسجة مثل الزجاجات، أطباق بتري، المخابير، الماصات وغيرها من الأدوات الزجاجية حيث تغسل بالماء (ماء مقطر مرتين) D.D.W فقط ولا يستخدم الصابون مطلقاً. ويجب احتواء المعمل على أحواض غسيل كبيرة لسهولة الغسيل ويفضل أن يكون مغطي بطبقة من الرصاص (لمقاومته للأحماض والقلويات) وبه مصدر دائم للماء العذب، ويستخدم الصابون السائل دائما في التخلص من الشوائب وقد يستخدم حمض الكبريتيك للتخلص من الشوائب الصعبة.

4. وحدة تحضير البيئات وتعقيمها [حجرة المطبخ]:

وهي غرفة يتم فيها تجهيز وإعداد البيئة المغذية المراد زراعة الجزء النباتي عليه. وتتكون حجرة البيئة من بنشات لتسهيل عملية إعداد البيئة وعلى أرفف ودواليب لتخزين الكيماويات والزجاجيات المستخدمة دائما.

5. غرفة التحضين:

وهي عبارة عن غرفة صغيرة الحجم بها دواليب بدون إضاءة، يتم تحضين البيئة بها بعد تجهيزها على درجة حرارة الغرفة لمدة من 4- 7 أيام وذلك لتأكد من خلوها من الفطريات والبكتريا قبل الزراعة عليها مباشرة.

6. وحدة [حجرة] الزراعة

ويتم في هذه الغرفة زراعة الخلايا أو الأنسجة أو الأعضاء في البيئات. تعتبر هذه الغرفة أهم غرف معمل زراعة الأنسجة وأشدها تعقيمها.

وتتكون من: -

1. كبينة زراعة (هود) منها الفردي والزوجي، على حسب عدد العاملين عليه. ويكون الهواء الخارج من الهود أفقيا وليس رأسيا.

2. ستائر هوائية عند الباب ذات ضغط أعلى من الضغط الخارجي بـ ½ أو ¼ بار لعدم السماح بمرور أي حشرة طائرة داخل الغرفة.

3. (UV) لزيادة التعقيم وتستخدم فقط قبل الزراعة بأكثر من ساعة ولمدة 10- 15ق.

4. فلتر لتغير الهواء الداخلي للغرفة مما يساعد على تقليل الميكروبات.

5. دولاب من الخشب لحفظ الأدوات المستخدمة في عملية الزراعة.

6. Bacti-cenerетor لتعقيم أدوات الزراعة على الهود.

7. المشارط والملاقيط (أدوات التشريح) مصنعه من الأستانلي استيل لمنع الصدأ.

8. علبة استانلي استيل لتعقيم أوراق التشريح بها.

9. عربة متحركة لسهولة النقل والحركة بين غرفة الزراعة وغرفة النمو مصنعة من الاستانلي استيل يتم استخدامها في نقل البيئات والنباتات المنزرعة.

10. كراس متحركة للهود .

11. تكييف بالغرفة لتسهيل عملية التنفس على العاملين بالزراعة.

7. حجرة النمو

وهي وحدة للتحضين وتجهز بلمبات فلورنست وترموستات لضبط درجة الحرارة ودرجات الإضاءة لكي تناسب النبات المستخدم. وهي عبارة عن دواليب للزراعة بها إضاءة (غالبا ما تكون 16 إضاءة/8 أظلام) ويكون لها لوحة مفاتيح من الخارج، للتحكم في عدد ساعات الإضاءة وتشغيل التكييف والأجهزة التي بالداخل من الخارج دون الدخول وخصوصا عند تشغيل (UV).

وتحتوي على فلاتر لتغيير الهواء الداخلي وستائر هوائية فقط ولا يفضل استخدام UV في غرفة النمو حيث يؤثر ذلك على النباتات المنزرعة به.

وغرفة النمو والزراعة لها ملابس خاصة بها غير التي تستخدم في حجرة تحضير البيئة. وهذه الملابس لا يتم الخروج بها من تلك الغرفة. وهذا بالإضافة إلى مكان مخصص لتخزين الكيماويات والزجاجيات والأدوات في مخزن خاص بالمعمل.

ويجب توافر الظروف التالية في هذه الحجرة: -

- درجة حرارة 25° م
- 16ساعة ضوء من لمبات ضوء فلورسنت أبيض وذلك لأنه يوجد به جميع أطوال موجات الضوء كما أنه لا يؤدي إلى ارتفاع درجة الحرارة.

ويتم في هذه الحجرة نمو الأجزاء المزروعة في البيئات، وتشكلها وإنتاج النبيتات.

8. حجرة التفريد

في هذه الحجرة يتم تفريد النباتات النامية من الزجاجات أو أطباق تيري في التربة الصناعية (بيت موس) أو تربة معقمة تماماً تحت ظروف متحكم فيها. وبعد ذلك تجرى له عملية أقلمة ثم ينقل إلي الصوبة أو إلي الأرض المستديمة مباشرةً.

وعملية التفريد هذه تكسب النباتات النامية القوة والتحمل للظروف الطبيعية كي تستطيع الاستمرار في الحياة عند نقلها إلى التربة.