المحاضرة الأولى : المجهر الضوئي المركب واجزاءه

تعريف المجهر المركب:

هو نوع من المجاهر الضوئية يستخدم عدسات متعددة لتكبير الأجسام الصغيرة. يتكون من مجموعتين من العدسات: العدسة الشيئية، الأقرب إلى العينة والتي توفر التكبير الأولي، والعدسة العينية، التي تُكبّر الصورة أكثر ليراها المُشاهد. يمر الضوء عبر العينة ويُكبّر بواسطة العدسة الشيئية، ثم يُكبّر أكثر بواسطة العدسة العينية، مما ينتج عنه صورة مكبرة للغاية مرئية للمُشاهد. تُستخدم المجاهر المركبة بشكل شائع في علم الأحياء والطب وغيرها من المجالات العلمية لمشاهدة الخلايا والأنسجة وغيرها من التراكيب الصغيرة.

ثلاثي العدسات
رأس المجهر

يجمع رأس المجهر ثلاثي العدسات بين مزايا الرؤية ثنائية العدسات والقدرة على التقاط صور رقمية أو مقاطع فيديو للعينات. وهو مناسب بشكل خاص للأبحاث المتقدمة والأغراض التعليمية والتطبيقات الصناعية التي تتطلب دقة عالية في التصوير والتوثيق.

مجهر
رأس المجهر

يستخدم رأس المجهر ثنائي العدسات عدستين عينيتين للرؤية المتزامنة بكلتا العينين، مما يوفر راحة محسّنة وإدراكًا أفضل للعمق وجودة صورة فائقة. يُعد هذا الرأس مثاليًا للاستخدامات المهنية والبحثية التي تتطلب مراقبة دقيقة، حيث يقلل تصميمه من إجهاد العين ويعزز الدعم المريح مقارنةً بالمجاهر أحادية العدسة.

أحادي
رأس المجهر

رأس المجهر أحادي العدسة هو نوع أساسي من رؤوس المجهر مزود بعدسة عينية واحدة، وهو مثالي للتطبيقات البسيطة والفعالة من حيث التكلفة. يُعدّ مفيدًا بشكل خاص في البيئات التعليمية وللمبتدئين، ولكنه قد يُسبب إجهادًا للعين عند استخدامه لفترات طويلة، كما أنه يفتقر إلى إدراك العمق الذي توفره رؤوس المجهر ثنائية وثلاثية العدسات الأكثر تطورًا.

أجزاء المجهر المركب

مصدر الإضاءة: يوجد عند قاعد المجهر.

المسرح: يزود المسرح بماسك شرائح معدني يساعد على تحريك الشريحة (العينة المراد فحصها) في جميع الاتجاهات بسهولة.

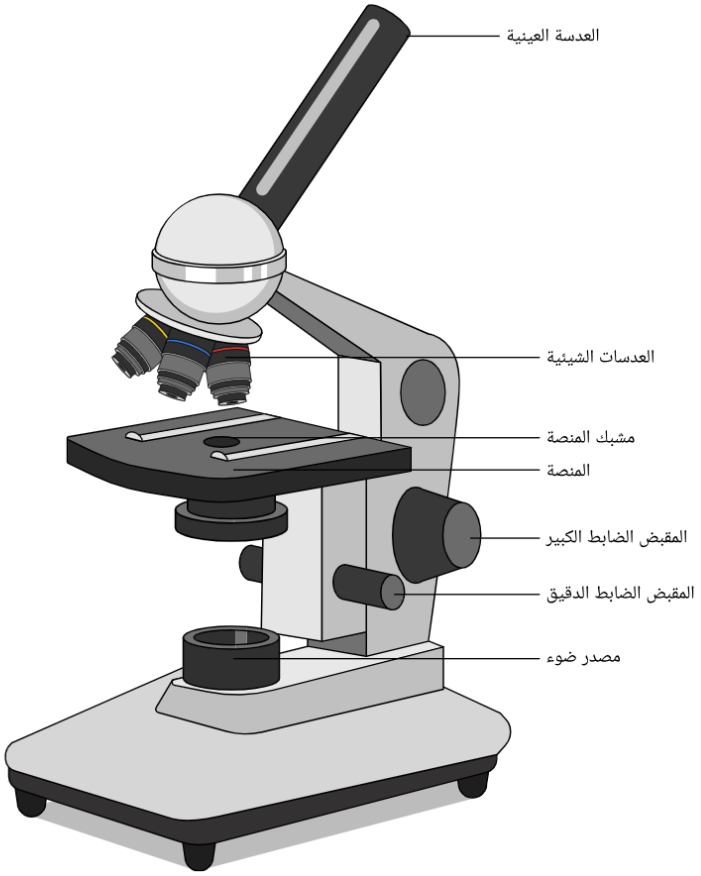
المكثف: يثبت المكثف عند نقطة مناسبة لتجميع الضوء، وإضاءة العينة.

حجاب المكثاف: يفتح الحجاب بالكامل بواسطة تحريك ذراع صغير توجد أسفل المسرح، ثم يتم غلق الحجاب تدريجيا حتى نصل إلي نقطة ما قبل انخفاض الضوء، وبذلك تكون أنسب فتحة للحجاب لتعطي أفضل تمييز.

العدسات الشيئية: تعدد العدسات الشيئية هي المسئولة عن التكبير والرؤية الواضحة، حيث تثبت العدسات الشيئية في قرص دائر يعرف بالقطعة الأنفية، وتكتب قوة التكبير على جانب كل عدسة شيئية.

العدسات العينية: تحتوي بعض المجاهر على عدسة عينة واحدة والبعض الأخر يحتو على عدستين عينيتين ويجب ضبط المسافة بين العدسات العينية تبعا للمسافة بين عينيك.

يكون التكبير الكلي للمجهر حاصل ضرب قوة تكبير العدسة الشيئية وقوة تكبير العدسة العينية (مثلا عدسة شيئية 40× وعدسة عينية 10 × يكون التكبير النهائي x400).



الاستعمال السليم للمجهر:

1- يحمل المجهر بواسطة اليدين.

2- تنظيف المجهر:

تنظف العدسات بورق تنظيف العدسات مع استخدام الماء او محلول تنظيف العدسات، تنظف العدسة الزيتية بعد كل استعمال بواسطة قطعة من الشاش الجافة أو بورق تنظيف العدسات. تجنب

وصول الزيت إلي العدسات غير الزيتية يفضل وضع غطاء واق من الغبار في حالة عدم استخدام المجهر. كما يجب إطفاء النور

بمجرد الانتهاء من استعماله. حرك العينة على المسرح فاذا تحركت الأوساخ تكون الشريحة هي المتسخة. غير العدسات الشيئية فاذا اختفى الاتساخ تكون العدسة الشيئية السابقة هي المتسخة. أدر العدسة العينية فاذا دارت البقع المتسخة تكون العدسة العينية هي المتسخة.

3- ضبط العدسات العينية لتلائم العينين.

4- يتم ضبط الإضاءة.

5- توضع الشريحة المراد فحصدها على المسرح وتفحص بالعدسة الشيئة الصغرى حتى تصبح واضحة.

6- يتم ضبط المكثف.

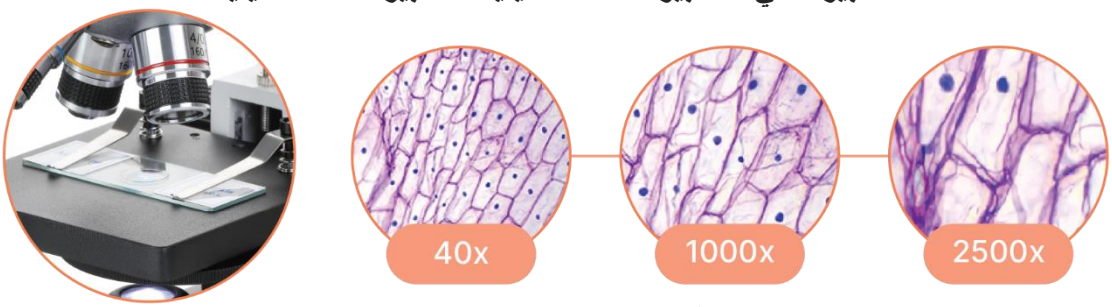
7- يتم ضبط فتحة المكثف عند استخدام عدسات شيئية أكثر قوة.

حساب قوة التكبير

التكبير هو عملية تكبير مظهر جسم ما، مما يجعله يبدو أكبر من حجمه الحقيقي. في علم البصريات، هو نسبة حجم الصورة التي تنتجها العدسة أو المجهر إلى الحجم الحقيقي للجسم المراد رؤيته.
يعمل التكبير عن طريق ثني الضوء من خلال العدسات أو باستخدام التكنولوجيا الرقمية لتكبير مظهر الجسم، مما يسمح بالملاحظة والتحليل التفصيليين.

ويتم حساب التكبير المركب عن طريق ضرب تكبير العدسة الشيئية في تكبير العدسة العينية.

التكبير الكلي = تكبير العدسة الشيئية × تكبير العدسة العينية



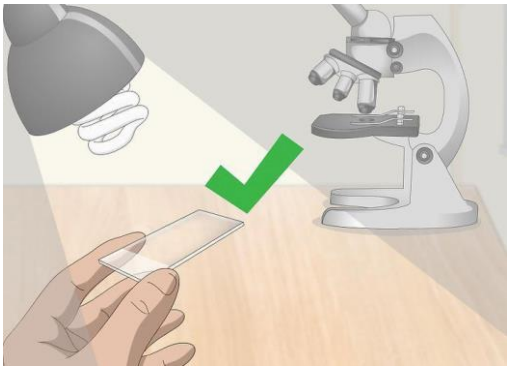
المحاضرة الثانية: اعداد العينات للفحص تحت المجهر

الطريقة 1. إعداد التثبيت الجاف

1. اختر شريحة نظيفة.

ضع الشريحة على مصدر الضوء وابحث بعناية للتأكد من أنها خالية من البقع والأوساخ. معظم شرائح المجهر مسطحة ومستطيلة في الأعلى والسفلي. فهي واضحة ، مما يسمح للضوء من

المجهر بالمرور وإلقاء الضوء على عينة العينة الشفافة. إذا كانت الشرائح قذرة أو ملطخة ، فلن تتمكن من فحص عيناتك بشكل فعال.
إذا وجدت أي تلوث على شرائح المجهر (بما في ذلك بصمات الأصابع الخاصة بك) ، فغسلها بسرعة بالصابون السائل والماء. تجفيف الشرائح بقطعة قماش نظيفة. لا تستخدم المناشف الورقية أو المناشف الورقية لأنها يمكن أن تترك الوبر خلفها.

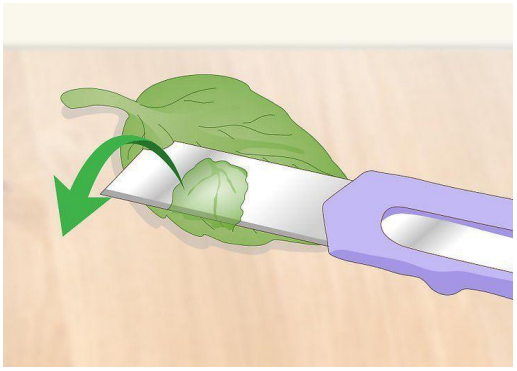


2. **فحص العينة لتحديد ما إذا كان التقسيم مطلوب.**

يجب أن تكون عينات العينات شفافة (أو شفافة) إلى شفافة لتمرير الضوء. إذا لم يمر الضوء على طول الطريق عبر العينة وإلى العدسة المجهر ، فلن تتمكن من رؤية العينة من خلال المجهر.
بعض العينات (على سبيل المثال ، حبلا من الشعر أو جناح الحشرات) هي نفسها رقيقة وشفافة ، ولا تتطلب القطع بشفرة.

3.شريحة قطعة رقيقة من عينة العينة.

استخدم شفرة الحلاقة لقطع مادة العينة إلى شرائح رقيقة وشفافة. الإدراج الجاف أسهل للتحضير لأنها لا تستخدم أي سائل بين الشريحة والعينة. يعد التثبيت الجاف مثاليًا لفحص العينات التي لا تتعرض لخطر التجفيف. المواد الشائعة الاستخدام للتركيب الجاف تشمل: الفلين أو الخشب. وبتلات أو أوراق والساق أو جناح الحشرة والشعر ، الفراء ، أو الريش.

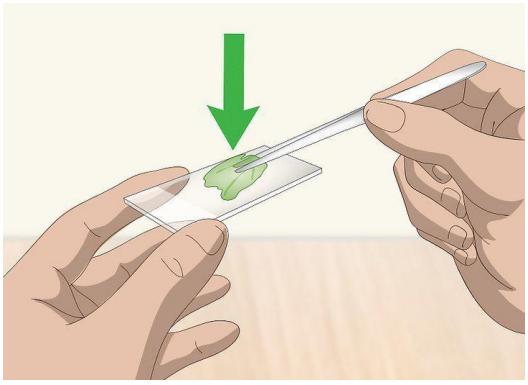


4.ضع عينة العينة على الشريحة.

استخدم ملاقط لالتقاط شرائح رقيقة من العينة. ضعها بعناية على جانب الشريحة. إذا كنت تستخدم شريحة مقعرة مع ميل واحد مائل لأسفل ، فضع العينة في وسط المنطقة المقعرة.

إذا كنت قلقًا بشأن عينة المتداول أو الانزلاق من الشريحة المسطحة ، فقم بتركيبها على شريحة مقعرة. على سبيل المثال ، إذا كنت تستعد بتلات مجعد تتدحرج على جانب أو آخر ، فاستخدم الشرائح المقعرة.

بالنسبة لجميع أنواع العينات الأخرى ، ستعمل الشرائح المسطحة بشكل جيد.



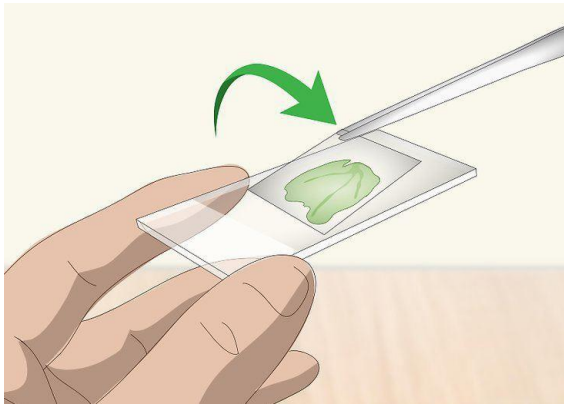
5.ضع زجاج الغلاف على العينة.

يمنع زجاج الغلاف العينة من التدحرج من الشريحة. تحمي الشريحة أيضًا العينة إذا كان مستخدم المجهر يقلل من العدسة عن طريق الخطأ للاستفادة منه.

غلاف الزجاج عبارة عن ورقة رقيقة جدًا من الزجاج الصافي أو ، بشكل أكثر شيوعًا ، البلاستيك.

كل زلة حوالي 3 إلى 4 بوصات (1.9 سم) واسعة وطويلة.

شرائحك جاهزة الآن لفحصها تحت المجهر.

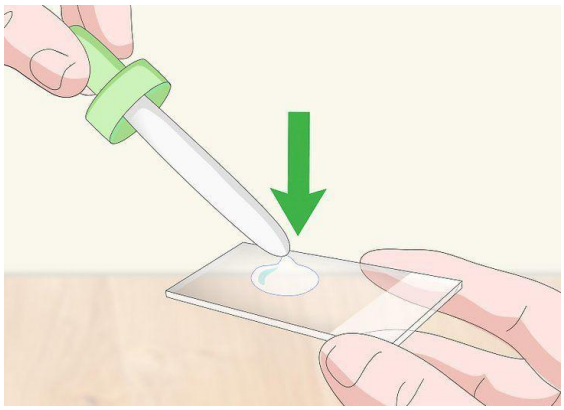


الطريقة 2. الاستعداد للتركيب الرطب

1.ضع قطرة من الماء على الشريحة.

استخدم eyedropper لوضع قطرة واحدة من الماء في المركز الدقيق للشريحة المسطحة أو المقعرة. هذا قطرة الماء يعطي الوقوف الرطب اسمه. يمنع السائل العينة الرطبة ويمنع العينات العضوية الرطبة من التجفيف والتشوه. يمكن للمياه أيضًا الحفاظ على العينات الحية ، مثل الكائنات الحية الواحدة.

إذا كنت ترغب في إنشاء شرائح دائمة باستخدام مواد عضوية ميتة ، فيمكنك استخدام طبقة رقيقة من طلاء الأظافر الصافي بدلاً من قطرات الماء.



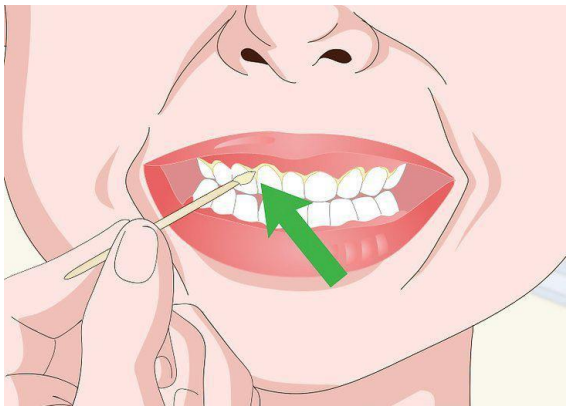
2.كشط أو شريحة جزء من عينة رطبة.

العينات المستخدمة للإدراج الرطب عادة ما تكون مواد عضوية رطبة أو حية. استخدم شفرة حلاقة أو مسواك لقطع أو كشط كمية صغيرة من العينات الرطبة. تشمل المواد المستخدمة عادة لصنع الشرائح الرطبة:

خلايا الخد أو البلاك (كشط من الفم مع مسواك).

مقطع عرضي رفيع من جذع النبات (مقطوع بشفرة).

إذا كنت تدرس الكائنات الحية ذات الخلية الواحدة amoeba -- أو paramecium ، على سبيل المثال ، فلن يساعد التواقد {{2}}. بدلاً من ذلك ، استخدم قطارة نظيفة لامتصاص بضع قطرات من الماء حيث تسبح الكائنات أحادية الخلية أو الطحالب.



3.ضع عينة في قطرة المياه الخاصة بك .

نقل العينة إلى الشريحة باستخدام ملقطات أو ملاقط ، اعتمادًا على نوع المواد التي تستخدمها للعينة.

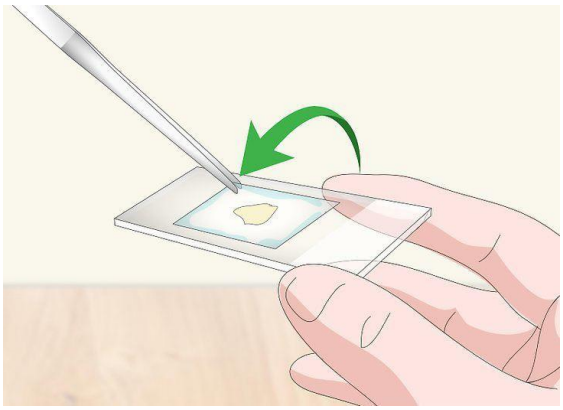
ضع العينة في وسط انخفاض المياه بحيث يتم تعليقه في السائل.

إذا كنت تستخدم قطارة لامتصاص الكائنات الحية ذات الخلية الواحدة ، فأضف 1 أو 2 قطرات إلى قطرات الماء الموجودة بالفعل على الشريحة.

4.مكان غطاء الزجاج أعلى العينة الرطبة.

امسك زجاج الغلاف بزاوية 45 درجة. ضع حافة واحدة بجوار العينة على انخفاض الماء. ثم خفض الجانب الآخر من الشريحة حتى تقع على أعلى العينة. يجب أن ترى قطرات الماء تنتشر تحت زجاج الغطاء حتى تصل إلى حوافها.

بمجرد أن يكون زجاج الغلاف في مكانه ، لا تنقر أو اضغط على زجاج الغلاف. إذا قمت بذلك ، فأنت تتعرض لخطر تسطيح العينة والماء من الشريحة.



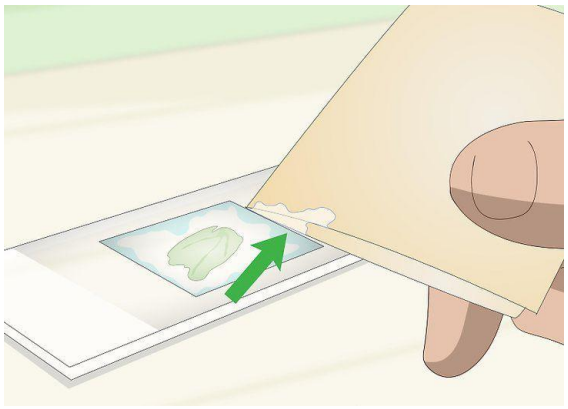
الطريقة 3. عينات خلايا تلطيخ

1.مكان ورقة الأنسجة على جانب زجاج الغلاف.

ضع المنشفة على حافة الشريحة ولا تزعج المادة أسفل شريحة الغلاف. سوف تمتص المناشف الورقية الماصة بعض الماء من أسفل زجاج الغطاء ثم تسحب البقعة من أسفل زجاج الغطاء على العينة.

إذا كانت عينة شريحة الفسيفساء الرطبة شاحبة أو عديمة اللون (على سبيل المثال ، المقطع العرضي لجذع النبات عديمة اللون) ، فقد يكون من الصعب رؤيتها عند عرضها من خلال المجهر. يتيح لك تلطيخ العينة رؤية شكلها وملمسها بشكل أفضل.

عادة ما يتم ذلك بعد فحص العينة الرطبة في الشريحة دون تلطيخها. قد تكون الشريحة جاهزة حتى لو لم تكن ملطخة.

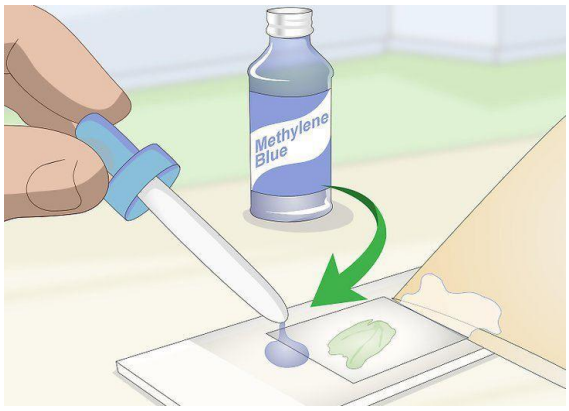


2.أضف 1 قطرة من اليود أو الميثيلين الأزرق إلى الجانب الآخر من زجاج الغطاء.

استخدم قطارة لإسقاط المادة الكيميائية تلطيخ أعلى شريحة المجهر ، بجوار شريحة الغلاف. كن حذرًا لتوزيع قطرة واحدة فقط. وصمة عار فائض قد تنطلق من الشريحة.

يمكن شراء اليود أو الميثيلين الأزرق في أي متجر تعليمي أو متجر بيولوجي.

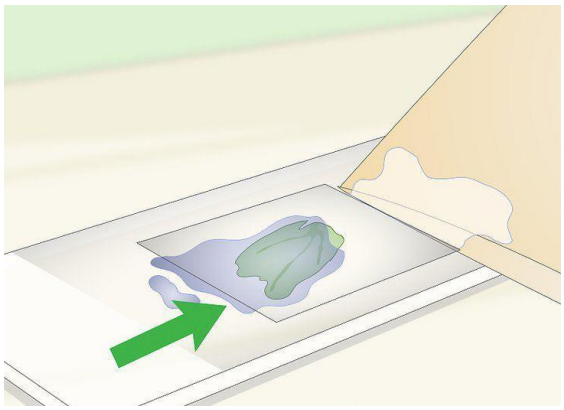
هناك طريقة أخرى تتمثل في إضافة قطرة من الصبغة إلى الماء عند إعداد الشريحة الرطبة لأول مرة. في هذه الحالة ، لا تحتاج إلى منديل.



3.انتظر حتى يتم امتصاص الصبغة تحت غطاء الشريحة.

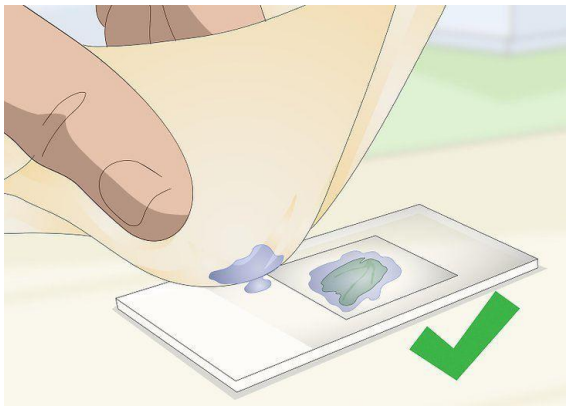
عندما تمتص المنشفة الورقية الماء من الجانب الآخر ، ستبدأ البقعة في التسرب تحت زجاج الغطاء. قد يستغرق الأمر ما يصل إلى 5 دقائق لليود أو الميثيلين الأزرق حتى ينقع بالكامل تحت غطاء الشريحة وتشبع العينة.

بمجرد غمر اليود أو الميثيلين الأزرق بالكامل تحت غطاء الشريحة ، تكون العينة ملطخة بالكامل.



4.امسح الصبغة الزائدة بمنشفة ورقية نظيفة.

قم بتنظيف سطح الشريحة لمنع السائل الفضفاض من الانسكاب من الجانب. تم الآن ملطخة الشريحة الرطبة الخاصة بك وجاهزة لمشاهدتها تحت المجهر.



المحاضرة الثالثة: التعقيم وإعداد الأوساط الزراعي

- التعرف على طرق التعقيم المختلفة المستخدمة في مختبرات التقانات الأحيائية.
- فهم كيفية تحضير أوساط زرعية معقمة لنمو الفطريات والبكتيريا.
- تعلم الإجراءات العملية الصحيحة للحفاظ على التعقيم ومنع التلوث.

المعدات والأدوات

- أطباق بتري زجاجية وبلاستيكية
- أوعية قياس (Beakers, Flasks)
- جهاز تعقيم المؤصدة autoclave
- فرن حراري للحرارة الجافة Oven
- أوساط زرعية جاهزة (PDA, NA, Sabouraud) أو مكونات لإعدادها
- ميزان حساس
- ماصة أو أنابيب قياس
- قفازات، معقم يديين، مطهر أسطح
- ورق ألومنيوم و قطن.

أولاً: التعقيم بالبخار (Steam sterilization / Autoclaving)

التعقيم بالبخار يستخدم حرارة عالية وضغط لإزالة جميع الكائنات الحية الدقيقة، بما فيها البكتيريا المتكونة في الأبواغ. عادة عند حرارة 121 °C و 15 بار/ انج^2 لمدة 15–20 دقيقة.

خطوات العمل:

1. ضع الأوعية أو الأوساط الزراعية في حاويات مقاومة للحرارة.
2. أغلق الأغطية بطريقة تسمح بتصريف البخار دون فتح كامل الوعاء.
3. ضعها داخل جهاز autoclave.
4. ضبط درجة الحرارة على 121 °C والضغط على **15 بار/ انج^2** (15.psi)
5. بدء دورة التعقيم لمدة 15–20 دقيقة.
6. بعد انتهاء الدورة، اترك الجهاز يبرد تدريجيًا قبل فتحه.

الملاحظات العملية:

- لا تفتح الجهاز مباشرة بعد الانتهاء لتجنب الحروق بالبخار.
- تحقق من أن كل أوعية الوسائط مناسبة لتحمل الحرارة والضغط.
- يمكن استخدام شريط اختبار للتأكد من التعقيم الفعلي.

ثانياً: التعقيم بالحرارة الجافة(Dry heat sterilization)

الشرح العلمي:

الحرارة الجافة تستخدم قتل الكائنات الدقيقة بواسطة درجات حرارة مرتفعة لفترة أطول، عادة للأدوات المعدنية والزجاجية.

خطوات العمل:

1. ضع الأدوات الزجاجية أو المعدنية داخل فرن حراري.
2. ضبط درجة الحرارة على 160–180 °C حسب نوع المادة.
3. ترك الأدوات داخل الفرن لمدة 1–2 ساعة لضمان التعقيم الكامل.
4. بعد انتهاء الوقت، اترك الأدوات تبرد داخل الفرن قبل إخراجها.

الملاحظات العملية:

- الأدوات يجب أن تتحمل الحرارة العالية.
- استخدام قفازات مقاومة للحرارة عند إخراج الأدوات.
- الحرارة الجافة أبطأ من التعقيم بالبخار لكنها مناسبة للأدوات غير الحساسة للرطوبة.

ثالثاً: إعداد الأوساط الزراعية (Media preparation)

الشرح العلمي:

الأوساط الزراعية توفر العناصر الغذائية اللازمة لنمو الفطريات والبكتيريا. يجب أن تكون معقمة لتجنب نمو الملوثات.

خطوات العمل:

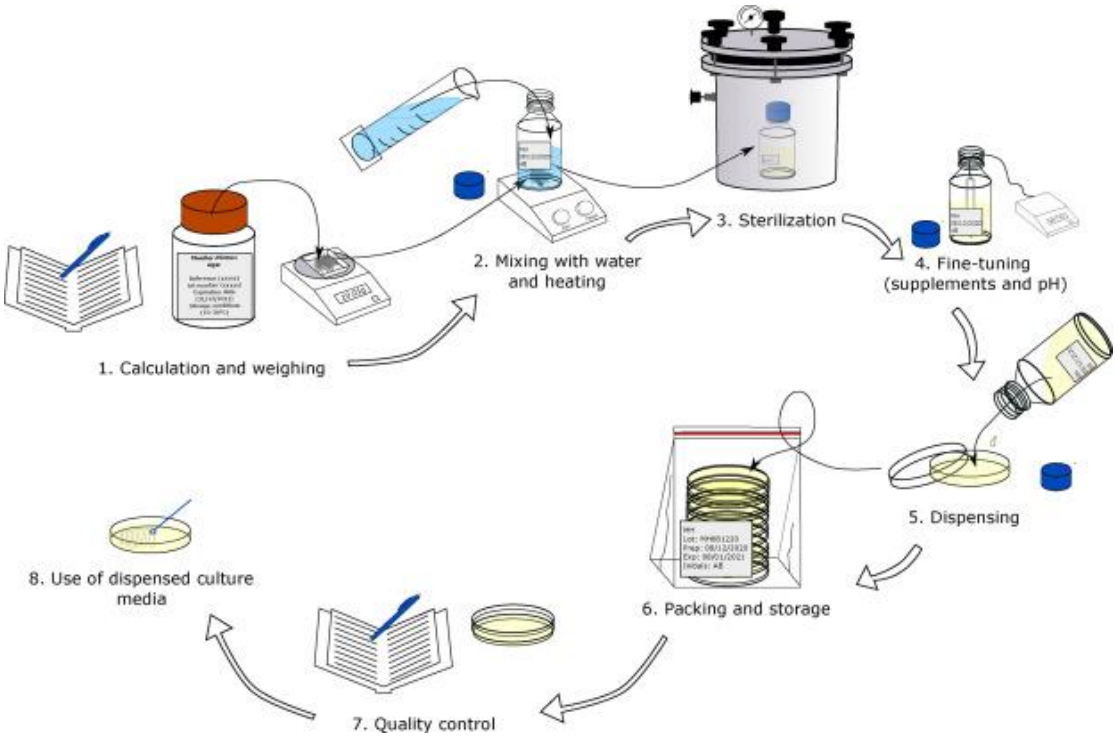
1. وزن المكونات بدقة حسب الوصفة) مثلاً PDA = 39 :غرام لكل لتر ماء.
2. أضف الماء وحرك جيدًا حتى تذوب المكونات تمامًا.
3. توزيع المحلول في أوعية مناسبة قبل التعقيم.
4. التعقيم بالبخار في autoclave كما سبق شرحه.
5. بعد التعقيم، صب الوسائط في أطباق بتري في منطقة معقمة.
6. اتركها لتبرد وتتصلب قبل استخدامها.

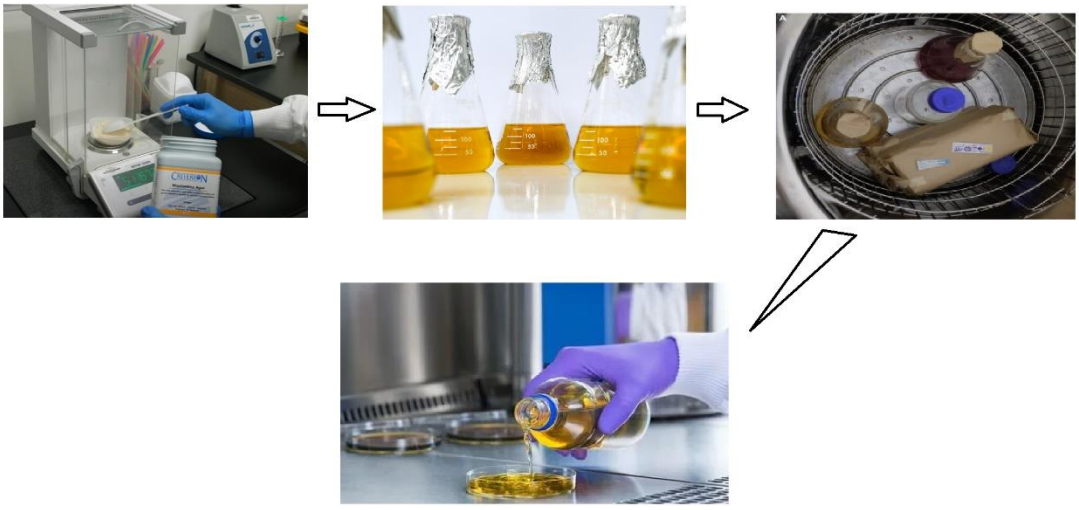
مقرر: التقانات الإحيائية الزراعية (العملي)

المرحلة الثالثة / قسم وقاية النبات / أستاذ المادة : م.م. مهند محسن شدهان

الملاحظات العملية:

- تجنب ملامسة الأوعية أو الوسائط بعد التعقيم باليد مباشرة.
- استخدم منطقة عمل معقمة لتقليل التلوث.
- يمكن إضافة مضادات حيوية إذا كان الهدف نمو فطر محدد بدون بكتيريا.





المحاضرة الرابعة : أنواع الأوساط الزرعية ومكوناتها

أولاً: المكونات الأساسية (التي تدخل في معظم الأوساط)

تتكون الأوساط الزرعية من عناصر توفر الغذاء والطاقة للميكروب، وهي:

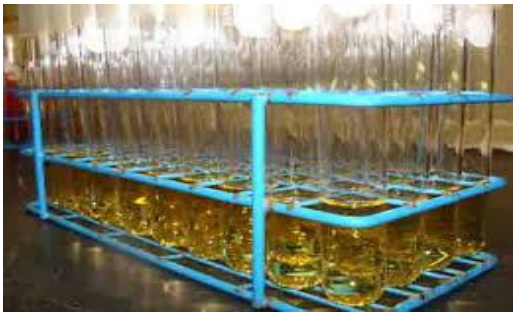
1. **المياه :(Water)** يفضل استخدام الماء المقطر لضمان عدم وجود أملاح قد تؤثر على النتائج.
2. **الببتون :(Peptone)** بروتين مهضوم جزئياً يعمل كمصدر أساسي للنيتروجين والكربون.
3. **مستخلص اللحم أو الخميرة :(Meat/Yeast Extract)** يوفر الفيتامينات والمعادن وعوامل النمو.
4. **الآجار :(Agar)** مادة مستخلصة من الطحالب البحرية، وظيفتها **تصلب الوسط فقط** (البكتيريا لا تتغذى عليها).
5. **الأملاح) مثل :(NaCl)** للحفاظ على الضغط الأزموزي للخلية البكتيرية.
6. **كواشف اللون :(Indicators)** تضاف للأوساط التفريقية لتغيير لون الوسط عند حدوث تفاعل كيميائي (مثل تخمير السكر).

ثانياً: أنواع الأوساط حسب القوام الفيزيائي

1. **الأوساط السائلة:(Liquid Media / Broth)**

0. **المكونات :**لا تحتوي على آجار.

1. **الاستخدام :**تنمية الفطريات والبكتيريا بكميات كبيرة، واختبارات التخمير.



2. **الأوساط الصلبة:(Solid Media)**

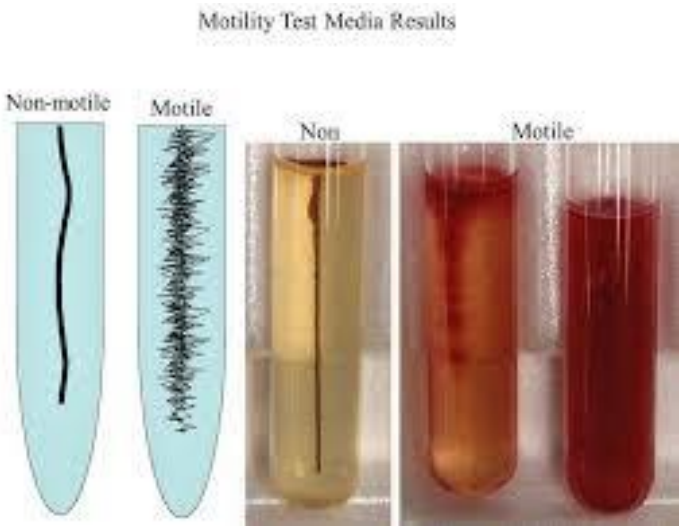
0. **المكونات :**تحتوي على آجار بنسبة.(2% - 1.5%)

1. **الاستخدام :**عزل المستعمرات الفطرية والبكتيرية النقية ودراسة شكلها.

3. **الأوساط شبه الصلبة:(Semi-solid Media)**

0. **المكونات :**تحتوي على نسبة قليلة من الآجار (0.5% أو أقل).

1. **الاستخدام :**اختبار قدرة البكتيريا على الحركة.



ثالثاً: أنواع الأوساط حسب الوظيفة الحيوية

هذا التصنيف هو الأهم في المختبرات الطبية والبحثية:

نوع الوسط	الوظيفة	مثال عليه ومكوناته الخاصة
أساسي(Simple)	لنمو البكتيريا غير المتطلبة.	**Nutrient Agar** ببتون + مستخلص لحم + آجار و**PDA**
غني(Enriched)	لإضافة مغذيات إضافية للبكتيريا الصعبة.	**Blood Agar** (آجار مغذي + 5-10% دم حصان أو أغنام)
اختياري(Selective)	يسمح بنمو نوع ويمنع نمو أنواع أخرى.	**MacConkey Agar** يحتوي على أملاح الصفراء التي تمنع نمو البكتيريا موجبة الغرام.
تفريقي(Differential)	يميز بين الأنواع النامية باللون.	**Mannitol Salt Agar** يتغير لونه للأصفر مع بكتيريا معينة.(*Staph aureus*)
النقل(Transport)	للحفاظ على العينة حية أثناء نقلها.	**Stuart Medium** لا يحتوي على مغذيات كافية للنمو، فقط للمحافظة على الحياة.

ملاحظة هامة:

يتم تعقيم معظم هذه الأوساط بعد تحضيرها باستخدام جهاز **الأوتوكلاف (Autoclave)** عند درجة حرارة **121°C** وضغط **15 بار/ انج** لمدة **15-20دقيقة** لضمان خلوها من أي ميكروبات خارجية.

المحاضرة الخامسة: الزراعة النسيجية النباتية Plant Tissue Culture

إن مفهوم زراعة الأنسجة النباتية (plant tssue culture) أو ما يعرف الزراعة خارج الجسم (In vitro culture) الحي يعني زراعة الأنسجة أو الخلايا (cells) أو الأعضاء (organ) أو البروتوبلاست(protoplast) وتنميتها على أوساط غذائية في المختبر وتحت ظروف معقمة ومسيطر عليها وصولا إلى مرحلة النبات الكامل.

أو يمكن تعريفه بأنه استخدام جزء من النبات قد يكون البذرة أو جزء من الجذر أو جزء من الساق أو الأوراق أو المتك أو حبوب اللقاح على بيئة غذائية مصنعة تحتوي على العناصر الغذائية الكبرى والصغرى ومصدر للسكريات وكذلك إضافة منظمات النمو (الاوكسينات والسايتوكاينينات) ومن ثم تحضينها في ظروف صناعية خاصة من درجة حرارة وضوء ورطوبة ويعتبر هذا العلم من المجالات الحديثة .

أما أهم الفضاءات الرئيسية لمختبر زراعة الأنسجة النباتية فهي كالأتي :

مختبر زراعة الأنسجة النباتية يحتاج إلى عدد من الأجهزة والمعدات التي تعتبر ضرورية لاستمرار نجاح هذه التقنية وعموما يتكون المختبر من الأجزاء الآتية:

أولا- غرفة التحضير (غرفة الغسيل ومخزن الأدوات) preparation room

وتسمى بغرفة التحضير لان فيها يتم إجراء جميع التحضيرات اللازمة من تعقيم وتحضير للوسط الغذائي وغيرها حتى يتم الوصول إلى مرحلة الزراعة ومن ثم التحضين ، ويتكون هذا الجزء من الأجهزة التالية :

- الثلاجة refrigerator
- جهاز ال Ph meter
- المعقام Autoclave
- حمام مائي Bath water
- الفرن الكهربائي Oven
- جهاز التقطير distilling apparatus of water
- الميزان الحساس digital balance
- الخلاط المغناطيسي magnetic sterrer
- المجهر الالكتروني electronic microscope
- دولاب لحفظ الكيمياويات والزجاجيات cupboard
- مصدر للماء والغاز والكهرباء
- الملاقط forceps الصغيرة والكبيرة

• الإبر Needles الدقيقة للتشريح الأنسجة النباتية • مشارط Scalpels حادة لتقطيع

• أنابيب أو زجاجيات للزراعة • المنظفات والمطهرات

• القفازات Gloves تستعمل لمنع التلوث عن طريق اليدين أو حماية البشرة من الكيمياويات والمواد الضارة الأخرى.

• غسالة أطباق اوتوماتيكية washing machine

ثانيا- غرفة الزراعة culture room

عملية زراعة الأنسجة النباتية يمكن أن تجري بنجاح إذا كان مكان الزراعة نظيف وخالي من الملوثات ، حيث يشكل التلوث (Contamination) اكبر مشكلة تعاني منها الزراعة النسيجية وهناك العديد من الخطوات التي تتخذ من اجل عدم حصول التلوث والوصول بالعملية الزراعية إلى نهايتها بأحسن حال حتى نضمن نجاح هذه العملية .

ثالثا- غرفة التنمية Growth room

يعتبر هذا الجزء مهما جدا لاكتمال عملية الزراعة بنجاح ، إن جميع أنواع مزارع الأنسجة النباتية تحفظ في مكان يمكن التحكم بداخله في درجة الحرارة والضوء والرطوبة ودورة الهواء لذلك يجب إن يوضع برنامج لدرجات الحرارة والإضاءة على مدار 24 ساعة .

عموما فان درجة الحرارة المثلى لنمو الزروعات هي 25±2 أما درجات الإضاءة وطول الفترة الضوئية فنها تختلف حسب نوع النبات حيث أن بعض النباتات تحتاج إلى كثافة ضوئية عالية من 5-10 كيلولوكس وأحيانا بعض المزارع تتطلب إظلام تام .

أما بالنسبة للرطوبة داخل غرفة النمو فنها تتباين من 20-98% ويمكن التحكم فيها عن طريق أجهزة التحكم في الرطوبة.

أما بالنسبة لأرفف النمو داخل الغرفة قد تكون من الزجاج أو من الخشب وكل رف مزود بوحدة إضاءة مستقلة عن الأخر وأحيانا توضع مروحة صغيرة على احد جوانب الرف حيث يتم تنظيم توزيع الحرارة التي قد تنبعث عند استخدام وحدات الإضاءة.

وعليه يمكن أن نذكر الصفات العامة للحاضنات أو غرفة النمو :

1- درجات الحرارة تتراوح بين 2و40مْ

2- التحكم بدرجة الحرارة يجب أن يكون بمقدار ±5مْ

3- يجب أن تكون ذات أمان بالنسبة للدرجة القصوى والدنيا من الحرارة

4- يجب أن يكون بها مسجل دائم لدرجات الحرارة

5- أن تكون ذات قدرة على البرمجة لمدة 24 ساعة بالنسبة للحرارة والضوء

6- تتحمل أن يوضع بها إضاءة لأكثر من 10،000 لوكس

7- نسبة الرطوبة بها تتراوح بين 20-98%

8- نسبة الرطوبة يمكن التحكم فيها بمقدار ±3مْ

9- أن يكون بها موزع هواء بانتظام

الزراعة النسيجية النباتية هي تقنية علمية تهدف إلى تكاثر النباتات في ظروف معقمة باستخدام أجزاء صغيرة من النبات (نسيج نباتي أو خلية أو قطعة من النبات) وزراعتها في وسط غذائي مناسب يحتوي على العناصر الغذائية والهرمونات النباتية. هذه الطريقة تمكن من إنتاج نباتات خالية من الأمراض وبسرعة أكبر مقارنة بالطرق التقليدية.

خطوات الزراعة النسيجية بالتفصيل

1.اختيار النبات الأم (Donor Plant)

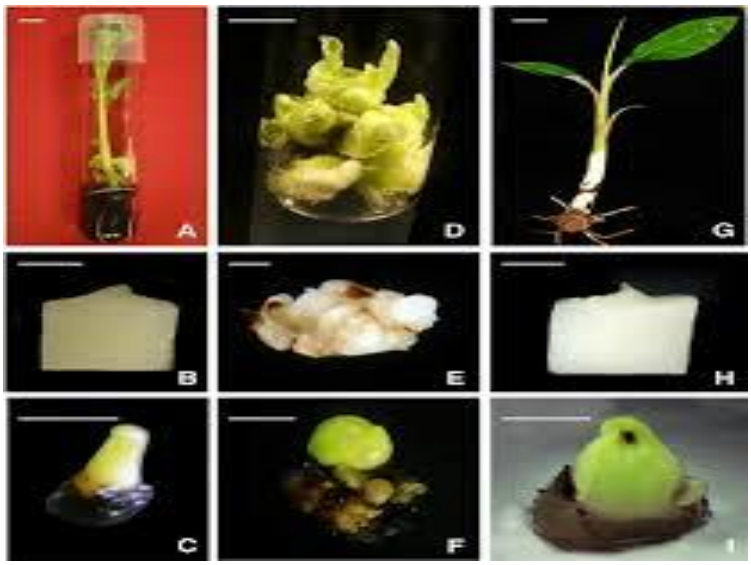
- اختيار نبات سليم وخالٍ من الأمراض.
- يفضل أن يكون النبات في مرحلة نمو نشطة لضمان نشاط الخلايا.
- يمكن استخدام الأوراق، السيقان، الجذور، أو أي نسيج نباتي مناسب.

2. تعقيم النبات

- غسل النبات جيدًا بالماء لإزالة الأتربة والغبار.
- استخدام مطهرات مثل الكلور (NaOCl) أو الإيثانول لتعقيم السطح.
- الهدف: القضاء على البكتيريا والفطريات الموجودة على النبات دون إيذاء الأنسجة الداخلية.

3. أخذ القطع النسيجية(Explants)

- اختيار جزء صغير من النبات المعقم (مثل قطعة من الساق، الورقة أو البراعم).
- قطعها بأدوات معقمة (مشرط أو مقص) تحت ظروف معقمة.
- يجب أن تكون القطع صغيرة لتسهيل امتصاص المواد الغذائية في الوسط.

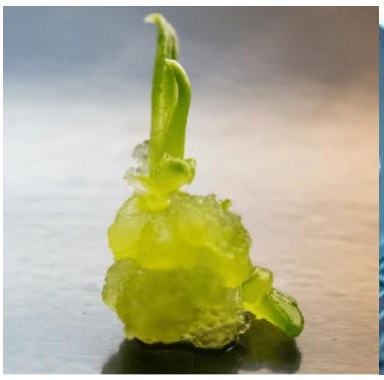


4.زرع القطع في الوسط الغذائي

- الوسط الغذائي يحتوي على:
  - السكريات (كمصدر للطاقة).
  - الأملاح المعدنية (لتغذية الخلايا).
  - الفيتامينات والهرمونات النباتية (مثل الأوكسينات والسيتوكينينات).
- يتم زرع القطع في أنابيب اختبار، أو أوعية بلاستيكية أو زجاجية معقمة.
- الهدف: توفير بيئة مغذية ومحكمة النمو للنسيج.

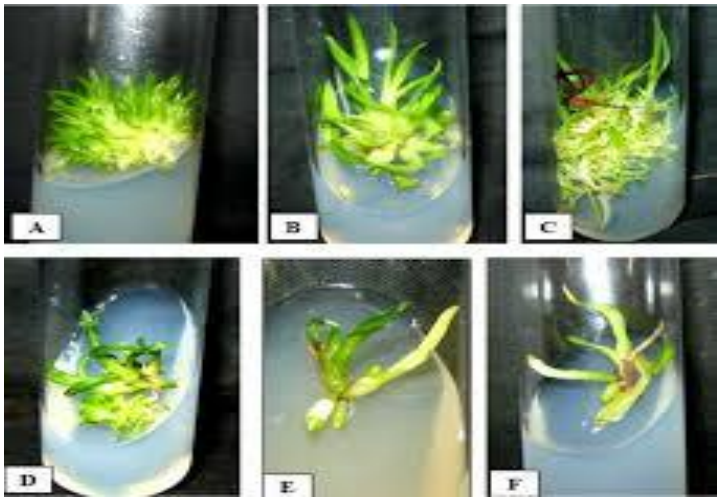
5.تكوين الكالوس(Callus Formation)

- بعد فترة من الزرع، تبدأ الخلايا النباتية في التكاثر غير المتمايز لتكوين كتلة من الأنسجة تسمى **الكالوس**.
- يعتمد تكوين الكالوس على نوع الوسط الغذائي ونسبة الهرمونات النباتية.
- هذه المرحلة أساسية لإنتاج نباتات جديدة من الخلايا.



6. تكوين الشتلات (Shoot and Root Formation)

- بعد تكوين الكالوس، يتم تعديل الوسط الغذائي لتشجيع تكوين البراعم (Shoots) والجذور.
- زيادة نسبة السيتوكينينات تحفز نمو البراعم.
- زيادة نسبة الأوكسينات تحفز نمو الجذور.
- النتيجة: تكون نباتات كاملة يمكن نقلها.



7. مرحلة الاقلمة مع البيئة الخارجية (Acclimatization)

- وهي المرحلة الحرجة حيث تُخرج النباتات من المختبر إلى بيئات خارجية مثل "البيوت البلاستيكية" او تربة معقمة او غيرها تدريجياً
- تهيئة الظروف الملائمة للرطوبة والضوء لتجنب موت النباتات.
- بعد التأقلم، تصبح النباتات جاهزة للزراعة في الحقل أو الأصص.