



مهندس مهتاب موی

کارشناس مجتمع تحقیقات کاربردی و تولید بذر

شرکت توسعه کشت و انبساطی روغنی

کشت بافت گیاهی

کننده‌های رشد گیاهی اثرات مهمی دارد که معمولا بین ۵/۸ - ۵/۴ تنظیم می‌شود. تنظیم کننده های رشد گیاهی نقش ضروری در تعیین مسیر تکاملی سلول و بافت گیاهی در محیط کشت دارند. اکسین‌ها، سیتوکنین‌ها و جیبرلین‌ها عمومی‌ترین تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مورد استفاده در کشت بافت هستند. نوع و مقدار هورمون‌ها عمدتا به گونه گیاهی، بافت یا اندام کشت شده و موضوع آزمایش وابسته است. اکسین‌ها و سیتوکنین‌ها معمول‌ترین تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در کشت بافت گیاهی بوده و میزان آنها باززایی کشت را تعیین می‌کند. غلظت بالای اکسین باعث القای ریشه زایی است، در حالی که غلظت بالای از سیتوکنین باززایی ساقه را سبب می‌شود. تعادلی از اکسین و سیتوکنین منجر به ایجاد توده‌ای از سلول‌های تمایز نیافته به نام کالوس می‌شود (شکل ۱). به طور کلی سیتوکنین تقسیم سلول و القاء تشکیل ساقه و تکثیر جوانه جانبی را افزایش می‌دهد.



شکل ۱. سلول‌های گیاهی تمایز نیافته (کالوس)

کشت بافت گیاهی به عنوان تکنولوژی نوظهور، از طریق ارائه گیاهان مورد نیاز، حتی با افزایش تقاضای جهانی تاثیر زیادی بر کشاورزی و صنعت داشته است. در سال های اخیر کشت بافت سهم قابل توجهی در پیشرفت علوم کشاورزی داشته و امروزه ابزاری ضروری در کشاورزی مدرن می‌باشد. از طریق کشت بافت، تولید و تکثیر مواد گیاهی خالص از نظر ژنتیکی و عاری از بیماری فراهم می‌شود. کشت درون شیشه‌ای سلول و بافت، ابزار مفیدی برای القاء تنوع سوماکلونال (تنوع حاصل از جهش‌های درون محیط کشت) است. تنوع ژنتیکی ناشی از کشت بافت می‌تواند به عنوان منبعی از تنوع برای به دست آوردن ارقام جدید پایدار استفاده شود. از طریق کشت بافت جنین بالغ و یا نابالغ، گیاهان سالم از تلاقی‌های بین جنسی بدست می‌آید. در کشت درون شیشه‌ای، سلول، بافت و اندام گیاهی در شرایط کاملا استریل و کنترل شده رشد داده می‌شوند. محیط کشت بافت شامل تمام مواد مغذی مورد نیاز برای رشد و نمو طبیعی گیاهان است. که عمدتا متشکل از درشت مغذی، ریزمغذی، ویتامین‌ها، دیگر اجزای آلی، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، منبع کربن و برخی از عوامل منعقد کننده برای محیط جامد است. محیط کشت موراشیک و اسکوک (محیط Ms) رایج‌ترین محیط برای تکثیر رویشی بسیاری از گونه‌های گیاهی در شرایط آزمایشگاهی است. همچنین pH محیط کشت در رشد گیاهان و فعالیت تنظیم

مرحله سوم: مرحله تشکیل ریشه

مرحله ریشه دهی ممکن است در همان محیط کشت تکثیر، اتفاق بیفتد. با این حال، در برخی موارد لازم است محیط تغییر کند که از آن جمله تغییر مواد غذایی و ترکیب تنظیم کننده رشد برای القا ریشه و نمو رشد قوی ریشه می باشد.



شکل ۲. ریشه‌دهی گیاه درون شیشه

مرحله چهارم: سازگاری

در این مرحله، گیاهان رشد یافته در شرایط درون شیشه‌ای از محیط کشت جدا شده و برای قرار گرفتن در شرایط غیر آزمایشگاهی سازگار می‌شوند. سازگاری به تدریج از رطوبت بالا به کم و از شدت نور کم به شدت نور بالا انجام می‌شود. سپس گیاهان به بستر مناسب (شن و ماسه، کمپوست، کود و ...) منتقل و به تدریج تحت شرایط گلخانه ای سازگار می‌شوند.

یکی از تکنیک‌های کاربردی کشت بافت ریز ازدیادی بوده که با انتخاب بافت‌های گیاهی (ریز نمونه) از گیاه مادری سالم و با بنیه شروع می‌شود. هر بخش از گیاه (برگ، مریستم انتهایی، جوانه و ریشه) می‌تواند به عنوان ریز نمونه استفاده شود.

مرحله صفر: آماده سازی گیاهی دهنده

هر بافت گیاه را می‌توان در شرایط درون شیشه‌ای (in vitro) کشت کرد. برای افزایش احتمال موفقیت می‌بایست گیاه مادری در شرایط بهینه کشت شود.

مرحله اول: مرحله شروع

در این مرحله ریز نمونه ضد عفونی سطحی شده و به مواد مغذی منتقل می‌شود. همچنین مصرف ترکیبی از باکتری‌کش و قارچ‌کش پیشنهاد شده است. انتخاب آن به نوع ریز نمونه بستگی دارد. ضد عفونی سطحی ریز نمونه در محلول‌های شیمیایی، مرحله مهم برای حذف آلودگی‌ها با حداقل آسیب به سلولهای گیاهی است. رایج‌ترین مواد ضد عفونی کننده هیپوکلریت سدیم، هیپوکلریت کلسیم، اتانول و کلرید جیوه می‌باشند. کشت‌ها در اتاق رشد در شرایط روشنائی یا تاریکی در انکوباتور قرار داده می‌شوند.

مرحله دوم: مرحله تکثیر

هدف از این مرحله افزایش تعداد جوانه است که تا زمان دستیابی به تعداد گیاه مورد نظر با تکرار واکشت تکثیر صورت می‌گیرد.

منبع:

Hussain, A., Ahmed, I., Nazir, H., & Ullah, I. (2012). Plant tissue culture: Current status and opportunities. Recent advances in plant in vitro culture, 1-28.