



هر یک از سلول‌های تمایز نیافته توانایی تبدیل شدن به گیاه کامل را دارند.



رشد بافت های زنده گیاهی در محیط کشت مناسب (محیط کشت مصنوعی)

سلول یا بافت گیاهی در یک محیط غذایی مصنوعی (*in vitro*) کشت داده می شوند تا از قطعات بافت یا سلول های جدا شده گیاهان کاملاً ایجاد شود.



اهداف اصلی کشت بافت گیاهان

- تولید سریع و تعداد بالا از گیاهانی که دارای ژنوتیپ یکسان هستند.
- ایجاد گیاهان تراریخت و انتقال ژن
- کشت بافت گیاهانی که با روش‌های مرسوم به آسانی تکثیر نمی‌شوند.
- تولید گیاهان عاری از بیماری
- امکان تولید ارقام (ژنوتیپ‌های) جدید
- تسهیل و امکان جوانه‌زنی در بذوری که در محیط خارج از آزمایشگاه امکان جوانه‌زنی ندارند.
- تولید پایه و گیاه در تمام فصول
- صرفه‌جویی در مصرف نهاده‌ها

توتی پتانسی

تمايززدایی

تمايز مجدد

اکسپلنت

کالوس



استریل نمودن



امکانات

محیط کشت



یک نمونه اتوکلاو



یک نمونه اتاق تهیه محیط کشت با دو دستگاه لامینار



بشر



ارلن



فالکون



پتری دیش

مواد تشکیل دهنده محیط کشت

نیاز اولیه سلول‌های گیاهی به عناصر غذایی با گیاه کامل شباهت زیادی دارد. به طور کلی، محیط‌های کشت بافت گیاهی از مواد زیر تشکیل یافته‌اند:

- عناصر پر مصرف (C, H, O, N, P, K, Ca, Mg, S)
- عناصر کم مصرف (Fe, Mn, Zn, B, Cu, Mo, CL)
- ویتامین‌ها
- قندها (ساکارز، گلوکز، فروکتوز و...)
- تنظیم‌کننده‌های رشد (هورمون‌ها)
- اسیدهای آمینه و دیگر مواد نیتروژن دار
- مواد جامدکننده محیط کشت (آگار، ژل رایت، فیتاژل و...)
- زغال فعال (اکتیو) برای جذب مواد سمی تولید شده توسط ریزنمونه‌ها و تنظیم PH و... .

انواع کشت بافت در شرایط درون شیشه‌ای

انواع کشت بافت در شرایط درون شیشه‌ای عبارت‌اند از:

۱ کشت سلول: برای کاشت سلول‌های منفرد در محیط‌های مایع (بدون آگار)، باید از ظرف‌هایی استفاده شود که امکان تکان خوردن برای تهویه داشته باشند، کشت سلولی می‌گویند. (در داخل محیط‌های مایع ممکن است هوا به اندازه کافی وجود نداشته باشد)

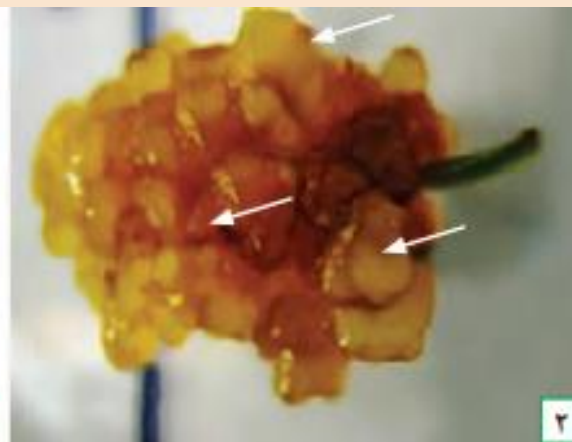
۲ کشت پروتوپلاست: در اثر هضم دیواره سلول توسط آنزیم‌هایی مانند پکتیناز و سلولاز پروتوپلاست قابل کشت به دست می‌آید. از کشت پروتوپلاست برای ایجاد تغییرات ژنتیکی و هیبریداسیون سلولی استفاده می‌شود.

۳ کشت گرده و تخمک: هدف از کشت بساک یا گرده تولید گیاهان هاپلوئیدی (n کروموزومی) است. تعداد کروموزوم این گیاهان را می‌توان با استفاده از ماده‌ای به نام کلشی‌سین به صورت دابل ($2n$ کروموزومی) در آورد.

۴ کشت تک جوانه: در این روش یک جوانه را به همراه قسمتی از شاخه جدا نموده و به منظور تشکیل ساقه از طریق نمو جوانه در محیط کشت قرار می‌دهند. این روش طبیعی‌ترین روش تکثیر رویشی می‌باشد.

۵ کشت رأس شاخه: رأس شاخه، همراه مریستم انتهایی ساقه و برگ‌های مجاور است. از این روش برای تکثیر در سطح وسیع استفاده می‌شود.

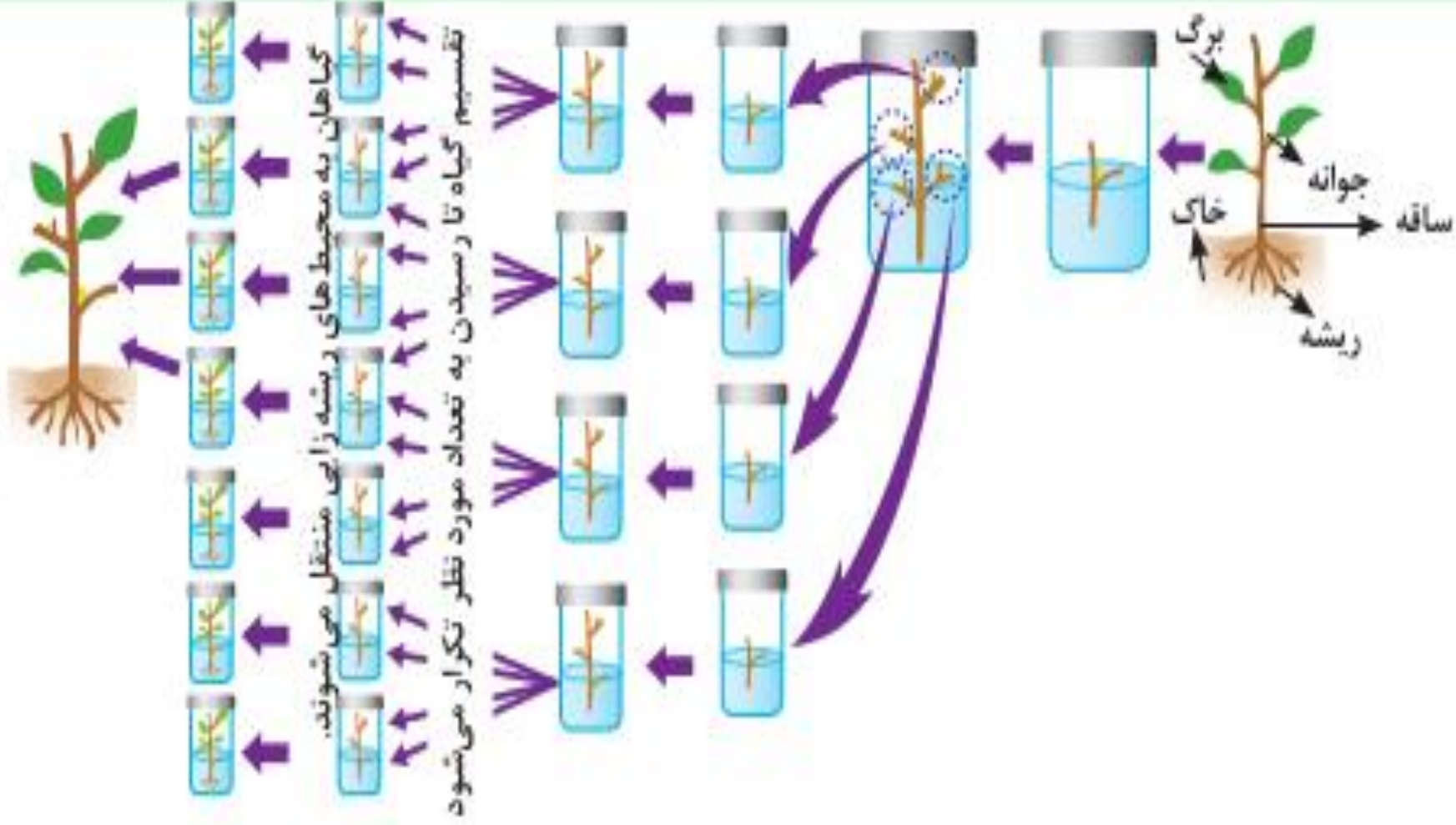




مراحل تکثیر

- ۱ تهیه کشت‌های استریل (استقرار):** در این مرحله باید تعداد مناسبی ریز نمونه تهیه و با روش‌هایی که قبلاً توضیح داده شد ضدعفونی کرده و سپس ریز نمونه‌ها را بر روی محیط کشت، استریل قرار داد تا شروع به رشد کنند.
- ۲ تولید و تکثیر گیاهچه:** در این مرحله هورمون‌های سیتوکنین به محیط کشت افزوده می‌شود تا از جوانه‌های جانبی شاخه، یا از شاخساره برگ، به میزان زیادی تولید شود. جهت افزایش تولید گیاه در این مرحله می‌توان نمونه‌ها را چندین مرتبه واگشت نمود.
- ۳ ریشه‌زایی در شرایط درون شیشه‌ای:** گیاهچه‌های حاصل از مرحله قبل به محیط حاوی اکسین منتقل می‌شوند تا ریشه تولید کنند.
- ۴ سازگاری:** گیاهچه‌های ریشه‌دار شده از محیط کشت خارج شده و آگار آنها به آرامی شسته می‌شود و به داخل گلدان منتقل می‌شوند. این گیاهچه‌ها برای سازگاری باید مدتی را در گلخانه‌های با رطوبت بالا سپری کنند.

گیاه آماده انتقال به خاک



کشت دانه گرده

- این روش باعث ایجاد گیاهان هاپلوئید می شود دانشمندان با تیمار گیاهان با محلول کلشی سین باعث دو برابر شدن کروموزم ها و تولید گیاهان دیپلوئید هموزیگوت می شوند.
- گیاهان هاپلوئید به دلیل اینکه تنها یک دسته کروموزم دارند و در نتیجه حتی موتاسیونهای مغلوب در آنها تظاهر فنوتیپی ندارد اهمیت دارند.
- یکی از مهمترین دلایل استفاده از تکنیک های درون شیشه ای برای تولید گیاهان هاپلوئید، صرفه جویی در مدت زمان جهت تولید و آزاد سازی ارقام جدید می باشد.

کشت دانه گرده

- گیاهان حاصل از کشت دانه گرده را می توان از نظر خصوصیات مطلوب گزینش نمود و بدون اینکه نیازی به ۳-۵ نسل برای هموزیگوس کردن آنها لازم باشد، آنها را به عنوان والدین هیبرید استفاده کرد.
- عوامل متعددی در موفقیت کشت دانه گرده موثرند: وضعیت فیزیکی گیاه و ژنوتیپ از فاکتور های مهم هستند.
- معمولا بساک گل‌هایی که زودتر از همه تشکیل می شود به کشت بساک پاسخ بیشتری می دهد.
- گیاهان حاصل از کشت دانه گرده دارای مزایای چندی می باشند. مثلا خلوص بالا و ثبات توارثی و تطابق خوب بین ژنوتیپ و فنوتیپ.