ومن أهم الأنواع الخشبية التى نجح فيها تجديد النمو من مزارع البروتوبلاست ما يلى (عن Bajaj ١٩٨٩):

Citrus spp.
Santalum album
Pyrus communis
Ulmus spp.
Populus tremula
Liriodendendron tulipifera

أهمية مزارع البروتوبلاست

يستفاد من مزارع البروتوبلاست فى النواحى التالية:

١ — تعد مزارع البروتوبلاست أفضل من مزارع الخلايا الكاملة، ويجب استعمالها كبداية فى عمليات الإكثار وعزل السلالات الطفرية.

٢ — دمج بروتوبلاست الأنواع النباتية البعيدة عن بعضها معًا، وهو ما يعد وسيلة فعّالة لإجراء التهجينات البعيدة.

٣ — إدخال تراكيب مجهرية حية أو غير حية فى الخلايا النباتية، ويستفاد من ذلك فى دراسات الهندسة الوراثية.

٤ — إجراء الدراسات الفسيولوجية الخاصة بتمثيل الجدار الخلوى وخصائص الغشاء البلازمى.

٥ — إحداث الإصابة بالفيروسات بإدخالها فى البروتوبلاست مباشرة.

٦ — زراعة كلوروبلاستيدات نباتات عالية الكفاءة فى عملية البناء الضوئى فى بروتوبلاست نباتات منخفضة الكفاءة، ونقل الصفات المرتبطة بالكلوروبلاستيدات (مثل المقاومة لمبيد الحشائش اترازين atrazine فى اللفت) من نوع إلى آخر.

٧ — إدخال صفة العقم الذكرى السيتوبلازمى فى النباتات (Vasil ١٩٧٦). (أمكن — على سبيل المثال — إدخال صفة العقم الذكرى السيتوبلازمى بواسطة مزارع البروتوبلاست من النوع *Nicotiana tabacum* إلى *N. Sylvestris*، ومن *Petunia hybrida* إلى *P. Axillaris*؛ عن Sink ١٩٨٤).

٨ – الحصول على تباينات وراثية يمكن الاستفادة منها فى تحسين النباتات، خاصة الأنواع العقيمة منها التى لا تنتج بذورا. (أمكن فى البطاطس – على سبيل المثال – تجديد نمو أكثر من ١٠٠٠ سلالة clone من بروتوبلاست الميزوفيل للصنف رصت بيربانك Russet Burbank أظهرت مدى واسعًا من التباين فى شكل الدرنة، ولون الجلد، والمحصول، وغيرها من الصفات. ومن بين ٨٠٠ سلاله تم اختبارها انتخبت ٢٠ سلالة أظهرت مقاومة للفطر *Phytophthora infestans*. وقد تك مل هذه التباينات الوراثية المتحصل عليها من مزارع البروتوبلاست فى دراسات اجريت على أصناف أخرى من البطاطس، مثل: Fortyfold، و Bintje، و Majestic، عن Bajaj (١٩٨٩

وتعد مزارع البروتوبلاست المتحصل عليها من نباتات أحادية أكثر فائدة من م ارع الكالس الأحادى نظرا لثباتها الوراثى مقارنة بمزارع الكالس، ولأن كل بروتوب ت مُطفر يمكن أن يعطى نباتًا أحاديًا.

كذلك يمكن التعامل مع مزارع البروتوبلاست الأحادية كما لو كانت مزارع ميكروبية، حيث يمكن زراعتها فى أطباق بترى وتعريضها بأعداد كبيرة لمختلف العوامل المطفرة.

ولقد أمكن الحصول على طفرات متعددة فى مزارع البروتوبلاست الأحادى لعديد من الأنواع النباتية سواء أكانت لبروتوبلاستات الميزوفيل (كما فى النفت، والبيتونيا، والتبغ، والبطاطس)، أم لبروتوبلاست الكالس (كما فى الأرز القمح)، أم لبروتوبلاستات وحدات اللقاح الرباعية pollen tetrad protoplasts (كما فى الزمير، والتبغ، و لبيتونيه، والقمح)، أم فى بروتوبلاست حبوب اللقاح (كما فى التبغ، والبيتونيا، والقمح) (عن Bajaj ١٩٩٠)

هذا .. ويمكن حفظ مزارع البروتوبلاست فى النيتروجين السائل على -١٩٦م، ثم تجديد نموها بصورة عادية، ولا يختلف ذلك عما يحدث بالنسبة لمزارع معلقات الخلايا، إلاّ أن غياب الجدار الخلوى والروابط البروتوبلازمية plasmodesmata يجعل البروتوبلاست أكثر حساسية للتفجر bursting، الأمر الذى يتطلب إعطاء الأمر عناية أكبر – مقارنة بمزارع معلقات الخلايا – فيما يتعلق بكل من الضغط الإسموزى،

والحماية من الحراره الشديده الانخفاض بالاختيار المناسب لكل من الـ osmoticum، والـ cryoprotectant

إندماج البروتوبلاست وإنتاج الهجن الجسمية

مقدمة

يحدث إندماج للبروتوبلاست Protoplasm Fusion بصورة تلقائية وطبيعيه فى مزارع البروتوبلاست المجهزة من خلايا نشطة فى الأنقسام ويحدث الإندماج باتساع الأغشية البروتوبلازمية المتجاورة والتحام الروابط البلازمية بينها، لتتكون بذلك وحدات بروتوبلازمية جديدة بكل منها من ٢-٤٠ نواة ويمكن تقليل حالات إندماج البروتوبلاست بوضع الخلايا المستخدمة فى إعداد مزارع البروتوبلاست فى سائل ذى ضغط إسموزى مرتفع، لبلزمتها بغرض قطع الروابط البروتوبلازمية

أما انتاج الهجن الجسميه somatic hybrids فيتطلب اندماج بروتوبلاست الأنواع التى يراد تهجينها. ويستلزم ذلك توفر عامل، أو وسيلة مناسبة لتحقيق الاندماج (fusogen) وقد جربت لذلك معاملات كثيرة أثبت بعضها نجاحا كبيرا فى تحفيز اندماج بروتوبلازم الأنواع البعيدة، مثل معاملات نترات الصوديوم، والـ pH المرتفع، والتركيز المرتفع لأيون الكالسيوم، والبوليثيلين جليكول، والمعاملة بتيار كهربائى ذى فولت مرتفع لفترة قصيرة .. إلخ

ويحدث اندماج البروتوبلاست بالطريقة المبينة فى شكل (٤-٣)، وينتج عنه إنتاج بروتوبلاست ذى نواتين مختلفتين Binucleate Heterokaryon يعقب الاندماج اختلاط بروتوبلاست الأنواع المندمجة خلال ساعات قليله، وتكون جدارًا خلويًا حول البروتوبلاست المندمج، ثم تدخل الخلية الهجين فى انقسامات ينشأ عنها تكون هجين جسمى Somatic Hybrid، وقد تنقسم كل نواة فى البروتوبلاست ذى النواتين منفصلة عن الأخرى، دون أن تشترك كروموسوماتها معا فى خيوط مغزل واحد، وتنشا عن ذلك حالات من الكيميرا. وقد تستمر الخلايا ذات النواتين المختلفتين فى إنتاج خلايا مماثله لعدة أجيال، دون أن تندمج النواتان معا وقد يحدث اندماج للنواتين فى الطور البينى