# الفصل الحادى عشر
# مزارع الأنسجة فى الأشجار الخشبية

**مقدمة :**

التكاثر الدقيق Mincro propagation ... هو التكاثر الذى يتبع فيه اكثار النباتات فى بيئات صناعية in vitro باستخدام اعضاء تكاثريه دقيقه قد تكون اجزاء نباتية مرستيميه أو البراعم أوخلايا فردية من الكاللس أو من جميطات مذكره microspores أو من جاميطات مؤنثه megagmeto phyte أو بالزيجوت وغيرها من الأعضاءالصغيره.

واصطلاح مزراع الانسجه Tissue cultureيطلق على عملية زراعة أوتنمية الاجزاء السالفة الذكر للحصول على نباتات بصورة مستمرة وذلك in vitro ولقد عرف Street 1974 مزارع الانسجة أو زراعة الكاللس بانها عملية تنمية للاجزاء الابويه لحدوث انقسامات وامتداد للبروتوبلازم.

## اهداف مزارع الانسجة

هناك اهداف عديده من مزارع الانسجة نذكر منها:

١ – انتاج المستحضرات الطبية أو المواد الطبيعية.

٢ – التحسين الوراثى للمحاصيل النباتيه.

٣ – الحصول على سلالات نقية خالية من الامراض أوالمسببات المرضيه وكذلك الحفاظ على بلازما الجراثيم ذات الاهمية الاقتصادية العاليه.

٤ – الحصول على نمو سريع لسلالات الاصناف المنتقاه.

وانتاج الكاللس ومزارع الخلايا والتحام البروتوبلاس، كلها وسائل تزيد من التحسين المستمر للاشجار ومن العوامل التى تحد من التحسين فى الأشجار الخشبية حيث تكون الفترات بين الأجيال ١٥ – ٢٠ سنه على الأقل. من مميزات مزارع الكاللس، أنها وسيلة سريعة لتكاثر الأشجار التى يصعب فيها تكوين جذور أو تطعيم بالطرق التقلديه فاختيار شتلات Seedlings عمرها ٣–٤ سنوات قوية النمو ذات كفاءة عالية فى

التمثيل الضوئى التى تتكاثر بالطرق الطبيعيه قد تخفض الوقت إلى ٧٥٪ وتكون هى مصدر لاعادة التشجير.

## مميزات استخدم تكتيك in Vitro
## فى التكاثر الدقيق micropragation عن الطرق التقليديه

١ – تستحدم اجزء نباتية صغيره explants، وبعد ذلك يتم اكثار الافرع الصغيره المتكونه منها ومن هنا تسمى micropropagation أى أن المساحه المطلوبة تكون صغيره.

٢ – يتم التكاثر فى ظروف غير ملوثة (معقمه) خاليه من الامراض فلا يحدث فقد فى النباتات وبالتالى تكون خالية من البكتيريا والفطريات والفيروسات.

٣ – يمكن التحكم فى العوامل المؤثرة على التكاثر بمستويات الغذاء ومنظمات النمو والحشرات وبالتالى فإن معدل التكاثر يكون أكثر من macropropagation ويمكن بذلك انتخاب اصناف سريعة النمو وباعداد اكثر فى فترة قصيرة.

٤ – انتخاب سلالات الاصناف بطيئه النمو أو صعبه التكاثر فى فتره قصيره.

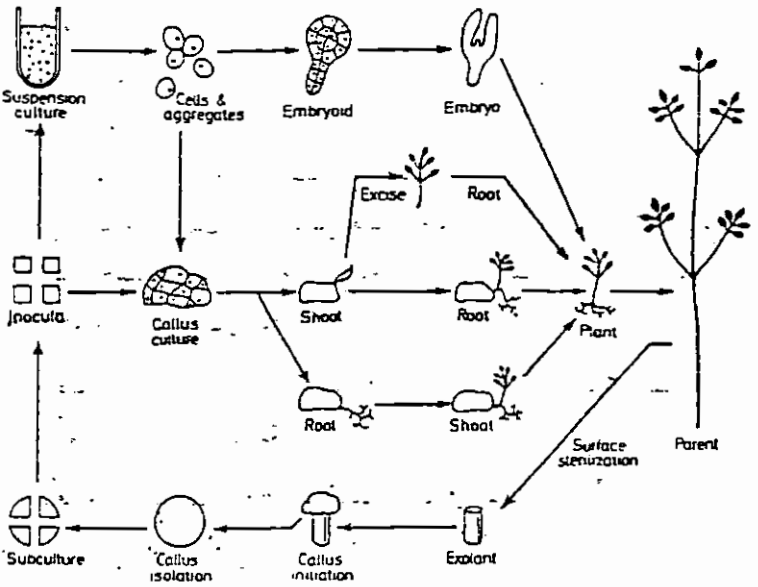
٥ – الانتاج يكون مستمرً على مدار السنه دون الاعتماد على التغيرات الموسميه.

٦ – يمكن تخزين المواد التكاثرية الخضريه لفتره طويله.

٧ – تحتاج لحيز مدفئ صغير داخل الصوبة الزجاجية لاستمرار التكاثر.

٨ – لاتحتاج لعناية عند لنقل من Subculture مزرعه لأخرى وبالتالى لا تحتاج إلى مواد للرى أو لازالة لحشائش أو رش.

ولكن نجدَ أن عيب إستخدام هذا التكنيك، هو احتياجه إلى مهارة عمليه عاليه ويحتاج إلى تمويل وكذلك إلى عناية فى الفترة الانتقالية قبل زراعتها فى البيئه الصبيعيه. وتكون النباتات اكثر حساسيه لنقص الماء وقد تتطلب تقسيه. ويخشى من انتاج نباتات شاذه aberrantوراثيا وقد يزداد حدوث ذلك فى بعض الأحيان.




Regeneration of trees from somatic callus or suspension cultures. (Drawing courtesy of Mr. Steve Newcombe)

**شكل رقم (٨٩)**

## التكاثر In Vitro

الطرق المستخدمه فى التكاثر فى بيئات صناعيه عديده ونذكر منها:

I: التكاثر بواسطة البراعم الأبطيه axillary buds

II: بواسطة تكوين:

١- أفرع متقدمه (تنمو بصورة غير طبيعية) Adventitious shoots أو/ ٢- اجنه خضريه Adventitous somatic (جسميه) embryos أما:

أ- مباشرة: باخذ اجزء من الانسجة أو الاعضاء النباتيه explants أزيلت من النبات الام.

ب- غير مبشارة: (شكل رقم ٨٩)

A: فى حالة الكاللس الغير متكشف الاعضاء.

B: من انسجة يتكشف فيها لكاللس بصورة متوسطة أو اجسام تكاثريه والتى يمكن الحصول عليها من اجزاء نباتيه كامله متخصصه مثل البروتوكروم Protocorm والأبصال الكاذبه Pseud bulbils.

ومعظم الطرق التطبيقية المستخدمة فى التكاثر الدقيق تتم حاليا بالطريقة Iوهناك أنواع قليلة تتم بالطريقة II(1.2)

والأفرع أو النباتات Plantletsلاتنشأ دائماً فى البيئة بطريقه واحدة فمثلاً نجد أن مزارع قمة الافرع Shoot tip culture بالاضافة إلى الافرع الممتده Adventitious shoots تكون مباشره على الاوراق الموجوده أو السيقان أو تتكون بصورة غير مبشرة من خلال الكاللس الموجود فى قاعدة الجزء النباتى.

## مراحل الاكثار الدقيق

## STAGES OF MICROPROPAGATION

Murashige (1978) عرف ثلاث مراحل للاكثار الدقيق in vitro لقد تم تعديل بسيط لهذه المراحل بواسطة الباحثين أو معامل مزارع الانسجة لأنه لا يتم وصف الخطوات التنفيذيه فى عمليات التكاثر الدقيق لكنهم قدمو نقاطا تتمشى مع النبات عند تغيير الظروف المحيطة، وعموما فإن احتيجات كل مرحله تختلف عن الاخرى معمليا. فبعض العاملين اعتبروا تحضير النباتات الاصل stockوتقسيمها مرحله من المراحل، 'ذا اقترحت هذه المرحلة بواسطة Debergh and Maene, 1981وسميت بالمرحله (ϕ).

### المرحله (ϕ)

### انتخاب وتحضير النباتات الأم:

قل تنفيذ عمليات الاكثار لابد من أن يعنى باختيار النباتات الأم وتطابقها لصنف وخلوها من الامراض، وقد يتم معاملة جزء من النبات أو كل النبات. ويمكن زيادة معدل النجاح من خلال بعض المعاملات للنباتات الام باستعمال بعض المواد الكيماويه لاحداث خفض أو ازاله للامراض الفيرسيه.

المرحـله (I)

**التنمية داخل بيئة معقمه**

فى الخطوة الأولى لعمليات الاكثار. لابد من تجهيز مزرعه نقيه معقمه aseptic culure من الأجزاء النباتيه. ونجاح هذه العمليه يتطلب بالضرورة أولا نقل الأجزاء النباتيه بحرص وثانيا أن يكون هناك استجابة للاجزاء النباتيه بالبيئه متمثله فى نمو أطراف الافرع أو تكوين الكاللس من الاجزاء النباتيه ويمكن الحكم على نجاح هذه العمليه من خلال بقاء عدد كافى من النباتات على حيوتها دون أى تلوث من البيئه.

المرحله (II)

**انتاج نواتج الاكثار Propagulesالمناسبه**

الهدف من المرحله هو احداث اكثار [تعدد الاعضاد أو التركيبات التى تكون قادرة على انتاج نباتات جديده وذلك بتكوين أفرع أخرى على الافرع الناشئه من قبل فى للجزء النباتى] أو انتاج أجنه. وفى بعض الطرق المتبعه فى المرحله II قد تجرى عملية حث أو تنشيط للمناطق المرستيميه والتى ينشأ عنها الأعضاء المتقدمة والافرع المتكونة فى المرحلة II يمكن اعتبارها Propagules أى الأفرع التى يمكن أن تتكاثر أو تتعدد ويمكن زراعتها مرة أخرى لزيادة عددها.

المرحلة (III)

**تهيأة النباتات المتكونه للنمو فى الينه الطبيعية**

الافرع Shoots أوالنبتات Plantlets المأخوذه من المرحله II تكون صغيره جداً ولاتكون آنذاك قادرة على النمو بنفسها فى التربة وفى هذه المرحله III تؤخذ النباتات وتنمى بصورة فردية خاصة التى لها قدره على التمثيل الضوئى منها وتبقى حية بدون اضافة أى مصدر كربوايدراتى صناعى. بعض النباتات قد تحتاج إلى المعامله فى هذه المرحله حتى لاتصير متقزمه أو كامنه عند نقلها من بيئة المزرعة. وكما ذكر Murashige أن المرحلة III تشمل تكوين الجذور فى المزرعة قبل عملية نقلها إلى التربة فإنه يستلزم استطالة الافرع قبل أن تكون جاهزه للتجذير Rooting ثم استخدام بيئات خاصه لحث الجذور على التكوين ويتم التجذير فى أوعيه خاصه. وعموما فإن Maene& Debergh يميلا لتقسيم هذه المرحله إلى مرحلتين هما $III_a$ $III_b$ فى حالة

المرحله $III_a$ يحدث استطالة أو تفتح البراعم المتكونة خلال المرحلة II إلى أفرع مرئية للمرحله الثانيه (IIIb) وفى المرحله $III_b$ يتم تجذير أفرع المرحله $III_a$ فى المزرعه المعمليه invitro فى خارج المعمل extra vitrum.

المرحله IV.

### نقل النباتات إلى الجو الخارجى (الطبيعى)

### Transfer to the natural environment

لم يعط Murashige هذه المرحلة رقماً برغم ما تحمله من اهميه. حيث يتم نقل النباتات in virro إلى extra vitrum وإذا لم يعتنى بهذه العملية لحدثت خسائر كبيره لسببين:

أ- الأفرع المتكونة فى المزرعة تنتج فى ظروف رطوبة عاليه واضاءه منخفضه وهذا ينتج عن انخفاض الشمع الموجود على بشرة الأوراق عن النباتات الناميه فى غرف النمو أو الصوب الخشبيه ولهذا فإن النباتات المزروعه بالانسجه تفقد هذا الماء بسهولة عند تعرضها للظروف الخارجية (Laughaus, 1971, Sutter, 1980).

ب- عندما يتم اضافة السكروز (أو بعض الكربوايدرات الأخرى) وتحفظ فى ظروف منخفضه الاضاءه فإن النباتات لا يمكنها أن تقوم بالتمثيل الضوئى والنباتات تحتاج لفتره من عدة أيام لكى تكون قادرة على انتاج المصادر الكربونيه وخفض النتروجين. أى قبل أن تصبح قادرة على تغذية نفسها بنفسها (autotrophic).

### تكاثر النباتات من الأفرع النباتية

### PROPAGATION OF PLANTS FROM AXILARY SHOOTS

انتاج النباتات من الافرع الجانبيه axillary shoots تعتبر هذه الطريقه من الطرق الأكثر شيوعاً ومناسبه للتكاثر المعملى In vitro وهناك طريقتين متبعتين.

١- مزرعة الافرع Shoot tib culture

٢- مزرعة العقد الفرديه Single node cult.

وكلاهما يعتمد على تنشيط نمو الافرع وذلك بالتغلب على أو كسر الكمون فى المرستيم القمى apical meristem

**shoot tib culture**

تعتبر هـذه الطـريقه اكثر شـيوعا على نطاق طـرق التكاثر الدقيـق التجـارى Commertial micropropagation

والاجزاء المأخوذه أما تكون قمم الافرع الرئيسية (تزيد فى الطول عن ٢٠ م) ويتم اضافة منظمات النمو (عادة يكون سيتوكينين) لتنشيط الافرع وينتج عن ذلك تكوين افرع كثيره على الافرع الرئيسيه.

والهـدف من هذه المزراع هو الحصـول على نبـتـات Plantletsفردية خالية من الفيروس واستخدم افرع طويله نسبيا يكن لها مميزات عن الاجزاء الأصغر حيث انها تكون أكثر حيوية عند نقلها إلى ظروف المزرعة in vitro وتكون اسرع نمواً كما أنها تكون الكثير من البراعم الهوائية. ولكن يعيبها صعوبة عملية التعقيم وتفادى حدوث أى تلوث.

كان Robbirr, 1922 هو أول من قام بزراعة قمم الافرع بنجاح فى بيئة معقمه من الأجار ولكن كانت المشكلة فى عدم توافر الهرمونات والسيتوكينينات اللازمة لاستمرر الفرع فى النمو.

ويرجع الفصل لـLoo& Ball, 1947 فى تجذير rooting لأفرع النامية فى مزرعة قمم الافرع.

**الطـــرق:**

**الاجزء النباتية الأولية:** Primary explants

فى معظم النباتات العشبية تؤخذ الاجزاء النباتيه من البراعم القميه والجانبيه المحتويه على مرستيم قمى التى تعطى بعد ذلك الافرع والاوراق. وفى بعض الأحيان فى الكافور هناك ميزه لاستخدام مزرعه بجزء من ساق النبات الأم به برعم فردى (به عقده واحدة) وعادة يتم وضع الاجزاء النباتيه المأخوذه من اطراف الافرع فى بيئه نصف صلبه وتؤخذ الاجزاء النباتيه من أفرع شابة أو من النموات الحديثة فى قاعدة الاشجار الناشئه أو التى تنشأ بعد التقليم الجائر أو النتائجة عن الحجم Coppice وقد استطاع De Fossard et al ... 1977 زراعـة أطرف أفـرع مـأخـوذه من اشـجـار عـمـرها ٣٦ سنه وقـد استطاع Ahuon, 1984 أخذ أفرع تحتوى على براعم من أشجار عمرها ٧٠ سنه من ٣

أنواع من الزان. كذلك حصل Troicoli, 1985 على بادرات باستخدم أفرع من اشجار عمرها ٥٠ سنة ويبدو أن استخدام المادتين quercetin, Rutin قد شجعت من انتاج وتكوين الجذور.

وقد وجودوا Bekkami et al, 1983 أن استخدام أجزاء نباتيه من اشجار عمرها ٨٠ سنة من السيكوايا Sequaia sempervirens كانت أفضل كثيراً عن مثيلهما من اشجار عمرها ٥٠٠ سنه والاجزاء النباتيه المأخوذه من النباتات يكون من الصعب حفظها من التلوث إذا لم تحفظ لبعض الوقت قبل قطع اجزاء منها.

## الاجزاء النباتية الثانوية Secondary Explants

يتم نقل الاجزاء الطرفيه المتكونه فى المرحله II، والتى تحتوى على عناقيد من الافرع وعادة ما يتم تقسيمها الى اجزاء ليعاد زراعة تلك الاجزاء فى بيئه مغذيه.

وليس من الضرورى أن تكون هذه النباتات (الافرع) المتكونة مصدرها البراعم أو الأفرع المتكونه. فقد تنشأ غير مباشرة من الكاللس.

ويمكن تحديد منشأ الأفرع المتكونه ميكروسكوبيا ويمكن زيادة عدد الأنواع المتكونة من خلال إضافة منظمات النمو وهى تحتاج إلى سيتوكينينات بمعدلات عالية فى المرحلة II.

وقد لاحظ Nasir & Miles, 1981 أن هناك نسبه من الافرع الجديدة قد نشأت من الكاللس فى قاعدة الجزء النباتى المأخوذ من قمة افرع التفاح.

## Single Node Cuiture

## الترقيد المعملى : In Vitro Layr.ng

وهذا تكنيك آخر من الزراعة المعملية in vitro لاكثار النباتات من البراعم الابطية áxillary buds. وفى هذه الطريقه تنمى اجزاء نباتية من قمة الافرع فى مرحلة I إلى أفرع غير متفرعه تزيد عن ٥–١٠ سم فى الطول بها عدة عقد منفصلهSepa-ated node وبدلاً من أن تحث على تكوين الافرع بمنظمات النمو، فإن واحداً من الطرق التاليه تستخدم فى المرحله II للتغلب على السياده القميه وكسر طور السكن بالبراعم الجانبية كما يلى:

١ – قد توضع الأفرع فى بيئه طازجه فى وضع افقى وهذه الطريقه تستخدم بواسطة Wang, 1977 ويعبر عنها بالترقيد المعملى.

٢ – كل فرع يقطع إلى أجزاء (عقد فرديه) والتى يعاد زراعتها فى البيئه ويتم عزل الاوراق ويتخلص منها.

وفى كلا الطرقتين فإن المرحلة II تكون عبارة عن اجزاء ساقيه تحتوى على براعم جانبيه التى خرجت من براعم كلا الطريقتين يمكن أن تنمى مرة أخرى فى صورة أفرع غير متفرعه لانتاج نباتات أخرى أوتنمى لأفرع مجذره rooted shoots لتنقل بعد ذلك للتربه، والمرحله II يكون خطورة استعمالها أقل من حيث التأثير على الخصائص الوراثيه.

**الاجزاء النباتيه الاوليه Primary Explants**

هى نفسها المستخدمة فى مزرع أطراف الأفرع Shoot tip حيث تكون قمة الأفرع والبراعم الجانبية أو عقد فردية بها برعم عادة ما تكون أكثر من ٢٠ مم خصوصاً إذا كانت خالية من الفيروسات.

والبيئات المستخدمة ومنظمات النمو هى نفسها التى تستخدم فى مزارع قمم الافرع وفى حالة المراحل I,II يستخدم الاوكسجين والسيتوكينين بمعدلات كافية لتشجيع النمو ولكن لا يحدث استطالة أو نمو للبراعم وفى بعض الانواع قد يضاف جامض الجبريليك لاستطالة الافرع ليسهل فصل العقد الفردية.

تستخدم هذه الطريقه على نطاق واسع ومن امثلة النباتات التى تم تنميتها بهذه الطريقه:

١ – الكافور Eucalyptus grandis

Cresswell & Nitsh, 1975

furz & Cresswell 1986

٢ – التيك (Teak) Gutpa et al. 1980

٣ – القسطل Chestunt Vieitez& Vieiez, 1980 b

٤ – السرسوع Dalbergia sissoo Pat & Pramanik, a1983

## أنتاج الأفرع المتعدة من البذور

## Multible Shoots From Seeds

نشرت هذه الطريقه فى عدة مجلات ويتم فيها تعقيم البذرة وتوضع فى بيئه اساسيه تحتوى على سيوكنيين. وعند انبات البذور فإن المزرعة تنتج الافرع الابتدائية أو / والثانوية وقد تستمر فى الانقسام والتعدد لدرجة أن Hisajin 1982 استطاع بالحسابات النظرية أن يحصل على مليون فرع من اللوز almond من بذرة واحدة.

يبدو أن مزرعة .M.s.s انها مستخدمة على نطاق واسع على نباتات مختلفة إذ استخدمت فى محاصيل مختلفة وفى الاشجار تمت على الجوز Walnut (Rodrigues,1982)

والجدول رقم (١٤) يوضح تركيز العناصر المختلفة فى عدة بيئت تستخدم فى مزارع الأنسجة وذلك بالملجرام / لتر .

## مـــزراع الكاللـــس

## CALLUS CULTURE

يتم انتاج الكالللس من اجزاء نباتيه مختلفة ويمكن الحصول عليه من الاوراق أو قاعدة الاوراق أو السوقيه الجنبيه السفلى أو الجذور أو السيقان. وخلايا الكاللس تتكون أما من الكامبيوم أو الخشب العصارى أو من النخاع تتميز هذه الخلايا (برانشميه) بأن جدرها رقيقه تحتوى على فجوه عصاريه كبيره وتحتوى على نسبه منخفضه من النشا وتزداد نسبة النشا عندما تتشكل لاعضاء ويتراكم النشا وتختفى الفجوات ويتراكم لبروتين و RNA بكميات أقل من النشا.

يمكن الإستفادة من الكاللس فى الدراسات الأنزيميه وانتاج وترسيب اللجنين ودراسة تداخل المسبب المرضى مع العائل وانتاج المنتجات الثانوية التى تدخل فى صناعة الادوية علاوة على انه وسيله من وسائل الكثار الخضرى للاشجار المنتقاه.

وخلايا الكاللس تكون الافرع (اى تحول لاعضاء) هذه الافرع إذ قطعت ونميت فى بيئة مغذية لتكونت الجذور ونادراً ما يلاحظ نمو جذوراً على الافرع وهى مازالت متصله بالكاللس (Winton, 1970)

Components of nutrient media in milligrams per liter[a]

| Component | WS Wolter and Skoog, 1966 | MS Murashige and Skoog, 1962 | LS Linsmaier and Skoog, 1965 | BL Brown and Lawrence, 1968 |
|---|---|---|---|---|
| $NH_4NO_3$ | 50 | 1,650 | 1,650 | 1,650 |
| $KNO_3$ | 170 | 1,900 | 1,900 | 1,900 |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 764 | 370 | 370 | 370 |
| $KH_2PO_4$ | - | 170 | 170 | 170 |
| $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ | - | 440 | 440 | 440 |
| $Na_2SO_4$ | 425 | - | - | - |
| $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ | 425 | - | - | - |
| KCl | 140 | - | - | - |
| $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ | 35 | - | - | - |
| $MnSO_4 \cdot H_2O$ | 9 | 22.3 | 22.3 | 16.9* |
| $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ | 3.2 | 8.6 | 8.6 | 10.6* |
| $H_3BO_3$ | 3.2 | 6.2 | 6.2 | 6.2 |
| KI | 1.6 | 0.83 | 0.83 | 0.83 |
| $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ | - | 0.25 | 0.25 | 0.25 |
| $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ | - | 0.025 | 0.025 | 0.025 |
| $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ | - | 0.025 | 0.025 | 0.025 |
| Fe(EDTA)[b] | 5.6 | 5.6 | 5.6 | 5.6 |
| Nicotinic acid | 0.5 | 0.5 | - * | 0.5 |
| Thiamine · HCl | 0.1 | 0.1 | 0.4* | 0.1 |
| Pyridoxine · HCl | 0.1 | 0.1 | - * | 0.1 |
| Inositol | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Asparagine | - | - | - | 100 * |
| Glycine | - | 2 | - * | - * |
| Sucrose | 20,000 | 30,000 | 30,000 | 30,000 |
| Agar | 10,000 | 10,000 | 10,000 | 8,000 * |

[a] Medium is made with double-distilled water, adjusted to pH 5.8, then autoclaved for 20 min at 130°C and 15 psi.

[b] 5.6 mg/l Fe are contained in 5 ml/l of a stock solution made with 5.57 g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ and 7.45 g $Na_2$-EDTA (disodium ethylenedinitrilotetraacetate) per liter of water.

* Changes from MS medium.

جدول رقم (١٤)

فيما يلى عرض مبسط لبعض نتائج البحوث التى استخدم فيها الكاللس للاكثار الدقيق باستعمال اجزاء نباتيه مختلفه.

**تكوين الكللس من الشتلات:**

**Callus Formation From Seedilings**

قام كل من Yahoaghu & Huhtinen, 1974 بانتاج الكاللس من بادرات الشوح النرويجى والشربين الاوروبى إذ تم أخذ اجزاء نباتية من شتلات من الافرع الغضه إذا أخذت من بعد ٢–٣ م من قاعدة الفرع.

تم تعقيم الاجزاء بالكحول ايثايل ٧٠٪ لمدة ٤–٥ ق. ثم تم غسلها بالماء المعقم وازيل القلف ثم تم تقطيع الافرع لاطوال اقل من م وقطر ٢–٣ م وتم وضعها فى اطباق بترى يحتوى كل منها على بيئه مغذيه Murashing & Skoog, 1962 (Ms) (لاحظ الجدول رقم ١٤) تم تغطية الأطباق بورق رقيق من لـ Parafilm وتم التحضنين على درجة حرة ٢٥°م وكانت البيئه تحتوى على IAA (اندول حمض الخليك) بتركيز ٢٥ ملجم/ لتر وكينين بتركيز ٥, ملجم/ لتر.

والاضاءه كانت Lux 1000-2000 وقد نمت أفرع الشربين عند اضافة ١, ملجم من 2.4-D وقد تكونت جذور ولكن النباتات ماتت. وتعتبر هذه المحاولة هى أول محاولة لانتاج الكاللس بعد Ball, 1950 على أشجار السيكوايا.

**من السرطانات الجذرية Root Sprouts**

قام Winton & Mathes, 1973 باستعمال اجزاء نباتية مأخوذه من الاسبن Aspen من منطقة الجذر بأطوال ١٠ – ١٥ سم وقطر ١ بوصة تم غسلها جيداً ووضعت فى بيئه من الرمل والفيرموكيوليت، ١:١، وبعد ذلك كونت جذور أخرى تم قطعها إلى أطول ٣–٥ سم ووضعت فى قصارى قطرها ٣ بوصه ووضعت فى نفس البيئه إلى أن نمت لاطوال ٢٠–٤٠ سم وكونت بذلك افرع، أزيل من هذه الافرع القمم الطرفيه والاجزاء القاعديه واخذت اجزاء نباتيه بأطول ٥– ١٥ سم. بعد ذلك وضعت فى أطباق بترى تحتوى على بيئه مغذية كانت بيئه WS ولكن بدون الامونيوم .لكنها تحتوى على2.4-D وتم وضع عدد ٥ اجزاء نباتيه بكل طبق وقد عوملت من قبل بـ Sodium hypochlorite 5:6 % أو Tween 20 وفى النهاية قطعت الاجزاء

الى ٢ :٣ سم ووضعت فى الحضان على درجة حرارة ٢٧ْ م وتركت مكشوفة مع وضع إناء يحتوى على ماء للحفاظ على الرطوبه وبعد ٦–٨ أسابيع بدأ الكاللس فى التكوين فى الظلام ولوحظ أن تعرضه للضوء يؤدى لاحمراره وعادة ما يموت فى هذه الحالة إذا لم يضاف له نترات الامونيوم.

أخذ بعد ذلك٣م$^{3}$ من الكاللس المتكون وضع فى بيئه Ws تحتوى على O.O5 mg Benzyamiopurine، ثم وضعت فى الظلام لمدة ٢–٣ أسابيع بعد ذلك تكونت افرع Shoots ثم نقلت Subcultured الى بيئه Winton & skog (Ws)وعلى اضاءه 100-2000 Luxبعد ذلك كونت جذور وقد تم تشجيع تكوينها باضافة TBAفى بيئه Ws . وقد نجح Furze and Cresswell, 1985 فى انتاج نباتات بنسبة ٨٠ :٩٠٪ لاشجار الكافور Eucalyptus nitensمن السرطانات التى تلت عملية الجسم.

**من أفرع عمرها عام من صالدات الاخشاب: One- Year old SHoot of Hardwood**

قام كل من Chalupa & Darzanl, 1973& Chalupa 1974بتنمية كاللس من اشجار الحور فى بيئه Ls. وقد وجد انها افضل كثيراً من بيئه Ws لنمو الكاللس وقد أضيف لها ٢ ملجم/ لتر من NAA+١ ملم / لتر من BAP+ ١٠٠٠ ملم من الارجنتين.

وقد حصل من الاجزاء الساقية على كاللس صلب أبيض عند التنميه فى الظلام وكاللس صل اخضر عند التنميه على اضاءه ١٦ ساعه على 10.000Luxوبعد ٣–٤ اسابيع الكالس المتكون تم نقله إلى بيئه LS ولكن بدون NAA مع اضافة BAPوبعد ١٠ – ١٤ يوماً تكونت أفرع تم قطعها عندما بلغ عمره ٤ – ٨ أسابيع ونقلت إلى بيئه M.S محتوية على ٤ ملجم/ لتر NAAوبدون BAP تكونت الجذور.

وقد حصل Venuer Loo, 1974 على نتائج مشاابهة ولكن باستعمال بيئه MS اضيف لها ٥. ملجم 2.4D وتم تجذيرها فى نفس البيئه باستخدم تركيز ٠١, –٠٥, من NAA أو2.4 D ولكن التركيز العالى من 2.4D (٥, ملج /لتر) أدى إلى عدم تكوين جذور.

وقد حصل Lawa & Satetter, 1972 على نتائج مشابهه أيضا على الحور باستخدام نفس الظروف السابقه.

## من أفرع عمرها عام من المخروطيات

## ONF-YEAR OLD OF CONIFERS

من الشوح النرويجى Norway spruce قاما Chalupa and Durzan, 1973 بتنمية كللس مأخوذ من افرع عمرها عام أما Winton, 1972 فقد استخدم انواع من الدوجلاسفير والصنوبر من اشجار عمرها ٦ سنوات وانواع اخرى. وقد جمعت الأجزاء النباتيه وحفظت ملفوفه بالقماش فى الثلاجة على درجة حرارة منخفضة حيث أن عناصر التوصيل تحفظ من اضرار استعمال المطهرات التى قد يكون لها بعض الخطورة.

وبعد ذلك نزعت الاوراق الابريه needle وتم غسيل الاجزاء وتعقيمها باستعمال هيبوكلوريت الصوديم ٣ مرات ثم قطعت لاجزاء ١–٢ مم. بعد ذلك نزع القلف وازيلت الاجزاء الخارجيه عن الاسطوانه الخشبيه ثم قطعت لاطوال ١ سم وقطعت لاقراص بقطر ١–٢ مم ونميت فى بيئه الأجار فى ظلام على ٢٧° م وغطيت بالبارافيلم فتكون الكاللس بعد ١–٢ أسبوع.

وقد تم تعريضه لاضاءه مصابيح الفلورسنت البيضاء البارده Cool white Flourcent على شدة إضاءة 300-500 Lux على ٢٣°م.

كان الكاللس المتكون بعد شهر ونصف هشاً تم نقله بعد ذلك إلى بيئه تكوين الأجنه قد تحول لونه إلى الأخضر.

## مزارع معلق خلايا الكاللس المأخوذ من خلايا جسمية

## SUSPENSION CULTURE FRO SOMATIC CALLUS CULTURE

كما سبق وأن ذكرنا أن هذه الطريقه تعتبر طريقه غير مباشرة لتكوين الافرع او الاجنه إذا يتم فيها أولا تنمية اجزاء نباتيه مختلفه ومنها يؤخذ الكاللس الذى يتم تنميته فى صوره معلق Suspension فى بيئه مغذيه مثل WS, MS,LS.

وتنمو فى هذه البيئه لمدة تتراوح بين ١–٣ أسابيع أو اكثر .. وقد تتوزع الخلايا فى البيئه فى صورة فردية single أو تجمعات Aggregation أما هوائيه (على السطح) أو منتشره.

استخدم Durozan & Chalupa, 1973 كاللس عمره ٢٠–٢٥ يوما من الشوح النرويجي منمى في دوارق مخصوصه لهذاالغرض في بيئه IS محتويه على NAA والكينين وقد استعانا بجهاز يدور بمعدل لفه واحده في الدقيه وذلك لتحفظ الخلايا معقمه وعلى اضاءه Lux 3000-6000 وعلى درجة حرارة ٢٥°م وقد لوحظ أن الوزن الجاف للخلايا قد زاد ١٠–١٤ مره خلال اسبوعان وقد لوحظ تكون اجنه مكونه من ٥–١٠ خلايا يعتقد انها ناتجة من خلايا كاللس فرديه. وقد حصل WLNTON,1972 على أجنه بنفس الطريقه ولكن من الدوجلاسفير والصنوبر الناميا في بيئه BL ومحتويه على ٠٠٨, ٠٥,، ٢٥,، ٥, ملمم/ لتر من LAA, BAP, 2.4 D وكينين على التوالي.

كذلك فقد حصل Durazan et al. عام ١٩٧١ عل اجنه من كاللس الشوح الابيض Steward L عام ١٩٦٨ من الشوح النرويجي Durzanan & Lopushanski عام ١٩٧٥ في الدردار الامريكي من كاللس مأخوذ اصلا من اجزاء من الاوراق الفلقية تم تنميتها في أجار. وقد نقلت من الأجار إلى البيئة السائله كل ٢٠–١٧٥ يوم إلى أن تتكون الافرع من الكاللس. وقد حصل Bapal& Pao, 1984على أجنه كذلك من كاللس الصندل Sand wood.

والجدول رقم (١٥) يوضح بعض الأنواع التي تم أكثارها بواسطة معلق خلايا الكاللس المأخوذ من خلايا جسيميه.

Table . Tree species regenerated from somatic callus cultures[a]

| | | |
|---|---|---|
| *Betula pendula* | European birch | Huhtinen and Yahyaoglu, 1974 |
| *Broussonetia kazinoki* | Paper mulberry | Oka and Ohyama, 1972 |
| *Citrus maxima (grandis)* | Shaddock | Chaturvedi and Mitra, 1974 |
| *Citrus sinensis* | Sweet orange | Chaturvedi and Mitra, 1974 |
| *Elaeis guineensis* | Oil palm | Jones, 1974 |
| *Eucalyptus citriodora* | Lemon-scented gum | Aneja and Atal, 1969 |
| *Populus canescens* | Gray poplar | Chalupa, 1974 |
| *Populus deltoides* | Eastern cottonwood | Berbee and Hildebrandt, 1972 |
| *Populus euroamericana* | Carolina poplar | Berbee and Hildebrandt, 1972 |
| *Populus nigra* | Black poplar | Berbee and Hildebrandt, 1972; Chalupa, 1974 |
| *Populus nigra* var. *typica* | Black poplar | Chalupa, 1974 |
| *Populus nigra* var. *italica* | Lombardy poplar | Venverloo, 1973 |
| *Populus tremula* | European aspen | Chalupa, 1974 |
| *Populus tremula*, tetraploid | European aspen | Winton, 1971 |
| *Populus tremuloides* | Quaking aspen | Wolter, 1968 |
| *Populus tremuloides*, triploid | Quaking aspen | Winton, 1968, 1970; Mathes, 1968 |
| *Populus tremuloides x alba* | (hybrid) | Winton, 1972b |
| *Prunus amygdalus* | Almond | Me[illegible] and Mehra, 1974 |
| *Ulmus americana* | American elm | Durzan and Lopushanski, 1975 |

[a]Regeneration is defined here as the production of shoots which rooted directly while still attached to callus or after they were excised. Not included are callus shoots that were not directly connected to a root, sometimes referred to as plantlets.

جدول رقم (١٥)

## التكاثر الدقيق باستعمال البروتوبلاست

## فى الاشجار

**يمكن تلخيص تلك الطريقه بالرسم التخطيطى الموجود بالشكل رقم (٩٠)**

معروف أن البروتوبلاست عباره عن خليه بدون جدار سليلوزى محاطه بغشاء سيتوبلازمى والبروتوبلاست أما يؤخذ من النسيج الوسطى للورقه أو من الخلايا المرستيميه أو الجرائيم المذكره الموجوده فى المتك أو الجاميطات المؤثنه megagameto phyte.

وازالة الجدار الخلوى يتم اما بوسائل ميكانيكيه وهذا نادر الاستعمال أو باستخدام تولفيات من الأنزيمات المحلله للسليلوز والبكتين Pectinase& Cellulase.

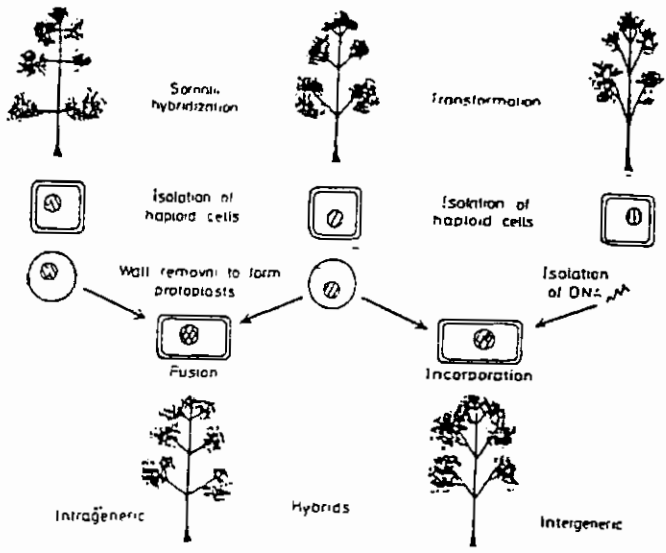
وهناك مواد تجارية لهذا الغرض منها الـ Onozukass بتركيز ٥ ٪ عند درجة حموضه ٥,٧ وعادة يتم عمل طرد مركزى لفصل البروتوبلاست عن الجذر الخلوية والاجزاء المتكسره ويتم الترشيح الدقيق بواسطة مرشحات دقيقه millipore Filter إذ يكون قطر الثقوب ٠,٤٥ انسجتروم لمرور البروتوبلاست.

وقد ذكر Hanke, 1979 أنه يمكن الحصور على البروتوبلاست من الكاللس المتكون بعد ٣٠–٦٠ دقيقه بدون جدار باستعمال ماده glucan.

وقد حصل Chalupa, 1974 على بروتوبلاست من كاللس الشوح الترويجى وكذلك Huhtinen& Wirnton, أما Winton, 1974فقد عزله من كاللس االصنوبر قصير الاوراق Sort leaf pine, Loblolly pine ومن Western hemlok وقد قام Winton وآخران عام ١٩٧٥ – باتباع التكنيك التالى:

تم وضع ١ جم من الكاللس فى انبوبة اختبار بها بها ٥ مل من بيئه MS تحتوى على أملاح الانزيمات بالإضافة إلى ٢ ٪ من مادة Macerase TM ، ٠,٢ مول من مادة المانيتول mannitol ونقلت بعد ذلك فى وعاء غير عميق وتم لفه بمعدل ٢٠ لفه/ دقيقة على درجة حرارة ٢٤°. م على اضاءه 100:1000 Lux وقد وجود بعد ثلاث سعات أن ٨٠– ٩٠ ٪ من الخلايا قد تحررت من جدرها وصارت فى هيئة بروتوبلاست. تم تفريغ الانزيم وغسل البروتوبلاست ٣ مرات.

وقد اوضحت الفحوص الميكروسكوبيه الالكترونية أن الجدر أزيلت تمما بعد ذلك تم ترشيحها فى مرشحات قطر ثقوبها 8 ميكروميتر أو باستعمال الصوف الزجاجى أو بالطرد المركزى بمعدل (1000 g/10 min).



ومشكلة تنمية البروتوبلاست هى التهويه لذا فإنه عادة ما يتم تنميتها فى قطرات معلقة على الغطاء العلوى لطبق بترى أو مايسمى بـ .hanging- drop culture




____. Intrageneric hybridization by protoplast fusion and intergeneric hybridization by transformation. (Drawing by courtesy of Mr. Steve Newcombe)

شكل رقم (٩٠)

وقد تم عزل خلايا من الاوراق الفلقية للسرسوع بوسطة Saxena. 1985 وقد استعملت انزيمات محلله للسليلوز واستعمل مادة Onozuke (R 10) بتركيز ٢٪ على درجة حررة ٨+١° م وتم عزل البرتوبلاست وقد وجد أن ٣٢٪ من البروتوبلاست قد كون مستعمرات مقابل ٥٪ بدون معامله.

## التحام البوتوبلاست

## PROTOPLAST FUSION

بعد عزل البرتوبلاست فإنه يكون مهيأ لعملية الالتحام لانتاج خلايا مزدوجة العدد الكروموسومى أو عديدة ولكل منها مميزاتها وعموما فإن الطرق المتبعه فى لحام البروتوبلاست مختلفة منها:

١- استعمال تركيز عالى من نترات الصوديوم (Dowel et al., 1970).

٢- تحضين البروتوبلاست لمدة ٣٠-٦٠ دقيقه على درجة حموضه ٩,٥-١٠,٥ مع وجود أيونات الكاليسوم (Ckeller & Mc Ichens, 1973)

٣- باستعمال مادة Polyehyal glylen, وأيونات الكالسيوم (Kao & Michorylnk, 1974)

وقد نجح Crisley et al.,1977 فى لحام بروتوبلاست من خلايا الكاللس باستعمال ٠,١ ٪ من مادة Onosokass عند pH مرتفع. أو باستعامل خليط من البولى ايثلين جليكول وهذه المادة تستعمل عند درجة حموضه مرتفعة ولكن يبدو أن الحيوية كانت منخفضة بسبب استعمال هذه المواد وارتفاع الـ PH كان مفيداً للتغلب على ذلك ولقد اتضح أن تركيز البروتوبلاست بعدد $١٠^{٧}$ من الخلايا / مل مع الرج لمدة دقيقة واحدة فى مادة الـ PG بتركيز ٥٠ ٪ مع إضافة كلوريد الكاليسوم وأجراء التخفيف التدريجى بواسطة مادة السيريتينول وكلوريد الكالسيوم بتركيز ٣٠ ملجم/ لتر، ٥٠ ملجم/ لتر على التوالى. وقد أعطى نتائج مفيده.

وهذه الطرق تتبع على النباتات العشبيه أكثر منها فى الاشجار وتتضح اهمية هذه الطريقة (التحام البروتوبلاست) فى نقل الخصائص الوراثيه والحصول على نويتى وقد يتم عزل DNA ونقله ودمجه مع بروتوبلاست خليه اخرى مع داخل نويتى نفس النوع للحصول على عينه (شكل ١٠٨).

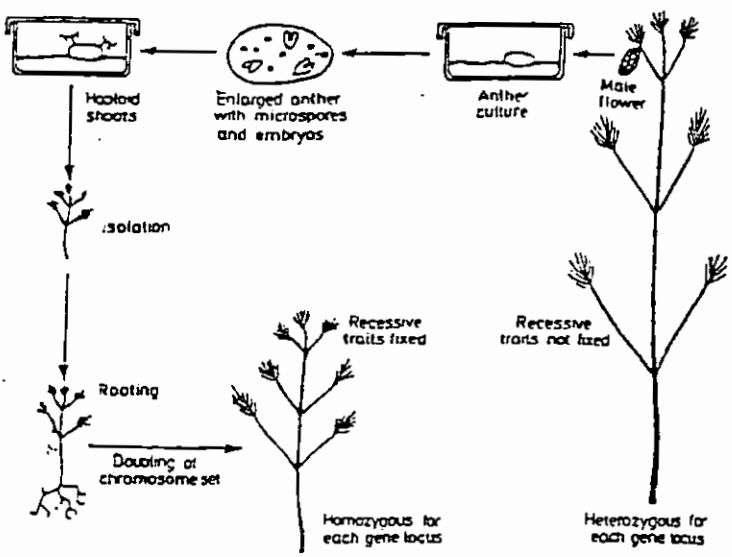
## مزارع الجاميطات والانسجة الجاميطيه

## CULTURE OF GAMETOPHYTIC CEELS AND TISSUES

يمكن من خلال هذه المزارع حل بعض مشاكل برامج التربية أما بزراعة انسجة الجامطيات مثل المتك (anther) أو بواسطة الخلايا الجاميطية مثل الجراثيم (حبوب اللقاح) أو واسطة البويضات megagametophyte أنظر شكل رقم (٩١). حيث يمكن انتاج نباتات وحيدة المجاميع الكروموسوميه Haploid للتغلب على الصفات المتنحيه وكذلك لدراسة الطفرات mutation ومورفولوجيا الكروموسوم من حيث العدد والحجم والشكل.

واحيانا يكون هناك عمليات تضاعف للـ haploid (العدد الكروموسومى الفردى) لانتاج نباتات مشابهه الأصل diploid (ثنائية المجاميع الكروموسوميه).

وفى بعض المخروطيات نجد أن المجاميع الكروموسيه متعدده polyploid أى بها اكثر من مجموعتان وتكون الاشجار عادة متفرقة ولهذا فإنه يمكن الحصول على أفراد قوية منها وحيدة المجموعة haploid على حين أن هناك وفى حالة الاشجار عريضه الاوراق يكون من المفيد الحصول على التضاعف من خلال دمج المجاميع الثنائية dipioid لانتاج العديد autotetrap وهى تنتج من أب واحد أما أذا انتجت من ابوين (٢ ن من كل أب) ينتج ما يسمى altotetraploid




Production of homozygous diploid trees from haploid plants regenerated from microspores cultured inside of anthers. (Drawing courtesy of Mr. Steve Newcombe)

شكل رقم (٩١)

مزراع المتك Anther Culture

تم أخذ متك أزهار المشمش بواسطة Harn & kim,1972 وزراعته فى بيئه Msتحتوى على 2.2-D وكينتين فظهر الكاللس داخل المتك.

ولقد حاول Santmour, 1972 زراعة متك الدردار elm والمانوليا فى بيئه Nitsch, 1972 ولكنه لم يستطيع الحصول على كاللس.

أما Sammer& Sharp 1975 فقد حصل عليه من الدردار ولكنه لم يحدد إذا كان الكاللس المتكون أما من جدار المتك أو من الجراثيم micro spores.

وقد زرع Sato,1971, 72, 73 فى بيئه WS وحصل على كاللس دون معرفة المصدر وقد تكونت الجذور فى نوعين من الالدر elder وثلاث انواع من Prunussp و٣ هجن ونوعين من الحور ونوع من Cryptomeria.

وقد لاحظ Winton, 1974 عند زراعته لمتك أزهار الدوجلاسفير والاسبن الرجراج أن عدد الكاللس الذى يحتوى على مجاميع ثنائيه الكروموسوم قليله.

وقد استخدم مادة Parafluorophenylalanin (PFP) فى بيئه BL وذلك للحصول فقط على كاللس وحيد المجموعه الكروموسوميه. ويرجع الفضل فى استخدام هذه المادة الى Gupta &Carlson,1972. إذا استخدماها من قبل على الدخان (بتركيز ٥ ملجم/لتر).

ولقد حصل Ho& Ray, 1985 على كاللس من متك الازهار المذكرة لانواع وهجن من الحور وانتج افرع وجذور ولقد لاحظ أن النباتات الناتجة من الانواع النقية مثل P. deltoides. P. nigra كانت أختلافاتها طفيفية عن الاب فى حين أن الهجن مثل P. maximowiczii X P. deltoides بعضها كان مشابها لشكل اوراق الاباء وبعضها كان يجمع شكل وسط. وكان معظم الكاللس الناتج haploid بعدد كروموسومى ١٩.

وهناك طريقة اتبعها Kouider & Skarirn عام ١٩٨٤. إذا تم عزل أجنة من أزهار مؤنثة منقحة فى الحور P- deltoides وتم زراعة هذه الاجنه فى بيئه MS وحصلا على افرع متعدده ومتضاعفه وفردية بعد ٢٨ – ٣٢ يوم من أجراء التجربه.

# بعض المصطلحات المتداولة فى مجال
# زراعة الانسجة فى الأشجار

**Adventitious**

عبارة عن جذور ، أفرع ، أجنة أو أى اعضاء اخرى أو انسجة تنمو فى مواضع شاذه بصوره غير طبيعية.

**Allotetraploid**

عبارة عن نباتات بها ٤ مجموعات كروموسيه وعادة ما يتحصل على مجموعتين من كل أب.

**Anther**

عبارة عن أكياس جروثوميه Microsporengium بداخلها جروثوميات تنشا وتتكون داخل حبوب اللقاح.

**Aseptic Culture**

هى عملية تعقيم سطحى للاجزاء النباتية الأبويه، خالية من الطفليات ولكن ليس من الضرورى أن تكون خالية من أى علامة تكافلية داخلية internal symbiosis

**Asexual Propagation**

هو تكاثر خضرى أوجسمى (لاجنسى) بالأجزاء النباتية دون حدوث اخصاب Fertilization

**Autotetraploid**

عبارة عن نباتات بها ٤ مجاميع كروموسية متشابهة (متطابقة) نشأت مع أزدواج (تزواج) مجاميع الأب أو الأم فقط ( أى تضاعف داخلى دون تزواج)

**Auxin**

عبارة عن هرومونات نباتية .. مسئولة عن استطالة الخلايا والسيادة القيمه للجذور الابتدائية ومن امثلتها الطبعية IAA.

**Axenic Culture**

أى البيئة الخالية من أى علاقة تكافل .. ولايمكن عند تحضيرها التخلص من الكائن المتكامل بالتعقيم السطحى وتستخدم بطريقة حاطئه كمزرعة نقية.

**Callus Culture**

هى مزرعة الكاللس والتى يحدث فيها امتداد لانقسام البروتوبلازم فى الاجزاء النباتيه الابويه ولكن بصورة مختلفة عن الانسجة الطبيعه، بالضبط مثل مزراع الانسجة.

**Cell defrentiation**

عبارة عن تغيرات كمياوية أوتشريحية تحدث مرافقة لآداء وظيفه معينه.

**Cell Suspension**

عبارة عن مزرعه من الخلايا الفردية فى بيئه سائلة متحركة، غالباً ما تستخدم بطريقه خاطئه لتصف معلق مزراع الخلايا وتجمعاتها.

**Clonal Propagation**

هو تكاثر لاجنسى من اصل واحد ortet للعديد من النباتات وعادة ما يكون من طراز جنسى واحد monotype.

**Cytokinin**

مجموعة من هرمونات النمو النباتيه، عادة ما تكون متلازمة مع انقسام الخلايا وتكشفها.

**Diploid**

تحتوى على زوج من المجموعة الكروموسوميه (2n)وموجوده فى الخلايا الجنسية العادية .. والتى اعيد تنظيمها recontituted خلال عملية الاخصاب.

**Embroid**

عبارة عن مجموعة خلايا تشبه الجنين ولكن هذا التشكيل الخلوى يكون اكثر عشوائية.

**Embryo**

عبارة عن نبات صغير يتكون على هيئة megagmetophyte نتيجة اخصاب الخلايا البيضوية أو بدون اخصاب فى البيئة المغذية المعقمة نجد أن الاجنه المتقدمه تبدى امتدادات لنمو الافرع من جهة والجذور من جهة اخرى.

**Excise**

عبارة عن قطع أو جزء من الكاللس المعزول من الاجزاء النباتيه الأبوية أو بإزالة الافرع المتقدمة من انسجة الكاللس من أجل انتاج الجذور.

**Explnat**

عبارة عن جزء نباتى مقطوع ويجهز لزراعته فى مزرعة نقية عن صريق تعقيمه سطحياً ثم يوضع بعد ذلك فى بيئه طبيعيه.

**Fertilization**

عبارة عن اتحاد طبيعى لجاميطتين أثناء التكاثر الجنسى.

**Gamete**

عبارة عن خلايا جنسية أو أنوية ناتجة من الانسجة الجامطية وتكون مجموعة احادية من الكروموسومات أو نصف العدد الكروموسومى فى الخلايا الخضريه.

**Genotype**

هى مجموعة الصفات الوراثيه للفرد، محموله على الكروموسوماتgenetic make up of an individual carried in the chromosomes

**Haploid**

هى نصف عدد المجموعة الكروموسوميه، موجوده على الخلايا الجنسية، مكونة نفس العدد الكرومنوسومى لما هو فى الحلية الجنسية و الجامطيات.

**Inoculum**

هى جزء صغير من نسيج الكاللس أو قدر صغير من مادة الخلية المأخودة من مزرعة الكاللس.

**Karyotype**

هـو العـدد، الحجـم والشـكل المميز للكروموسـوم وهو فى حالته الفـرديه haploid set

**Megagametophyte**

إنتاج البويضات المؤنثة أو الخلايا الجنسية فى حالة معراة البذور وهى تكون المجموعه الاحاديه (In).

**Meristem**

هى مجموعة من الخلايا تنقسم بصورة نشطة وتتشكل بسرعه وفى النهاية تعطى أما أفرع، جذور أو خشب أوقلف.

**Meristimoid**

مجموعة من الخلايا موجوده فى نسيج الكاللس تتميز بتراكم النشا والـ RNA والبروتين وينشأ عنها افرع أو جذور متقدمة.

**Microspores**

عباره عن خلايا وحيدة العدد الكروموسومى haploid تتكون داخل حبه اللقاح والتى تعطى الجامطيه المذكرة.

**Nutrient medium**

عبـاره عن بيئـه مـغـذيه صلبـه أو سـائلة مـتكونـة من امـلاح صـغـرى †microsaltsومصدر للطاقة (سكروز) وفيتامينات، هرمونات وكذلك مواد معروفه وغير معروفه، وعادة ما يتم تعقيمها بعد تصنيعها فى الاتوكلاف أو يتم ترشيحها فى مرشح ميكروبى.

**Organ Culture**

عباره عن مزرعه معقمه من اجزاء نباتية أو أعضاء سليمه.

**Organized tissue**

هى انسجة تتركب خلاياها وتتكشف بصورة منتظمة.

**Organogensis**

هى بداية تكوين الجذور والأفرع من الكاللس أو الأجنه وذلك من خلايا فردية أو تجمعاتها.

**parasexual Hybridization**

هو التحام لاجنسى للبروتوبلاست وذلك من أبوين مختلفان وراثيا. وأيضا يسمى تهجين جسمى أو خصرى.

**Parenchymatous**

هى عموما خلايا كروية غير متكشفة ذات جدار خلوى ابتدائى لها القدرة على الانقسام والتكشف.

**passage**

هى الفترة من النمو التى تلزم لنمو الكاللس أو الخلايا متى تنتقل من مرحلة إو عملية لأخرى.

**Plantlet**

عباه عن أفرع ذات جذور صغيره وأيضا عباره عن جزء من الكاللس يحتوى على كل من الافرع والجذور والتى لاتتصل مباشره من الداخل.

**Ploidy**

هو اصطلاح لتعدد مجاميع n أو هو عدد المجاميع الكروموسيه لكل خلية والتى تزيد عن 2n.

**Polyploid**

أى تحتوى على ٣ أو أكثر من المجاميع الكرومرسوسيه وتعرف بثلاثيه أو رباعيه ... الخ triploid or tetraploid

**Somatic**

- . عن انسجه حضريه أو غير جنسية

**Subculture**

هى عملية تقطيع الكاللس لاجزاء أو مكعبات صغيره (inocula)وذلك لنقلها فى بيئه طازجة. احيانا تستخدم لدلالة على إضافة بيئه سائله طازجة إلى معلق الخلايا.

**Suspension Culture**

عبارة عن خلايا أو تجمعات منها متوزعة ناميه فى بيئه سائله حره.

**Tissue Culture**

ينظر لها فى هذا الصدد على انها مزرعة الكاللس ولكنها تستخدم لوصف ما يسمى بزراعة الاعضاء.

**Transformation**

هى عملية نقل (نسخ) المعلومات للخليه النباتيه بواسطة الـ DNA المعزوله عن خليه اخرى. ويقصد بها نقل الصفات الوراثة بوسائل متعددة وهى تسمى transgenosis

**Vacuole**

هى الفجوة العصاريه الموجودة فى الخلية وهى منطقة التخزين فى الخلية وعادة ما تحاط بغشاء يسمى Tonoplast

**Vegetative Propagation**

هو التكاثر اللاجنسى.