

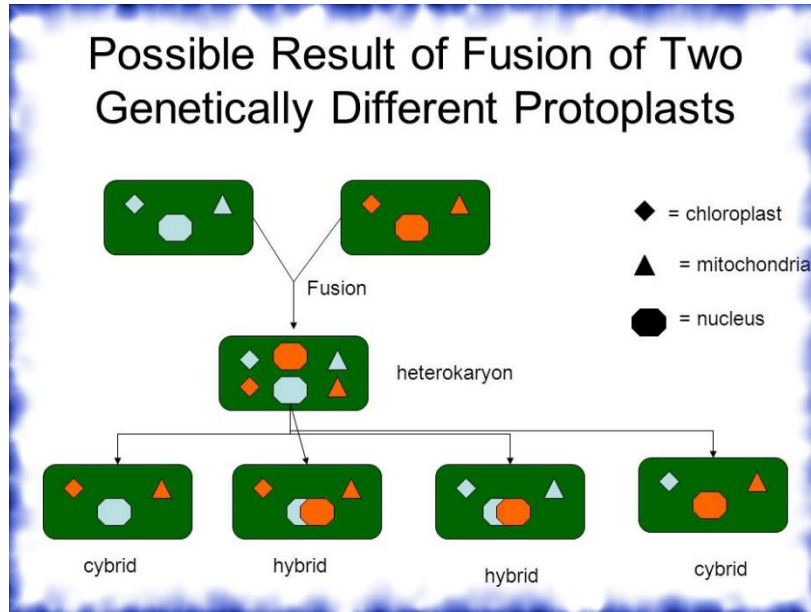
المشاكل التي تحد من استخدام دمج البروتوبلاست بهدف التحسين النباتي:

1. صعوبة عملية الانتخاب بعد التهجين وعدم وجود طريقة لإحداث التكشف بعد الدمج.
2. قد يكون الناتج النهائي للتهجين غير متزن غالباً كأن يكون عقيم أو به خلل تركيبى أو غير ثابت خصوصاً لو تم بين آباء بعيدة من الناحية التقسيمية أو حتى باستعمال خلايا في مراحل مختلفة من التطور.
3. التهجين بين نباتين ثنائيين ينتج عنه نبات (amphidiploids) غير مرغوبة في برامج التربية ويمكن التغلب على ذلك بتهجين خلايا أحادية.
4. الناتج الوراثي لعملية التهجين متباين غالباً ويرجع ذلك إلى الإستبعاد الكروموسومي، الإنتقال والإنعزال في بعض عضيات السيتوبلازم مثل البلاستيدات والميتوكوندريا.
5. إنخفاض الثبات الوراثي في مزارع البروتوبلاست كما أنه ليس من المؤكد أن تُعبّر الصفة محل الإهتمام عن نفسها في النسل.

إنتخاب الهجن الخضرية:

إذا تم وضع نوعين من البروتوبلاست في ظروف الدمج المثلى ماذا نتوقع؟
نتوقع:

1. حدوث دمج بين نفس البروتوبلاست
2. حدوث دمج بين نوعين مختلفين من البروتوبلاست
3. وجود بعض البروتوبلاست غير المدمجة.



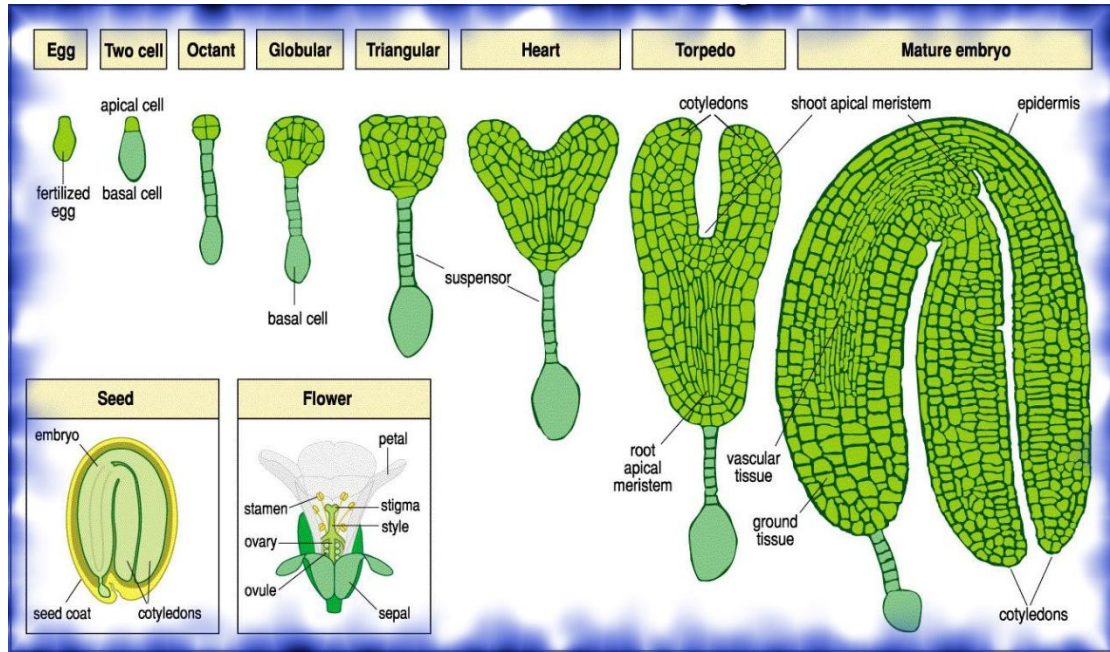
طرق الانتخاب:

إنتخاب الهجين الجسدي عملية في غاية الخطورة وتتم بـ :

1. استخدام بعض الطفرات في الانتخاب على مستوى النبات بعد التكشف.
2. إذا كانت كروموسومات الأبوين مختلفة من حيث الشكل المورفولوجي فيمكن تمييز الهجين عن طريق الفحص السيتولوجي (**Karyotype Analysis**) ولكنها عملية صعبة.
3. ونجد أنه إذا كانت النباتات الناتجة من الدمج بها تباين كبير في أعداد الكروموسومات وفي الغالب يكون أكبر من العدد الكلي لكلا الأبوين فإن هذا دليل على حدوث دمج لأكثر من بروتوبلاست خليتين معاً ويتبع ذلك عدم إتران في الإنقسام الخلوي أو يكون بسبب الإختلاف في سعة تضاعف الـ (**DNA**) للأبوين بعد الدمج.
4. هناك طريقة أخرى هي التحليل الإنزيمي (**Isoenzyme Analysis**) أساسها إن الإنزيم له تتابع محدد من الأحماض الأمينية ويكون هناك فرق ضئيل جداً بين الآباء في هذا التتابع لكنه كافٍ لإظهار الفرق بينهم، ونجد أن مشكلة الإعتماد على هذه الطريقة تكمن في إختلاف تركيب الإنزيم باختلاف النسيج وإختلاف محلة تطور النبات نفسها.
5. الإعتماد على وجود مركبات ثانوية مميزة لأحد الأبوين.
6. وجود ظاهرة قوة الهجين (**Heterosis**).
7. أما الطرق الأكثر دقة فهي المعتمدة على التقنية الجزيئية (**DNA Hybridization Technique**).

الأجنة الخضرية (Somatic Embryogenesis)

يعتبر تكوين الأجنة الخضرية في مزارع الأنسجة مثال مميز للقدرة الكامنة للخلية الحية على تغيير مسارها والعمل على الإنقسام وتكوين كائن حي كامل. تنتج الأجنة الخضرية من الخلايا المنزرعة في بيئة مغذية حيث أنه نتيجة لظروف معينة تسلك الخلايا المنزرعة سلوكاً مشابهاً للجنين الزيجوتي وهذا يؤدي إلى تكوين جنين ناضج.



إنتاج الأجنة الخضرية:

نظراً للأهمية العظمى للأجنة الخضرية في تحسين والمحافظة على السلالات النباتية وجد أنه من الضروري فهم هذه الظاهرة ولقد إستخدمت أجزاء نباتية مختلفة من أجل الحصول على أجنة خضرية مثل السوق والأوراق والجذور والبراعم الزهرية والأندوسبيرم والسؤال هنا:

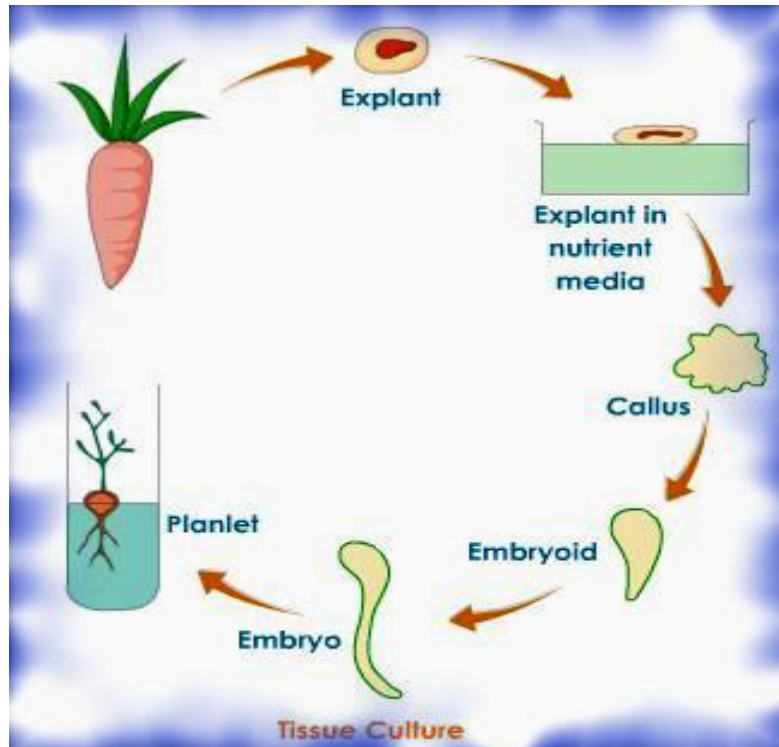
هل ينشأ الجنين الجسدي من خلية متكشفة ومتميزة أم أنه ينشأ من خلية مرستيمية؟

طرق إنتاج الأجنة الخضرية:

وُجد أن هناك ثلاثة طرق لإنتاج الأجنة الخضرية:

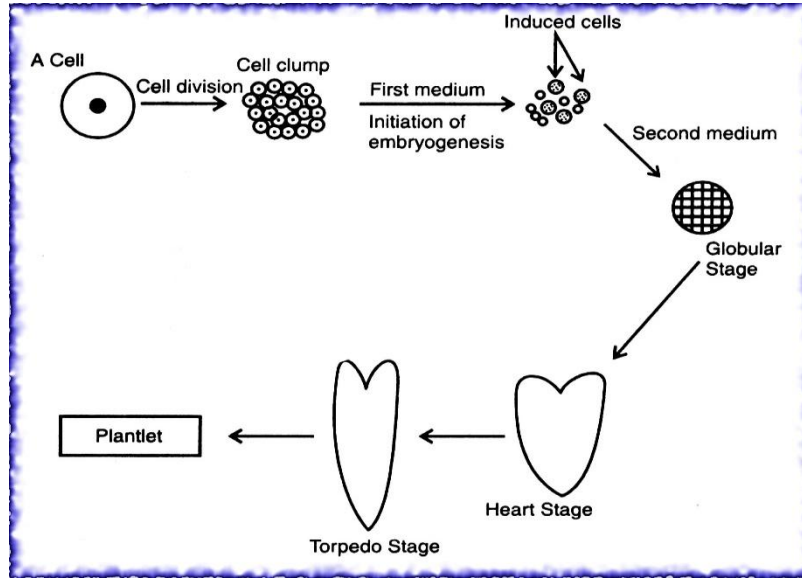
الطريقة غير المباشرة:

وفي هذه الطريقة يتكون الكأس على الجزء النباتي المنزوع أولاً ومن هذا الكأس ينتج الأجنة الخضرية عندما تنقل إلى بيئة مغذية ذات تركيب ينشط تكوّن هذه الأجنة.



الطريقة المباشرة:

في هذه الطريقة يتكون الجنين على الجزء النباتي المنزرع على نفس البيئة المغذية بدون الحاجة إلى النقل إلى بيئة أخرى.

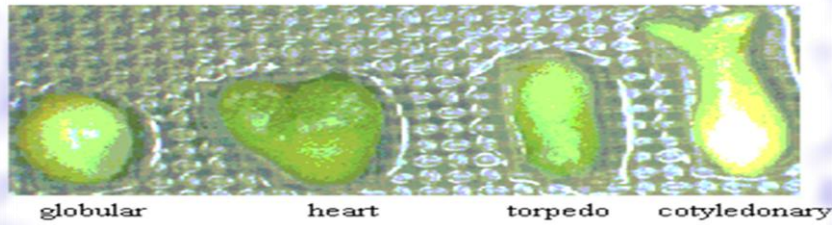


إنتاج الأجنة الخضرية من البروتوبلاست:

يمكن الحصول على أجنة خضرية من زراعة البروتوبلاست في بيئة مغذية سائلة حيث يحدث أول إنقسام خلوي بعد حوالي 5 أيام من الزراعة على بيئة مغذية بعد عدة إنقسامات ينتج تركيب عجيج الخلايا ومنه يتكون الجنين الجسدي.

العوامل المؤثرة في تكوين أجنة خضرية:

1. تركيب البيئة المغذية
2. الهرمونات
3. مثبطات الأجنة الخضرية



The morphological stages of somatic embryo development in alfalfa (*Medicago sativa L*)

