------ مجلة علوم الرافدين، المجلد 17، العدد 11، خاص بعلوم الحياة، ص126-138، 2006 ------

زراعة كثافات متعددة من المعلقات الخلوية المشتقة من كالس سيقان الباقلاء في قطاعات الاكار والحصول على النباتات الكاملة

مزاحم قاسم الملاح   سهلة محمد زيدان

قسم علوم الحياة

كلية التربية

جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2006/2/27 ، تاريخ القبول 2006/5/31)

الملخص

نجحت الدراسة الحالية من إنشاء مزارع المعلقات الخلوية المشتقة من كالس سيقان بادرات الصنف المحلي من الباقلاء *Vicia faba*، وزراعة كثافات مختلفــة (5.6، 4.8، 4.2، 3.7، 3.4، 3.3، 3.2، 3.0، 2.9 × 10^3 خلية/ مل) من هذه المعلقات بطمرها في قطاعات الاكار Sectors بوجود وسط MS الصلب المدعم بتراكيز متباينة من نفثالين حامض الخليك Naphthaleneacetic Acid (NAA) والبنزايل ادنين Benzyl Adenine (BA). وتراوحت حيوية الخلايا المطمورة بين 39-77%.

شجعت هذه الطريقة انقسامات الخلايا المطمورة في الاكار وتكوينها المستعمرات الخلوية التي بلغت 67%. وتطورت اعداد من هذه المستعمرات إلى منشأت الكالس التي تباينت فـي نسـب تكوينهـا بـين 25-50% متأثرة بكثافة الزراعة ومنظمات النمو المضافة. وقد اتخذ الكالس الناتج نمطاً في نموه متفوقـاً على نمط نمو الكالس المستحدث من السيقان ذاتها وأبدى هذا الكالس قابلية على التمايز وتشكل النباتـات منه وتراوح عدد الافرع الخضرية المتكونة بين 5-7 أفرع/ قطعة كالس.

Culture of Different Densities of Cell Suspensions Derived from Stem Callus of Broadbean (*Vicia faba*) in Agar Sector and Regeneration of Intact Plants

Mozahim K. Al-Mallah **Sahla M. Zeadan**

Department of Biology
College of Education
Mosul University

ABSTRACT

This study succeeded in establish cell suspension derived from stem callus of the local variety of axenic broad bean (*Vicia faba* L.) seedlings. Different densities (5.6, 4.8, 4.2, 3.7, 3.4, 3.3, 3.2, 3.0, 2.9 x 10^3 cell/ml) of these suspensions were cultured by embedding them in sectors of agar-solidified MS medium in the presence of different levels of naphthaleneacetic acid (NAA) and benzyl adenine (BA). This method of culture promote division of embedded cells and enhance colony formation to reach up to 67%. They developed to form callus primordia, varied in their formation ratio between 30-50% depending upon culture density.

The produced calli showed a growth pattern superior the growth pattern of calli stimulated from stem explant. Moreover, the callus express its capability to regenerate plants. Number of shoots ranged between 5-7 shoots per piece of callus.

المقدمة

عموماً تعد المعلقات الخلوية المشتقة من الكالس انظمة حياتية مناسبة للحصول على النباتات الكاملة وخصوصا في الانواع النباتية التي تبدي صعوبة في تمايز كالسها في الوسط الزرعي. ومما شجع الباحثين على استخدامها انها تضم اعداد من الخلايا المفردة (Dixon, 1985). وتؤدي انقسامات خلايا مزارع المعلقات الخلوية إلى زيادة اعدادها فضلاً عن توفيرها فرصة كبيرة لاستقبال المادة الوراثية (Dodds and Roberts, 1985). ان عدداً من الانواع النباتية البقولية وعدد غير محدد من محاصيل الحبوب كانت تعاني من صعوبات واضحة في استجابتها للزراعة النسيجية، وأمكن التغلب عليها بزراعة البروتوبلاست أو المعلقات الخلوية المشتقة من الكالس كما في نباتات الباقلاء *Vicia faba* (Binding and Nehls, 1978 ; زيدان، 2004) والبازلاء *Pisum sativum* (Braummell and Hall, 1983) وفول الصويا *Glycine max* (Kao et al., 1971).

لقد أشارت المصادر إلى العديد من الدراسات المتعلقة بمزارع المعلقات الخلوية المشتقة من النباتات البقولية وذكرت احداها إلى ضرورة اضافة الحامض الاميني الكلوتامين وبعض الفيتامينات مثل Pyridoxine HCl بوجود منظمات النمو في المزارع السائلة المستخدمة لاستحداث مزارع هذه المعلقات (Cornelia and Kohlenbach, 1989). وأظهرت دراسة اخرى ان اضافة الزاياتين Zeatin إلى الوسط

السائل شجع نمو خلايا مزارع المعلقات الخلوية من فول الصويا *Glycine max* بدلالة مباشرة الخلايا انقسامها الاول خلال الايام الاربعة الاولى من زراعتها، اعقبه تكوينها الكالس الذي تمايز إلى عدد من الافرع الخضرية (Staden, 1983). وأشارت دراسة حديثة (Anelia and Trinh, 2000) إلى تكوين النباتات من زراعة الخلايا المفردة للنبات البقولي العلفي الجت *Medicago truncatula* حيث باشرت الخلايا انقسامها الاول خلال 72 ساعة من الزراعة وتكوينها المستعمرات الخلوية خلال 14-21 يوماً من الزراعة مكونة كالس اخضر اللون أبدى قابلية على التمايز في اوساط التمايز المناسبة خلال أربعة أسابيع.

هدفت الدراسة الحالية الى الحصول على نباتات الباقلاء من تمايز الكالس المشتق من المعلقات الخلوية بسبب صعوبة تمايز كالس الاجزاء النباتية فضلا عن التعرف على دور الكثافة المزروعة من المعلق الخلوي في تكوين الكالس باعتماد طمرها في قطاعات الاكار.

المواد وطرائق البحث

المادة النباتية:

عقمت بذور الصنف المحلي من الباقلاء *Vicia faba* L. (Broad bean) تعقيماً سطحياً بغمرها في محلول 96% من الكحول الاثيلي لمدة دقيقة واحدة مع التحريك المستمر متبوعاً بغمرها في محلول 6% من هايبوكلورايت الصوديوم NaOCl بنسبة 1 حجم منه : 2 حجم ماء لمدة 30 دقيقة، أعقبها غسلها جيداً لازالة اثار المادة المعقمة (الملاح وزيدان، 2004).

مزارع المعلقات الخلوية المشتقة من كالس السيقان:

استحدثت مزارع كالس سيقان الباقلاء على وسط MS (Murashige and Skoog, 1962) الصلب الحاوي على 1.0 ملغم/لتر NAA، 0.5 ملغم/لتر BA (زيدان، 2004). تمت ادامة مزارع الكالس مرة كل ثلاثة اسابيع واكثاره على نفس الوسط واستخدامه في انشاء مزارع المعلقات الخلوية. اعتمدت تقانة انشاء المعلقات الخلوية (Morris and Fowler, 1981) لتحضير المزارع المشتقة من كالس سيقان نباتات الباقلاء في ثلاثة اوساط سائلة فضلا عن وسط المقارنة (الملاح وزيدان، 2004). نقل الكالس الهش الفتي بواقع 1 غم منه إلى كل من ثلاثة دوارق زجاجية سعة 250 مل تحوي كل منها 50 مل من الاوساط المنتخبة: (MS + 1.0 ملغم/لتر NAA + 0.5 ملغم/لتر BA) و(MS + 0.5 ملغم/لتر NAA + 0.5 ملغم/لتر BA) و(MS + 2.0 ملغم/لتر NAA +2.0 ملغم/لتر Kin + 2.0 ملغم/لتر 2,4-D) فضلا عن وسط المقارنة. حفظت العينات في الحاضنة الهزازة (New Brunswick, USA) بظروف ظلام تام ودرجة حرارة 28 °م وبسرعة 150 دورة/دقيقة لمدة 24 ساعة. رشحت المزرعة من خلال منخل بلاستيكي معقم دقيق حجم فتحاته 45 µm (Plant Genetic Manipulation Group, Nott, Univ. UK)

لعزل الكتل الخلوية غير المفككة. أعيدت هذه المزارع إلى الحاضنة وتمت ادامتها الدورية بأخذ الدوارق التي تحتويها ووضعها على نحو مائل في كابينة الزرع لمدة 4 ساعات لاستقرار خلاياها، بعدئـذ يـزال الوسط القديم بعناية واستبداله باضافة 50 مل من الوسط الجديد إلى الخلايا المترسبة. أعيدت المزارع إلى الحاضنة الهزازة في نفس الظروف الذي ذكرت سابقاً (Roper, 1979).

تحديد كثافات المعلقات الخلوية وحيويتها:

أخذت عينات من مزارع المعلقات الخلوية بحجم 0.1 مل من كل مزرعة يوميا لمدة اسبوع كامـل من التحضين ووضعت في حجرة الهيموسايتوميتر وفحصت بالمجهر الضوئي وحسبت اعـداد خلاياهـا (زيـدان، 2004)، وقـد حـددت نـسب حيويتهـا وفقـا للطريقـة المعتمـدة فـي دراسـات سـابقة (Brikenhead and Willmer, 1986).

زراعة المعلقات الخلوية في قطاعات الاكار:

أخذ 1 مل من كل مزرعة من مزارع المعلقات الخلوية النامية في الاوسـاط الثلاثـة وبالكثافـات (5.6، 4.8، 4.2، 3.7، 3.4، 3.3، 3.2، 3.0، 2.9×10^{3} خلية/مل) فضلا عن وسط المقارنة ومـزج مـع 1 مل من محلول 3% من الاكار المعقم السائل الموجود في حمام مـائي بدرجـة 40 °م مزجـاً جيـداً وبصورة سريعة. سكب المزيج بهيئة طبقة رقيقة متكاملة بسمك 2 ملم في قعر طبق بتري بلاستيكي قطر 5 سم (Sterilin U.K) وبعد تصلب طبقة الاكار قطعت إلى أربعة قطاعـات متماثلـة الحجـم والـشكل بواسطة مشرط حاد ومعقم. ونقل كل قطاع إلى طبق بتري قطر 5 سم مستقل وأضيف اليه 2 مـل مـن الوسط السائل المناسب، سدت الاطباق باغطيتها أغلقت بالبارافيلم ووضعت في غرفة الزرع في درجـة حرارة 25 ± 2 °م وشدة اضاءة 700-800 لوكس / 16 ساعة ضوء / 8 ساعة ظلام (Dixon, 1985).

فحصت مزارع المعلقات الخلوية بعد 24 ساعة من زراعتها في قطاعات الاكار باستخدام المجهـر الضوئي لتحديد مباشرة الخلايا بانقسامها الاول ومتابعة مراحلها اللاحقة حتى تكوين المستعمرات الخلوية وتكوينها منشآت الكالس وتطورها إلى قطع صغيرة من الكالس يمكن مشاهدتها بالعين المجردة.

نقل بادئات الكالس إلى الاوساط الصلبة وادامتها:

نقلت القطع الصغيرة من الكالس المتكونة من زراعة المعلقات الخلوية عند بلوغها حجمـاً مناسـباً وبزوغها من الاكار إلى سطح 25 مل من وسط MS الصلب المدعم باضـافة 1.0 ملغـم/لتـر NAA، 0.5 ملغم/لتر BA (الملاح وزيدان، 2004)، في دورق زجاجي حجم 100 مل لغرض ادامته.

تمايز الكالس وتكوين النباتات الكاملة:

أخذت مجموعة من قطع الكالس بوزن 1 غم/قطعة ووضعت على وسط التمايز المتكون من وسط MS الحاوي على 2.0 ملغم/لتر BA + 0.2 ملغم/لتر NAA (زيدان، 2004)، وبمعـــدل قطعـــة/دورق، حفظت العينات في غرفة الزرع في الظروف المشار اليها سابقاً.

النتائـــج

كفاءة انقسامات خلايا المعلقات الخلوية:

اظهرت النتائج ان الكالس الهش المستحدث من قطع السيقان كان مناسبا لانشاء مزارع المعلقـــات الخلوية في اوساط MS السائلة المنتخبة. وقد تفوق الوسط السائل (MS + 1.0 ملغـــم/لتـــر NAA + 0.5 ملغم/لتر BA) في انشاء هذه المزارع بدلالة مباشرة خلاياه بانقسامها مبكراً فـــي اليـــوم الاول وتمكنـــت الخلايا المنقسمة من مواصلة انقساماتها في اليوم الثاني والثالث وبلغت اعلى نسبة للانقـــسام 75% عنـــد اليوم الرابع من عمر المزرعة اعقبها انخفاض تدريجي في معدل الانقسام (الجدول 1). وأوضحت نتائج استخدام الوسط الثاني (MS + 0.5 ملغم/لتر NAA + 0.5 ملغم/لتر BA) بكونه مشجعاً لانقسام الخلايـــا النامية فيه وشجع هذا الوسط مواصلة الخلايا لانقسامها إلا أن النسبة المئوية للانقسامات كانت اقل مما في الوسط الأول، أعقبها حصول تناقص تدريجي في معدلات الانقسام في اليوم الرابـــع والخـــامس. وكـــان الوسط الثالث (MS + 2.0 ملغم/لتر NAA + 2.0 ملغـــم/لتـــر Kin + 2.0 ملغـــم/لتـــر 2,4-D) مـــشجعا لانقسامات الخلايا مع تقدم عمر المزرعة (الجدول 1).

الجدول 1 : انقسامات خلايا مزارع المعلقات الخلوية المشتقة من كالس سيقان الباقلاء النامية في ثلاثـــة أوساط من MS السائلة المدعمة بتداخلات مشتركة من منظمات النمو.

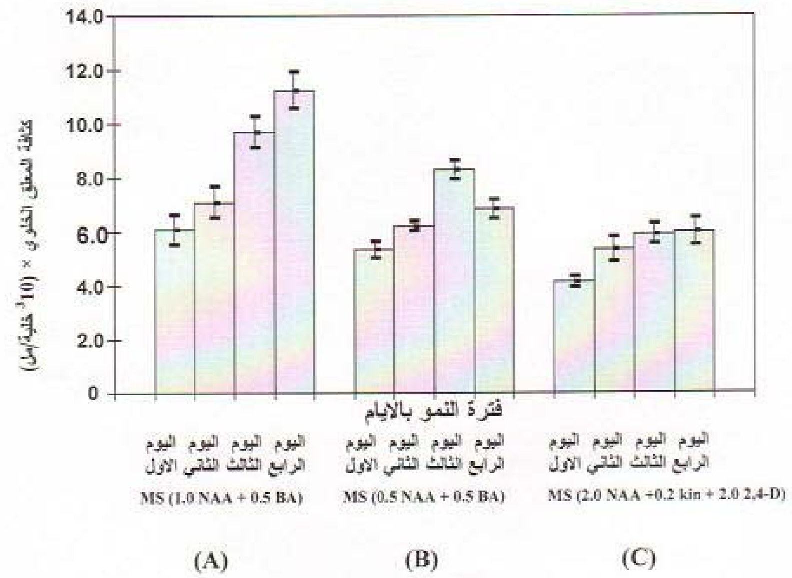
أوساط MS (ملغم/لتر)	الانقسامات(%)					
	الأول	الثاني	الثالث	الرابع	الجامس	السادس
MS الخالي من منظمات النمو	0	0	0	0	0	0
0.5 BA + 1.0 NAA + MS	40	47	65	75	49	44
0.5 BA + 0.5 NAA + MS	35	39	55	46	43	34
2.02,4-D + 2.0kin + 2.0NAA + MS	27	35	39	40	42	49

القيم الواردة في الجدول تمثل معدل ثلاث مكررات لكل وسط مستخدم.

وتشير البيانات الواردة في الشكل (1) الى العلاقة بين كثافات الزراعة ونمط نمو خلايا المعلق الخلوي فقد لوحظ ان الوسط الاول شجع بوضوح نمو مزارع المعلقات الخلوية مقارنة بالاوساط الاخرى وتراوحت حيوية الخلايا النامية في هذا الوسط بين 39-77% وازدادت كثافة المزرعة من 3.0×10^3 خلية/مل إلى 5.60×10^3 خلية/مل عند اليوم الرابع مع ملاحظة وجود مراحل ثنائية وثلاثية ورباعية الخلية، اعقبها انخفاض في اعداد الخلايا وتوقفها عن الانقسام عند اليومين الخامس والسادس من عمر المزرعة (الشكل A.1).

ولوحظ ان خفض تركيز NAA من 1.0 ملغم/لتر إلى 0.5 ملغم/لتر في الوسط الثاني حفز الانقسام المبكر للخلايا ودخولها الانقسام الثاني والثالث وازدادت كثافتها إلى 4.30×10^3 خلية/مل في اليوم الرابع (الشكل B.1).

بينما ادت زيادة تركيز NAA إلى 2.0 ملغم/لتر واستبدال BA باضافة 2.0 ملغم/لتر من الكاينتين (Kin) وبوجود 2,4-D في الوسط ذاته شجع انقسام الخلايا، وواصلت خلايا المزرعة انقساماتها وسجلت أقصى كثافة لها 4.0×10^3 خلية/مل بعد مرور 4 أيام (الشكل C.1).



الشكل 1 : العلاقة بين كثافات الزراعة ونمط نمو خلايا المعلقات الخلوية المشتقة من كالس سيقان الباقلاء في ثلاثة اوساط من MS السائلة (الخط العمودي I يمثل الانحراف القياسي).

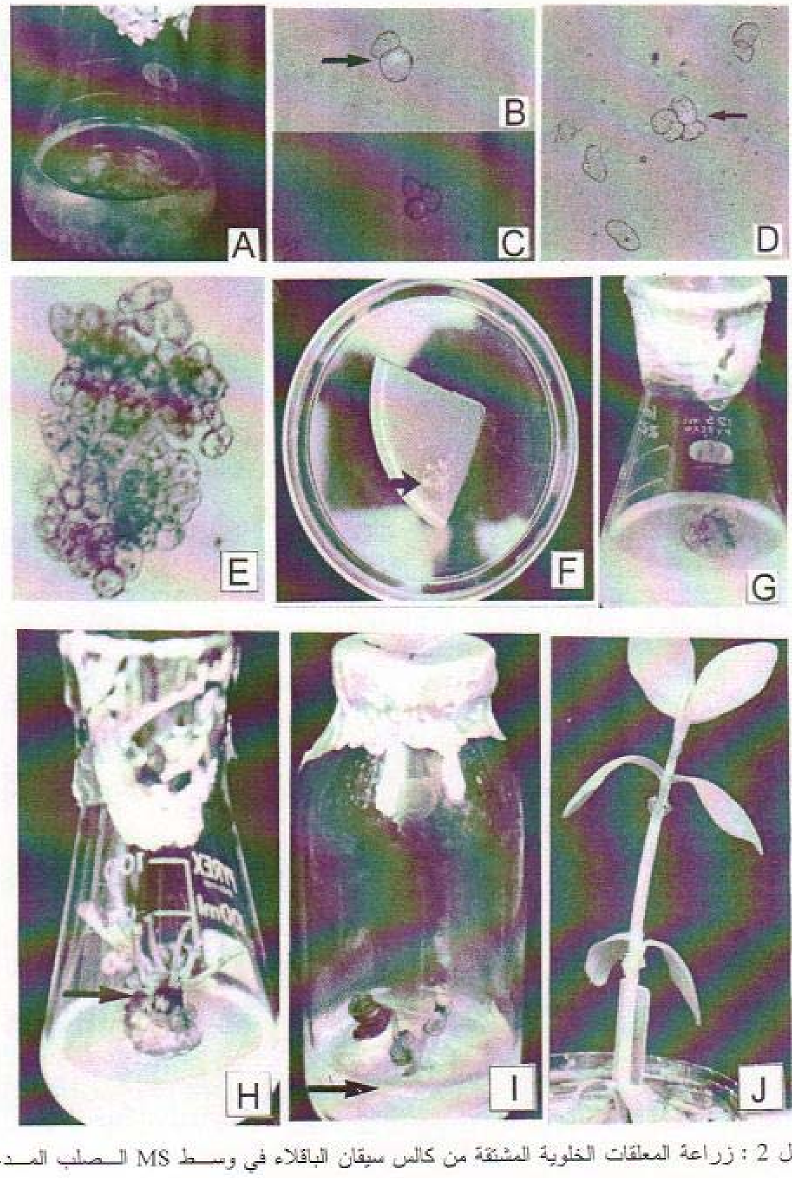
تكوين مزارع كالس المعلقات الخلوية في قطاعات الاكار:

لوحظ ان الكثافات المختلفة من المعلقات الخلوية المزروعة في الاكار شجعت انقسام الخلايا وتكوينها للمستعمرات الخلوية، وتمكنت هذه المستعمرات من النمو والزيادة في الحجم لتتطور لاحقاً إلى قطع كالس صغيرة ذو لون اخضر فاتح بعد 90 يوماً من بدء الزراعة. وعموماً أظهرت النتائج ان الوسط MS + 1.0 ملغم/لتر NAA + 0.5 ملغم/لتر BA كان مشجعاً لانشاء المعلق الخلوي (الشكل A.2). فضلا عن تشجيعه الخلايا للدخول في انقسامها الاول مبكرا وتكوينها خلايا بنوية متماثلة في الحجم (الشكل B .2) ودخلت انقسامها الثاني بعد 7 أيام من حصول الانقسام الاول لتكون المرحلة ثلاثية الخلايا (الشكل C.2) لتتطور الى المرحلة الرباعية (الشكل D.2) بعد 35 يوماً من بدء الزراعة انتهت بنشوء اعداد كبيرة من المستعمرات الخلوية (الشكل 2. E). وظهرت أولى منشآت الكالس بعد 65 يوماً من الزراعة واستمرت بالنمو والزيادة في الحجم في الوسط الاول لتسجل 50% (الجدول 2) اعقبها تطورها إلى قطع صغيرة من الكالس بعد مرور 3 أشهر على زراعتها في الوسط (الشكل F.2) ونقلها إلى أوساط الادامة (الشكل G.2) بهدف اكثارها.

واكدت النتائج حدوث تباين في نسب استحداث كالس المعلقات الخلوية في الوسطين الثاني والثالث فقد بلغت نسبة تكوين منشآت الكالس في الوسط الثالث بعد مرور 3 أشهر من الزراعة في قطاعات الاكار 30% مقارنة بالوسط الاول (الجدول 2).

تمايز كالس المعلقات الخلوية وتكوين النباتات:

أظهرت النتائج ان الوسط (MS + 2.0 ملغم/لتر BA + 0.2 ملغم/لتر NAA) كان وسطاً مناسباً لتمايز الكالس وتكوينه للافرع الخضرية التي استغرقت في تمايزها 2–3 أسابيع وبلغ معدل عدد الافرع 7 فروع/ قطعة كالس (الشكل H.2). وأظهرت النتائج نجاح عملية تجذير الافرع الخضرية على وسط MS الصلب الخالي من منظمات النمو (الشكل I.2) بعدئذ نقلت النباتات بنجاح إلى التربة لغرض أقلمتها (الشكل J .2).



الشكل 2 : زراعة المعلقات الخلوية المشتقة من كالس سيقان الباقلاء في وسط MS الصلب المدعم بإضافة 1.0 ملغم/لتر NAA + 0.5 ملغم/لتر BA بتقانة قطاعات الاكار.

A : المعلق الخلوي المشتق من كالس السيقان في وسط MS السائل المدعم باضافة (1.0ملغم/لتر NAA + 0.5 ملغم/لتر BA) وبعمر 21 يوماً.

B : الانقسام الاول لخلايا المعلق الخلوي المطمورة في قطاعات الاكار (الجزء المؤشر) في الاسبوع الاول من الزراعة.

C : مواصلة الانقسام الخلوي للخلية في (B) وتكوينها مرحلة ثلاثية الخلية في الاسبوع الثاني من الزراعة.

D : تواصل انقسام الخلية في (C) وتكوينها مرحلة رباعية الخلية (لجزء المؤشر) بعمر 25 يوما من الزراعة.

E : تكوين المستعمرات الخلوية الناتجة من المرحلة (D) واستمرار الانقسامات الخلوية بعد مرور 45 يوما من الزراعة ومباشرة تكوين منشآت الكالس.

F : زيادة حجم منشآت الكالس (الجزء المؤشر) النامية في قطاع الاكار وانفصالها عنه بعد مرور 90 يوما من الزراعة.

G : نقل قطع الكالس من قطاعات الاكار في(F) الى وسط الادامة MS الصلب (1.0 ملغم/لتر NAA + 0.5 ملغم/لتر BA).

H : تمايز الكالس المشتق من المعلقات الخلوية وتكوين الافرع الخضرية (الجزء المؤشر) بعد مرور 3 اسابيع من الزراعة على وسط التمايز.

I : تجذير الافرع الخضرية المتكونة في (H) وتكوينها مجموعة جذرية (الجزء المؤشر) في وسط MS الخالي من منظمات النمو بعمر 3 اسابيع.

J : اقلمة النباتات الناتجة في (K) ونقلها الى التربة.

الجدول 2 : تكوين منشأت الكالس من زراعة كثافات متباينة من المعلقات الخلوية المشتقة من كالس الباقلاء في وسط MS بتقانة قطاعات الاكار بعد ثلاثة اشهر من الزراعة.

الوسط المستخدم (ملغرام/لتر)	الكثافات المزروعة (خلية/سم^3)	العدد الكلي للقطاعات المزروعة	العدد الكلي للمستعمرات الخلوية المتكونة	العدد الكلي لمنشأت الكالس المتكونة	عدد القطاعات المستحدثة للكالس	تكوين منشأت الكالس (%)
MS الخالي من منظمات النمو (المقارنة)	$10^3 \times 3.0$	5	0	0	0	0
	$10^3 \times 4.8$	12	6	4	4	33
BA 0.5 + NAA 1.0 + MS	$10^3 \times 5.6$	18	12	9	9	50
	$10^3 \times 3.7$	12	5	4	4	33
	$10^3 \times 2.9$	11	5	4	4	36
BA 0.5 + NAA 0.5 + MS	$10^3 \times 4.2$	15	9	7	6	40
	$10^3 \times 3.4$	14	8	6	5	36
	$10^3 \times 3.2$	20	7	6	5	25
2,4-D 2.0 +kin 2.0 + NAA 2.0 + MS	$10^3 \times 3.7$	20	10	7	6	30
	$10^3 \times 3.3$	12	5	4	4	33

تمثل القيم الواردة في الجدول معدلات ثلاثة مكررات لكل معاملة.

المناقشة

نعتقد ان الحصول على الكالس المشتق من زراعة المعلقات الخلوية لسيقان الباقلاء يعد خطوة مهمة في تجاوز بعض صعوبات تمايز هذا النبات البقولي من كالس الاجزاء النباتية. وقد أكدت نتائج الدراسة الحالية ان زراعة خلايا المعلقات بطمرها في قطاعات الاكار باعتماد المزارع الصلبة – السائلة باستخدام الوسط MS المدعم باضافات متباينة من منظمات النمو شجعت انقسام الخلايا المزروعة وتكوينها للكالس، حيث ذكرت احدى الدراسات الحديثة نجاح زراعة المعلقات المشتقة من كالس سيقان الباقلاء بطمرها في قطرات الاكار وتكوينها الكالس (الملاح وزيدان، 2004).

واشارت دراسة اخرى ان نجاح تقنية الطمر بالاكار في زراعة المعلقات الخلوية المشتقة من كالس النبات البقولي *Cyamopsis tetragonoloba* في وسط MS الصلب المدعم بإضافة نفثالين حامض الخليك وثنائي كلوروفينوكسي حامض الخليك شجعت تكوين المستعمرات الخلوية التي تطورت لاحقا إلى كالس، وقد أبدى هذا الكالس قابلية على التمايز وتكوين الافرع الخضرية (Saxena et al., 1982). ويبدو من هذا ان متطلبات النوع النباتي تتباين بالرغم من انتمائها الى نفس العائلة حيث في هذه الدراسة تبين ان الوسط المدعم باضافة NAA و BA اعطى اعلى نسبة من منشات الكالس المتكونة من زراعة الكثافات العالية

وذكرت دراسة اخرى ان خلايا المعلقات الخلوية المشتقة من كالس اوراق نباتات الجت *Medicago sativa* المزروعة بطمرها في الاكار باستخدام وسط UM المدعم باضافة 2,4-D تمكنت من تكوين الكالس خلال خمسة أسابيع (Cocking and Davey, 1980). ومن المحتمل ان يكون للوسط الزرعي المستخدم دورا في تشجيع انقسام خلايا هذه المزارع وتكوينها للكالس، حيث تكون الكالس في دراستنا هذه في وسط MS الصلب بمدة 12 اسبوعا. وأشارت دراسة اخرى ايضا إلى نجاح هذه التقنية في زراعة المعلقات الخلوية لانواع نباتية تابعة لعوائل نباتية اخرى فضلاً عن العائلة البقولية حيث تكونت مزارع الكالس من زراعة المعلقات الخلوية لنباتات الخس في اوساط MS مضافاً اليها مشتقات مركبات الترايازول بوصفها منظمات نمو (البياتي ومحمد، 2005). وهذا يؤكد نجاح طريقة الطمر في الاكار عند استخدامها مع افراد العوائل النباتية الاخرى وهذا يشجع اعتمادها مع الانظمة النباتية التي لا تستجيب او ضعيفة الاستجابة لتكوين الكالس في الوسط الزرعي.

ان قابلية كالس الباقلاء المشتق من المعلقات الخلوية على التمايز قد يُفسر إلى سلوك هذا الكالس نمطاً جديداً في نموه، يختلف عن نمط كالس الاجزاء النباتية، ومن المحتمل ان يعزى هذا الى نشأته من خلايا مفردة او كتلة من الخلايا غير المتخصصة التي قد تختلف عن تلك الخلايا الموجودة في الجزء النباتي المستحدث منه الكالس (زيدان، 2004). فضلا عن ان عملية تفكيك الكالس الى خلاياه وزراعة هذه الخلاياواعادة تكوينها للكالس، بمعنى اخر ان هذا التعامل العكسي مع الكالس من المحتمل ان اكسب الكالس قدرة واضحة على الانقسام. ومن المتوقع ان يعزى هذا الى الحالة الحرة لتواجد الخلايا في الوسط

الزرعي بعيدا عن تنافس هذه الخلايا مع بعضها عند وجودها في حالة النسيج مما انعكس على مسار نموه.

ومن المحتمل ان يعزى نشاط هذا الكالس على التمايز للدور الذي تؤديه زراعة الكثافات المختلفة التي لها دوراً مهماً في الانقسامات الخلوية وتكوين المستعمرات الخلوية التي تتطور تباعاً إلى بادئات الكالس (Dixon, 1985).

المصادر العربية

البياتي، جميلة هزاع وعبد المطلب سيد محمد، 2005. مشتقات من الترايازولات محضرة مختبرياً بدلا عن السايتوكاينينات القياسية في استحداث ونمو الخلايا المفردة والمعلقات الخلوية لنبات الخس (*Lactuca sativa* L.). مجلة علوم الرافدين، المجلد 16، العدد 6، ص210-217.

الملاح، مزاحم قاسم وزيدان، سهلة محمد، 2004. تقنية قطرات الاكار المتعددة في انتاج النباتات من زراعة المعلقات الخلوية المشتقة من كالس سيقان الباقلاء. التربية والعلم، المجلد 16، العدد 2، ص 35-47.

زيدان، سهلة محمد، 2004. الزراعة المرافقة للمعلقات الخلوية المشتقة من كالس السيقان مع بلازميدات Ri في الحصول على نباتات الباقلاء *Vicia faba* المحولة وراثيا. اطروحة دكتوراه، جامعة الموصل، الموصل، العراق.

المصادر الاجنبية

Anelia, I. and Trinh, T.H., 2000. Early Events of Direct Somatic Embryo Formation from Single Cell in *Medicago truncatula* Observed Using Green Flourescent Protein. Internet.

Binding, H. and Nehls, R., 1978. Regeneration of Isolated Protoplasts of *Vicia faba* L. Z. Pflanzenphysiol. Bd. Vol. 88, pp.327-332.

Braummell, D.A. and Hall, J.L., 1983. Regulation of Cell Wall Synthesis by Auxin and Fusicoccin in Different Tissues of Pea Stem Segments. Physiol. Plant. Vol. 59, pp.727-634.

Brikenhead, K. and Willmer, C.M., 1986. Some Biochemical Characteristics of Guard Cells and Mesophyll Protoplasts from *Commelina communis* J. Exp. Bot. Vol. 37, pp.119-128.

Cocking, E.C. and Davey, M.R., 1980. Organogenesis and Somatic Embryogenesis in Tissues Derived from Leaf Protoplasts and Leaf Explants of *Medicago sativa*. Z. pflanzenphysiol. Bd. Vol. 99, pp.261-270.

Cornelia, A. and Kohlenbach, H.W., 1989. Induction of Somatic Embryogenesis in Leaf Derived Callus of *Vicia narbonensis* Plant Cell Repts., Vol. 8, pp.267-269.

Dixon, R.A., 1985. Plant Cell Cultures, A Practical Approach. IRL Press, Oxford, UK.

Dodds, J.H. and Roberts, L.W., 1985. Experiments In Plant Tissue Culture. Cambridge Univ. Press, London, UK.

Kao, K.N., Gamborg, O.L., Miller, R.A. and Keller, W.A., 1971. Cell Division in Cells Regenerated from Protoplasts of Soybean and *Haplopappus gracilis.* Nature New Biol. Vol. 232, pp.124-128.

Morris, P. and Fowler, M.W., 1981. A New Method for the Production of Fine Plant Cell Suspension Culture. Plant Cell Tiss. and Org. Cult. Vol. 1, pp.15-14.

Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Cultures. Physiol. Plant. Vol. 15, pp.473-497.

Roper, W., 1979. Growth and Cytology of Callus and Cell Suspension Cultures of *Vicia faba* Z. Pflanzenphysiol. Vol. 93, pp.245-257.

Saxena, P.K., Rashid, A.G. and Maheshwari, S.C., 1982. Colony Formation by Cotyledonary Protoplasts of *Cyamopsis tetragonoloba.* Z. Pflanzenphysiol. Bd. Vol. 106, S. pp.277-280.

Staden, J.V., 1983. Short Term Metabolism of Different Concentrations of Zeatin Applied to Soybean Callus. Z. Pflanzenphysiol. Bd. Vol. 109, pp.163-169.