المحاضرة السادسة

أساسيات زراعة الكالسPrinciples of callus culture

من أجل نجاح تحفيز الكالس على النشوء وبنجاح من الضروري مراعاة ما يلي :

تحضير جزء نباتي معقمه سطحية وجاهزة للزراعة, انتخاب الوسط المناسب والتوليفة من منظمات النمو , حضن الزروعات تحت ظروف مسيطر عليها من ضوء وحرارة و رطوبة وغيرها. تفضل الأجزاء النباتية وهي في طور الحداثة وتلك المفصولة من البادرات و النموات الخضرية الحديثة والبراعم. تستجيب أنواع اخرى مختلفة من الاجزاء النباتية لنشوء الكالس مثل أطراف الجذور, نسيج اللحاء, الأجنة المتطورة, أجزاء الزهرة والورقة , الثمار , الدرنات , الأبصال وغيرها مع مراعاة استبعاد الخلايا الملكننة **(Lignified)** . تدخل خلايا الكالس في ثلاث مراحل تطورية (أ) الاستحثاث **(Induction)** (ب) انقسام الخلايا **(Cell division)** (ج) بدء التمايز **(Differentiation)** . تتحفز وتزداد عمليات الايض داخل الخلايا في المرحلة التطورية الأولى والتي يعتمد على طولها على الحالة الفسيولوجية للجزء النباتي, المتطلبات التغذوية , المحتوى الهرموني الداخلي, النقل القطبي لمنظمات النمو, اضافة الى العوامل البيئية. ونتيجة لزيادة معدلات أيض الخلية, يزداد تراكم الخلية من العوامل المشجعة على الانقسام لتكون كتلة خلوية بأعداد كبيرة من الخلايا. تكون الخلايا السفلية في تماس مع الوسط والاعلى منها تتغذى من انتشار المغذيات من الخلايا الواقعة اسفلها. يبدأ تمايز الخلايا في المرحلة الثالثة عندما تبدا مسالك حيوية معينة بالتعبير حيث بداية تراكم مواد الايض الثانوي. يظهر احيانا الكالس بالوان مختلفة (اصفر, اخضر, ابيض) في هذه المرحلة مع عدم استقراريه وراثية **(Genetic instability)** ينتج عنها تغايرات مظهرية قد تعزي الى عوامل تطورية فوق وراثية **(Epidgenetic)** او وراثية. قسم الكالس **(Subculture)** بعد وصوله لحجم مناسب لفتره قد تصل الى 21–28 يوم واذا كانت الكتلة صغيرة, يعاد نقلها الى وسط جديد **(Reculture)** لإتاحة الفرصة لها بالوصول الى حجم مناسب. يعاد زراعة الكالس عموما على وسط جديد بفترة تتراوح من 3 الى 4 اسابيع بتقسيم قطع الكالس الى اوزان 250–500 ملغم تحصل حاله من التطبع **(Habituation)** كنتيجة لاستمرار نمو الكالس في وسط الادامة بوجود منظمات النمو حيث تتمكن قطع الكالس وبمرور الزمن من النمو في وسط خال من المنظمات وهذا ما يطلق عليه بالتطبع الهرموني **(Hormone habituation)** ومن الصعب التمييز بين نوعي الكالس العادي والمتطبع للنمو دون هرمونات عدا قابلية الأخير للنمو من دونها . يفيد ذلك بتقليل أو حذف كلف منظمات النمو وتقليل خطوات العمل والتخلص من احتمالية الخطأ في تحضير تراكيز المنظمات وغيرها من الفوائد.

منظمات النمو

تؤثر ولحد كبير اضافة منظمات النمو الى الوسط الغذائي في استحثاث الكالس على النشوء . واعتمادا على طبيعة الجزء النباتي وهيئته الوراثية ومحتواه الداخلي من الهرمونات, يتطلب احتياجه من منظمات النمو الى ثلاثة مجاميع , اما أوكسينات فقط, أو سايتوكاينينات فقط أو توليفة من الاثنان.

تطبيقات مزارع أنسجة الكالس

تكون مزارع الكالس بطيئة النمو في وسط مستقر **(Static)** مما يسمح بإجراء العديد من الدراسات المتعلقة بالنمو, التمايز والايض وغيرهما وكما مبين أدناه:

1.دراسة الاحتياجات الغذائية للنبات من خلال دراستها على المستوى الخلوي اولا.

2.دراسة تمايز الخلايا والأعضاء والعمليات الفسيولوجية والجزيئية المرافقة لها.

3. نشوء مزارع المعلقات الخلوية والبروتوبلاست والحصول على خلايا مفردة.

4.التحري والاستفادة من التغايرات الجسمية الناتجة من الاخلاف غير المباشر من الكالس.

5.سهلت خلايا الكالس كثيرة في اجراء التحولات الوراثية **(Genetic transformation)** لسهولة عزل الخلايا المفردة منها وهندستها وراثية.

6.وظفت مزارع الكالس في دراسة وانتاج مركبات الايض الاولي والثانوي وتنظيمهما.