**أنواع البيئات المستخدمة في زراعة البروتوبلاست:**

**بيئة سائلة (Liquid Medium):**

يزرع البروتوبلاست في بيئة مغذية سائلة تحتوي العناصر اللازمة لتنشيط النمو والإنقسام ، ثم تُحضّن المزرعة على درجة حرارة 25 مئوية في الظلام التام أو الضوء الخافت، وعموماً يفضل زراعة البروتوبلاست في طبقة رقيقة من البيئة المغذية وذلك لتسهيل التبادل الغازي بين البروتوبلاست والجو المحيط حيث أن هذا له تأثير كبير على كفاءة إنقسام البروتوبلاست.



**بيئة صلبة (Solid Medium):**

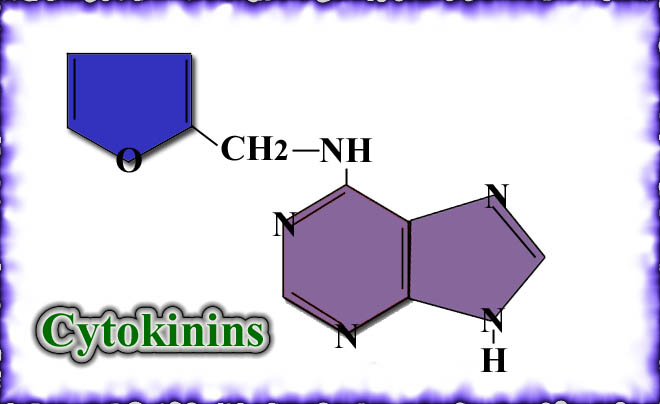
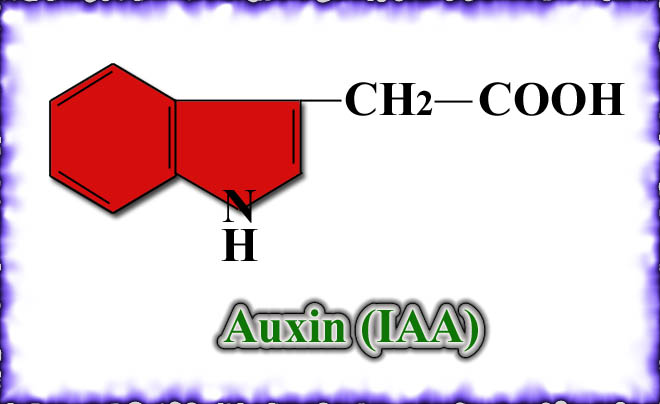
في هذه الطريقة يفصل البروتوبلاست وينقل إلى بيئة مغذية سائلة ، ثم تنقل المحتويات إلى حجم متساوي من البيئة المغذية التي تحتوي آجار ويخلط المزيج ويترك حتى تتحول البيئة إلى الصورة الصلبة ، وبعد ذلك تحضن المزرعة على حرارة 25 درجة مئوية في الظلام (**Gamborg et al 1975**)



**وعموماُ توجد عدة مواصفات يجب توفرها في البيئة المستخدمة لزراعة البروتوبلاست:**

1. أثبتت الأبحاث أن البروتوبلاست لا تحتاج إلى نسبة مرتفعة من الحديد، الزنك والأمونيوم في البيئة المغذية وذلك مقارنة بالبيئات الشائع إستخدامها في مجال زراعة الأنسجة.
2. زيادة تركيز الكالسيوم في البيئة المغذية يساعد على المحافظة على سلامة الغشاء البلازمي للبروتوبلاست وعدم إنفجاره



1. يحتاج البروتوبلاست إلى أكسين وسيتوكينين وذلك لتنشيط تكون الجدار الخلوي وكذلك تشجيع الإنقسام الخلوي.

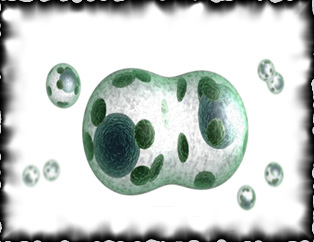
**ملاحظة:**

يعتمد نجاح زراعة البروتوبلاست على مقدرتها على تكوين جدار خلوي حيث يبدأ تكونه سريعاً بعد زراعة البروتوبلاست في بيئة مغذية وهو أمر هام لحدوث الإنقسام الخلوي، حيث تنقسم النواة في البروتوبلاست حتى في غياب الجدار الخلوي ولكن يتوقف تكون جدار فاصل بين النواتين.

**دمج البروتوبلاست (Protoplast fusion):**

أهم إستخدامات البروتوبلاست من وجهة النظر التطبيقية هو إستخدامها لإنتاج هجن جسدية وهذا النوع من الهجن ذو أهمية كبيرة في النباتات عديمة التوافق الذاتي والتباتات التي يصعب فيها إستخدام طرق التربية التقليدية.

ويمكن أن يحدث إندماج تلقائي للبروتوبلاست خلال عملية الفصل وبالتالي يتكون بروتوبلاست عديد الأنوية ثم يتكون الجدار الخلوي وينقسم البروتوبلاست ليعطي نبات كامل، ولكن في الواقع فإن الإندماج التلقائي ليس له قيمة إقتصادية لأنه لا يمثل هجين جسدي حيث يحدث الإندماج بين نواتين متشابهتين في التركيب الوراثي.



وللحصول على هجين جسدي فإنه يجب حدوث إندماج بين نواتين غير متشابهتين في التركيب الوراثي أي إندماج إثنين من البروتوبلاست المتباين في التركيب الوراثي.

**الهجن الجسدية (Somatic Hybrid):**

الهجن الجسمية وهي الناتجة من دمج الخلايا أو البروتوبلاست لتكوين جينوم (**Genome**) جديد.

**ملاحظة:**

من الصعوبات التي تقلل من إمكانية حدوث دمج للبروتوبلاست هي أن السطح الخارجي للبروتوبلاست يحمل شحنة سالبة وبالتالي هذا يؤدي إلى حدوث تنافر بين البروتوبلاست وبعضها في البيئة المغذية وبالتالي لنجاح عملية الدمج يجب تقليل الشحنة على سطح البروتوبلاست.