اكثار بعض هجن الطماطة (*Lycopersicon esculentum* Mill.) باستخدام تقنية زراعة الانسجة

In vitro propagation of some tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) hybrids

كاظم محمد إبراهيم حمزة موسى كاظم* علي عبادي مانع*

كلية العلوم / جامعة النهرين /بغداد/ العراق
*الكلية التقنية / المسيب / بابـــل/ العراق

المستخلص

زرعت بذور اربعة هجن من الطماطة وهي Ginan ، Nirita ، Speedy و Rola على الوسط الغذائي الخاص بالانبات بعد ان عقمت باستخـــدام تراكيز مختلفة من هايبوكلورات الصـــوديوم (0 ، 1 ، 2 ، 3 و4%) . اخذت البادرات النامية على الوسط الغذائي واستئصلت القمم النامية منها بطول 1سم ولجميع الهجن ، وزرعت على اوساط غذائية جديدة زودت بتراكيز مختلفة من منظمات النمو Benzyl adenine (BA) و Indole acetic acid (IAA) بهدف الحصول على افضل وسط للتضاعف الخضري . اجريت تجربة اخرى لاستحثاث الكالس من زراعة السويقة الجنينية السفلى لهجن الطماطة الاربعة على وسط غذائي مزود بتراكيز مختلفة من BA لتحديد افضل تركيز ملائم لنشوء الكالس ، حضنت الزروعات تحت شدة اضاءة 1000 لوكس وعلى درجة حرارة 25±1 م واخذت البيانات بعد 40 يوم من الزراعة . اظهرت النتائج تفوق التركيز 4% NaOCl في تعقيم بذور الهجن والحصول على بادرات خالية من التلوث ، وبينت النتائج تفوق التركيز 2 ملغم/ لتر BA مع 0.8 ملغم/لتر IAA معنوياً في الحصول على افضل تضاعف خضري للهجن الاربعة من زراعة القمم النامية كما اشارت النتائج الى تفوق التركيز 4 ملغم/ لتر BA معنوياً في استحثاث الكالس ، اذ تفوق هذا التركيز معنوياً في معدل الوزن الطري والجاف للكالس مقارنة ببقية المعاملات .

Abstract

Seeds of four tomato hybrids Ginan, Nirtia, Speedy and Rola were cultured on aseptic germination medium after surface sterilization with NaOCl. Shoot tips 1cm length were dissected and grown on MS medium supplemented with Benzyl adenine (BA) and Indole acetic acid (IAA) for multiplication. Callus was induced on hypocotyls cultured on MS medium supplemented with BA under light intensity of 1000 lux and 25 ^{0}C. Results showed that NaOCl at 4% completely disinfected seeds and resulted in pathogen free seedlings.

Results also showed that a concentration of 4 mg/l of BA was superior in increasing callus fresh and dry weights. Shoot multiplication was achieved on the same medium supplemented with 2 and 0.8 mg/l of BA and IAA respectively.

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

المقدمة

تعد الطماطة محصولاً مهما في معظم بلدان العالم لقيمتها الغذائية العالية ولاستعمالاتها المتنوعة وغالباً ما تزرع الاصناف الهجينة ذات الصفات الجيدة من حيث مقاومتها للامراض وغزارة انتاجها [1] . ان بذور هجن هذه الاصناف مستوردة وتباع بالعملة الصعبة وبأسعار باهضة الثمن من قبل شركات عالمية متخصصة. ان البحث عن امكانية اكثار تلك الاصناف الهجينة بطرق غير تقليدية لاتعتمد عل البذرة يمكن ان يوفر مبالغ طائلة بالاستغناء عن استيراد بذور تلك الاصناف . على هذا الاساس جاءت فكرة هذا البحث باكثار الاصناف الهجينة باستخدام تقنية زراعة الانسجة والتي تعني عزل نسيج او عضو نباتي تحت ظروف خالية من المسببات المرضية وتعقيمه وزراعته على اوساط غذائية معقمة ايضاً . ومن ثم تطور الجزء المزروع تحت ظروف مسيطر عليها من حيث الحرارة والضوء [2] . فقد امكن استعمال القمم النامية للبادرات المعقمة كمصدر للاكثار خارج الجسم الحي للحفاظ على صفات النوع من التدهور والانعزال الوراثي عند استعمال البذور بالاضافة الى الحصول على نباتات خالية من الامراض [3] ، ذكر [4] بان افضل تضاعف تم الحصول عليه عند زراعة القمم النامية للصنف Fantastic على الوسط الغذائي MS المجهز بـ 5 ملغم/ لتر BAP . ولشار [5] بامكانية اكثار هجن الطماطة باستعمال القمم النامية للبادرات المعقمة. كما ذكرت [6] ان افضل استجابة للتضاعف تم الحصول عليها عند زراعة القمم النامية لهجن الطماطة. وظراً لقلة الدراسات حول اكثار اصناف الطماطة الهجينة ، فقد استهدف هذا البحث اكثار الهجن بواسطة تقنية زراعة الانسجة باستخدام القمم النامية وتحديد التركيز المناسب للتضاعف الخضري بهدف انتاج شتلات من هجن الجيل الاول، دون الحاجة الى استيرادها سنويا .

المواد وطرائق العمل

استخدمت اربعة هجن من الطماطة ذات النمو المحدود وهي جنان ، ناريتا ، سبيدي و رولا . أخذت 50 بذرة من كل هجين ووضعت في وعاء زجاجي سعة 100سم^3 ثم اضيف لها الكحول الاثيلي C_2H_5OH بتركيز 70% مع التحريك المستمر لمدة 2 دقيقة، ثم غسلت بالماء المقطر مرة واحدة وبعد ذلك استخدمت هايبوكلورات الصوديوم بـ 5 تراكيز 0 ، 1، 2 ، 3 و 4 % اذ قسمت بذور كل هجين الى خمسة مجاميع يحتوي كل منها على عشرة بذور وتم تعقيمها بالتراكيز المختلفة من هايبوكلورات الصوديوم في أوعية زجاجية معقمة سعة 50سم^3 لمدة 10 دقيقة بعد ذلك غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات لازالة اثار المادة المعقمة. زرعت بذور الهجن المعقمة على الوسط الغذائي (MS) [7] وعندما اصبحت البادرات بعمر 14 يوم وبطول 4 سم قطعت اطراف الافرع Shoot tips بطول 1 سم وزرعت على وسط MS كامل القوة من الاملاح والمزود بالفيتامينات والسكروز وبتراكيز مختلفة من منظم النمو BA وهي 0.0، 0.5، 1.0، 1.5 و 2.0 ملغم/ لتر بالتداخل مع تراكيز مختلفة من منظم النمو IAA وهي 0.0 ، 0.2 ، 0.4 و 0.8 ملغم/لتر واستعملت عشرة مكررات لكل معاملة وحضنت الزروعات في غرفة النمو تحت درجة حرارة 25±1°م وشدة اضاءة 1000 لوكس ولمدة 16 ساعة/ يوم . اخذت النتائج المتعلقة بعدد الافرع واطوالها بعد اربعة اسابيع من الزراعة. زرعت السويقة الجنينية السفلى المعقمة على الوسط الغذائي MS والمجهز باربعة تراكيز مختلفة من BA وهي 0، 1، 2 و 4 ملغم/لتر داخل انابيب الزراعة وبواقع جزء نباتي واحد لكل انبوب زراعة . حضنت الزروعات تحت شدة اضاءة 1000 لوكس ودرجة حرارة 25±1مئوي وتركت لفترة خمسة اسابيع واخذت القياسات على الزروعات اذ

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

تم تحديد التركيز المناسب من الـ BA في استحثاث الكالس بعد حساب الوزن الطري والجاف للكالس عند كل تركيز .

التحليل الاحصائي

حللت البيانات الخاصة بالتجارب المختبرية والتجارب الحقلية احصائيا بوصفها تجارب عاملية باستخدام التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (CRD) ، وحسب اقل فرق معنوي (LSD) على مستوى احتمال 0.05 [8].

النتائج والمناقشة

تعقيم بذور الهجن

يبين جدول (1) تاثير هايبوكلورات الصوديوم في الحد من تلوث بذور الهجن ، فقد بلغت نسبة التلوث 100% في جميع الهجن عند معاملة المقارنة (بدون استخدام هايبوكلورات الصوديوم) . وانخفضت نسبة التلوث مع زيادة نسبة تركيز المادة المعقمة، اذ يلاحظ عند زيادة تركيز NaOCl الى 3% فان نسبة التلوث في الهجينين ناريتا ورولا بلغتا 10 و 20% على التوالي بينما كانت هذه النسبة صفر للهجينين جنان وسبيدي عند هذا التركيز. في حين لم يظهر أي تلوث في جميع الهجن عند استعمال التركيز 4% . يلاحظ ان الهجن اختلفت في استجابتها للتعقيم وقد يعود هذا الاختلاف الى العوامل الوراثية و المورفولوجية الخاصة بالصنف اما بخصوص تراكيز هايبوكلورات الصوديوم فقد ذكر [9] بامكانية استخدام هذه المادة بمدى واسع من التراكيز يتروح بين (1- 12%) دون حدوث اضرار بالبذور المعقمة .

جدول (1) : تاثير هايبوكلورات الصوديوم على تعقيم بذورهجن الطماطة

الهجن / تركيز NaOCl (%)	% التلوث الهجن			
	جنان	ناريتا	سبيدي	رولا
0	100	100	100	100
1	70	80	70	80
2	40	50	30	60
3	0	10	0	20
4	0	0	0	0

التضاعف الخضري

1. **تاثير تركيز كل من BA، IAA والهجين في عدد الافرع**

تشير النتائج في الشكل (1- أ) بان عدد الافرع ازداد معنوياً مع زيادة تركيز BA ، اذ اعطى التركيز 2 ملغم/ لتر زيادة بلغت 11 مرة عن معاملة المقارنة. واظهرت النتائج في الشكل (1- ب) ان لتركيز IAA تاثيراً معنوياً على معدل عدد الافرع، اذ سلكت النتائج سلوكا مشابهاً لتاثير BA واعطى التركيز 0.8 ملغم / لتر اعلى معدل [illegible] 3.5 مرة عن معاملة المقارنة.

وتبين النتائج في الشكل (1- جـ) وجود فروقات معنوية بين الهجن في معدل عدد الافرع ، اذ اعطى الهجين رولا اعلى معدل للافرع بلغ 0.92 فرعاً في حين اعطى الهجين سبيدي اقل عدد من الافرع بلغ 0.67 فرعاً .

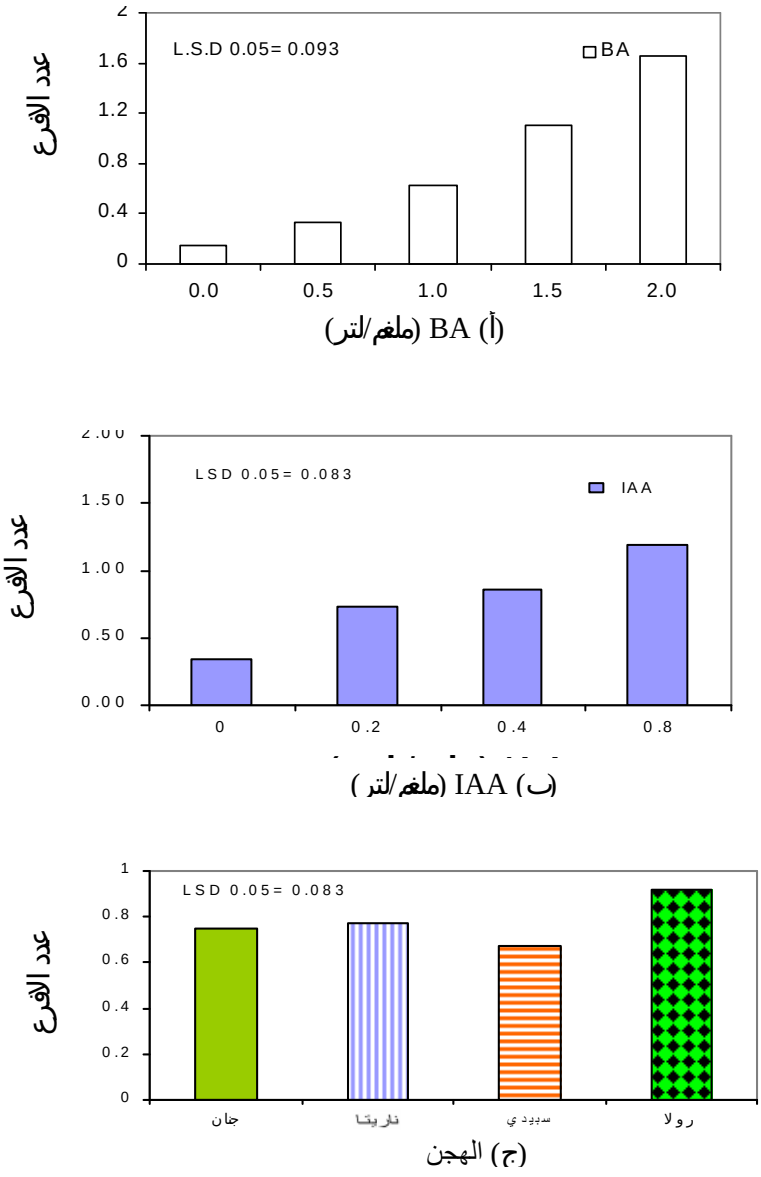
وتشير النتائج في الجدول (2) ان التداخل الثلاثي بين BA وIAA والهجن يؤثرمعنوياً في معدل عدد الافرع ، اذ اعطى الهجين جنان اعلى معدل للافرع في الوسط الذي يحتوي على BA و IAA بتركيز 0.8 ملغم/لتر حيث بلغ ثلاثة افرع . كما يلاحظ ايضاً بأن الهجن

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

الاربعة المستمرة في النمو فقط دون حدوث أي تضاعف لها في الوسط الخالي من BA و IAA .

وبصفة عامة اوضحت النتائج في الجدول (2) ان استجابة الهجن للتضاعف الخضري أزداد مع زيادة تركيز BA و IAA في الوسط الغذائي وأختلفت باختلاف الهجن وقد يعزى ذلك الى دور الاوكسينات والسايتوكاينينات في انقسام الخلايا النباتية ونموها وتمايزها وقد يرجع اختلاف استجابة الهجن لمستويات BA و IAA الى التباين في تركيبها الوراثي وهذا يتفق مع ما ذكره[11,10,6] .

(أ) BA (ملغم/لتر)



(ب) IAA (ملغم/لتر)

(ج) الهجن

شكل (1) : تاثير تركيز BA و IAA (ملغم/ لتر) والهجين على معدل عدد الافرع في مرحلة التضاعف

أ- تاثير تركيز BA (ملغم/ لتر) على معدل عدد الافرع

ب- تاثير تركيز IAA (ملغم/ لتر) على معدل عدد الافرع

جـ- تاثيرالهجين على معدل عدد الافرع

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

جدول (2) : تاثير التداخل بين تركيز BA و IAA (ملغم/ لتر) ونوع الهجين على معدل عدد الافرع في مرحلة التضاعف

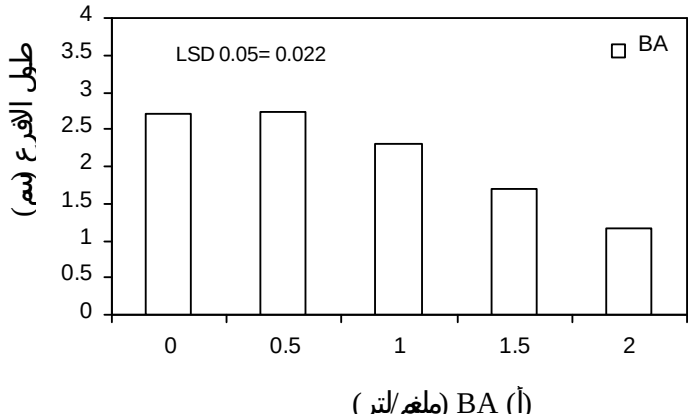
IAA	BA	جنان	ناريتا	سبيدي	رولا
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	0.5	0.1	0.1	0.1	0.1
	1.0	0.3	0.2	0.5	0.4
	1.5	0.5	0.5	0.6	0.5
	2.0	0.6	0.8	0.6	0.9
0.2	0.0	0.1	0.2	0.4	0.4
	0.5	0.3	0.4	0.3	0.5
	1.0	0.4	0.5	0.4	0.8
	1.5	1.1	0.9	0.9	1.2
	2.0	1.5	1.3	1.2	1.7
0.4	0.0	0.1	0.1	0.1	0.2
	0.5	0.4	0.2	0.4	0.6
	1.0	0.8	0.4	0.8	1.1
	1.5	1.2	1.2	0.9	1.6
	2.0	1.9	1.5	1.5	2.1
0.8	0.0	0.2	0.4	0.2	0.1
	0.5	0.4	0.5	0.4	0.6
	1.0	0.9	1.0	0.5	1.0
	1.5	1.2	2.4	1.1	2.0
	2.0	3.0	2.8	2.6	2.7
LSD 0.05	0.374				

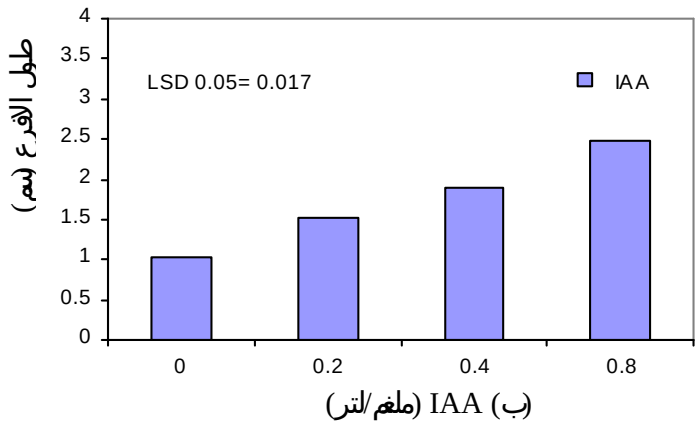
تاثير كل من تركيز BA ، IAA والهجين على معدل طول الافرع

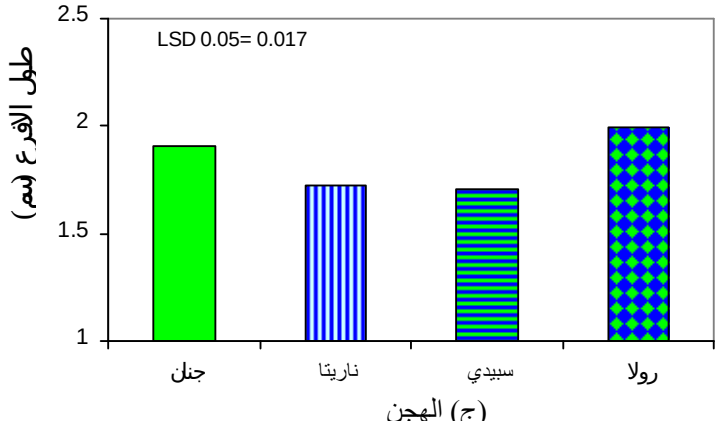
تشير النتائج في الشكل (2 أ) بان زيادة تركيز BA قل من طول الافرع، اذ اعطى التركيز 0.5 ملغم/ لتر اعلى معدل لطول الافرع بلغ 2.73 سم ولم يختلف معنوياً عن معاملة المقارنة . كما يتضح من الشكل (2 ب) ان تراكيز IAA أثرت معنوياً في معدل طول الافرع ، اذ يلاحظ ان معدل هذه الصفة أزداد طردياً مع زيادة التركيز وقد كانت نسبة الزيادة 2.3 مرة عند استعمال IAA بتركيز 0.8 ملغم/ لتر عن معاملة المقارنة .

واظهرت البيانات في الشكل (2 جـ) ان استجابة الهجن تباينت لطول الافرع ، اذ اعطى الهجين رولا اعلى معدل لهذه الصفة بلغ 1.99 سم ، بينما اظهر الهجين سبيدي اقل طولاً للافرع بلغ 1.71سم .

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional







شكل (2) : تاثير تركيز BA و IAA (ملغم/ لتر) ونوع الهجن على معدل طول الافرع في مرحلة التضاعف
أ تاثير تركيز BA (ملغم/ لتر) على معدل طول الافرع
ب تاثير تركيز IAA (ملغم/ لتر) على معدل طول الافرع
جـ تاثير نوع الهجين على معدل طول الافرع

وتشير النتائج في الجدول (3) بان التداخل الثلاثي بين الافرع ، اذ بلغ اعلى معدل لهذه الصفة 3.80 عند اضافة BA وذلك مع IAA بتركيز 0.8 ملغم/ لتر وعدم أضافة جن أثر معنوياً في معدل طول

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

الهجين رولا في حين بلغ اقل طول للافرع 0.73 عند عدم اضافة IAA وبوجود BA بتركيز 2.0 ملغم/ لتر مع الهجين ناريتا .

كما يلاحظ من الجدول (3) ان طول الافرع ازداد مع زيادة تركيز IAA وقل مع أنخفاض تركيز BA في الوسط الغذائي وقد اختلفت الاستجابة باختلاف الهجن .

وقد يعود ذلك الى دور الاوكسينات في استطالة الخلايا النباتية اذ ان زيادة تركيزها سبب تلك الاستطالة ضمن مدى معين تبعاً لاختلاف الانسجة وعمرها الفسيولوجي . وهذه النتائج تتفق مع نتائج الباحثين [12 , 13] .

جدول (3) : تاثير التداخل بين مستويات BA و IAA والهجن على معدل طول الافرع على مرحلة التضاعف

IAA	BA	جنان	ناريتا	سبيدي	رولا
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	0.5	1.85	1.65	1.70	1.90
	1.0	1.51	1.32	1.37	1.55
	1.5	1.23	1.15	1.04	1.26
	2.0	0.84	0.73	0.76	0.85
0.2	0.0	2.95	2.77	2.70	3.00
	0.5	2.25	2.30	2.00	2.26
	1.0	2.42	2.17	1.97	2.45
	1.5	1.41	1.19	1.15	1.44
	2.0	1.09	0.86	0.94	1.00
0.4	0.0	3.40	3.20	3.10	3.45
	0.5	2.88	2.75	2.58	2.91
	1.0	2.42	2.17	1.97	2.45
	1.5	1.86	1.67	1.56	1.91
	2.0	1.31	1.14	1.01	1.37
0.8	0.0	3.55	3.32	3.35	3.80
	0.5	3.32	3.02	3.15	3.53
	1.0	3.13	2.76	2.80	3.18
	1.5	2.33	2.13	2.40	2.41
	2.0	1.59	1.30	2.00	1.62
LSD 0.05 للتداخل	0.105				

استحثاث الكالس

تاثير تركيز BA والهجين والتداخل بينهما في الوزن الطري للكالس

اظهرت النتائج في الجدول (4) ان مستويات BA قد أثرت معنوياً في الوزن الطري للكالس ، اذ بلغ اعلى وزن للكالس 2041.09 ملغم عند اضافة BA بتركيز 4 ملغم/ لتر واظهرتفوقا معنويا على بقية المعاملات. بينما بلغ اقل وزن للكالس 19.83 ملغم عند اضافة BA بتركيز 1 ملغم/ لتر . كما حصلت فروقات معنوية في استجابة هجن الطماطة الاربعة لتكوين الكالس، اذ اعطى الهجين جنان اعلى وزن للكالس بلغ 777.78 ملغم ، في حين اعطى الهجين ناريتا اقل وزن للكالس بلغ 520.53 ملغم .

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

ويلاحظ من الجدول (4) ايضا وجود تداخل معنوي بين مستويات BA والهجن في معدل الوزن الطري للكالس، فقد اظهرت جميع الهجن تفوقاً في معدل وزن الكالس مع زيادة تركيز BA . اذ اعطى الهجين جنان اعلى وزن للكالس عند اضافة BA بتركيز 4 ملغم/ لتر وبلغ 2512.96 ملغم . في حين بلغ اقل وزن للكالس في الهجين ناريتا 108.30 ملغم عند اضافة BA بتركيز 1.0 ملغم/ لتر .

جدول (4) : تاثير BA ونوع الهجين والتداخل بينهما على الوزن الطري للكالس (ملغم)

الهجن / BA	جنان	ناريتا	سبيدي	رولا	معدل BA
0	0	0	0	0	0
1.0	135.08	108.30	126.80	109.16	119.83
2.0	463.08	315.60	401.88	419.62	400.05
4.0	2512.96	1658.22	2186.34	1806.84	2041.09
LSD 0.05 للتداخل	52.097				LSD (BA) 26.04
معدل الهجن	777.78	520.53	678.0	583.90	
LSD للهجن	26.04				

تاثير الـ BA ونوع الهجين والتداخل بينهما على الوزن الجاف للكالس

تبين نتائج الجدول (5) ان مستويات BA قد أثرت معنوياً في الوزن الجاف للكالس، حيث يلاحظ ان معدل هذه الصفة ازداد مع زيادة تركيز BA و بلغ اعلى معدل للوزن الجاف عند اضافة BA بتركيز 4 ملغم/ لتر . كما يلاحظ وجود فروقات معنوية بين الهجن في معدل الوزن الجاف للكالس ، اذ اعطى الهجين جنان اعلى وزن جاف بلغ 61.05 ملغم. في حين اعطى الهجين ناريتا اقل وزن جاف للكالس بلغ 409.2 ملغم . لها التداخل بين مستويات BA والهجن فقد أثرت معنوياً على الوزن الجاف للكالس، حيث بلغ أقصاه عند اضافة BA بتركيز 1 ملغم/ لتر في الهجين جنان. في حين وصل الى اقل ما يمكن عند اضافة BA بتركيز 1 ملغم/ لتر في الهجين ناريتا . وقد يرجع اختلاف الهجن في قابليتها على استحثاث الكالس الى اختلاف محتواها من الهرمونات الطبيعية بسبب الاختلافات في التراكيب الوراثية لهذه الهجن . وهذا يتفق مع ما وجده [14].

جدول (5): تاثير BA ونوع الهجين والتداخل بينهما على الوزن الجاف للكالس (ملغم)

الهجن / BA	جنان	ناريتا	سبيدي	رولا	معدل BA
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1.0	17.08	13.66	15.62	13.76	15.03
2.0	62.46	41.64	54.12	56.46	53.67
4.0	164.68	108.40	142.94	118.04	133.51
LSD 0.05 للتداخل	3.712				LSD (BA) 1.856
معدل الهجن	61.05	40.92	53.17	47.06	
	1.86				

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

المصادر

1. حسن، أحمد عبد المنعم. 1988، الطماطم. الدار العربية للنشر والتوزيع القاهرة ، ص27.
2. حمد، عبد المطلب سيد وعمر، مبشر صالح . 1990. المفاهيم الرئيسة في زراعة الخلايا و الانسجة والاعضاء للنبات. جامعة الموصل. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .
3. Dodds, J. H. and L. W. Roberts.1995. Experiments in Plant Tissue Culture. 3rd.ed. Cambridge Univ. Press. p 111.
4. Schnapp, S. R. and P. J. E. Preece 1986. *In Vitro* growth reduction of tomato and carnation microplants. Plant Cell, Tissue, Organ culture. 6:3-8.
5. Locy, R. 1998. Plant Biology Laboratory/ tissue culture laboratory manual. www.auburn.edu/ loc rob/teaching /lab.manua1l/tiscul.
6. الكعبي ، اخلاص عبد الكريم . 2000 . اكثار اربعة هجن من الطماطة باستخدام تقنية زراعة الانسجة . رسالة ماجستير. قسم البستنة. كلية الزراعة. جامعة بغداد. العراق .
7. Murashige, T and F.Skoog. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol.Plant. 15: 473-497.
8. الساهوكي ، مدحت ووهيب ، كريمة محمد. 1990. تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب. جامعة بغداد. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جمهورية العراق .
9. Sink, K. and J.Reynolds.1986. Tomato (*Lycoperscon esculentum* Mill.)In: Bajaj. Y.P.S. (Ed): Biotechnology in Agriculture and Forestry.Vol.2. Crops I. Springer- Verlag, Berlin Heidelberg.pp.318-344.
10. Skoog, F. and C.O. Miller. 1957. Chemical control of growth and bud formation in tobacco segments and callus cultured *in vitro*. J. Bot. 35: 782-790.
11. Shamshad, G .M., Ahmed, C. M. S. and M. Tahir. 1999. *In vitro* shoot regeneration of tomato through stem and leaf explants. Pakistan, Journal of Arid Agriculture. Vol. 2 (1): 7-14.
12. Branca, C., Bucci, G., Domiano, P., Ricci, A., Torelli, A. and M. Bassi. 1991. Auxin structure and activity on tomato morphogenesis *in vitro* and pea stem elongation. Plant-Cell-Tissue and Organ Culture. 24 (2):105-114.
13. الصالحي ، علي عبد الامير مهدي. 1994. استجابة سبعة اصناف من البطاطا *Solanum tuberosum* L. للزراعة النسيجية. رسالة ماجستير . كلية الزراعة جامعة بغداد العراق.
14. Abo–Shady, A., Ghanem, S.A., EL–Bahr, M.K., Osman, M.E. and M.M.Saker. 1993. Callus induction and plant regeneration from calli of different explants of tomato. Egypt. J. Hort. 20 (2): 355- 371.

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional