Induction of indirect somatic embryogenesis for two hybrids of *Lycopersicon esculemtum* Mill.

استحثاث الأجنة الجسمية غير المباشر لهجينين من الطماطة *Lycopersicon esculentum* Mill. خارج الجسم الحي

صالح محسن بدر
وزارة الزراعة

محمد شهاب حمد
كلية الزراعة/جامعة بغداد

فرقد محمد كاظم الدباغ
وزارة الزراعة

المستخلص:

أظهرت النتائج بأن زراعة الأوراق الفلقية في وسط الـ MS المجهز بـ 80 غم\لتر من السكروز وتوليفة من BA وNAA بتركيز 0.1 و 3 ملغم\لتر على التوالي لهجيني الطماطة الشروق و GS-12 أعطى كالسا" جنينيا" هشا" بوزن طري يقل عن 200 ملغم للمكرر الواحد والذي استخدم في أوساط استحثاث النشوء غير المباشر للأجنة الجسمية. أشارت النتائج الى أن التداخل بين BA و IAA بالتركيز 2 ملغم\لتر لكل منها أعطى أعلى معدل لعدد الأجنة الجسمية المتكونة من كالس الهجينين والبالغة 6.500، 2.100 جنين جسمي على التوالي، في حين أعطى التداخل بين الـ BA و2,4-D بتركيز 2 ملغم\لتر لكل منهما معدل عدد أجنة جسمية بلغ 9.500 جنين لهجين الشروق و 9.700 جنين جسمي لهجين الـ GS-12.

ABSTRACT:

This study was conducted to determine the effect of different combinations of auxins(NAA, IAA and 2,4-D) and BA on somatic embryogenesis from callus which induced from cotyledenous leaves for AL-Chroorouk and GS-12 tomato hybrids. The results showed that the explants of two tomato hybrids cultured on MS medium supplemented with 80 g/l sucrose; 0.1 mg/l BA and 3 mg/l NAA gave friable embryonic callus with fresh weight less than 200 mg for a replicate. This callus was used for indirect somatic embryogenesis. The interaction of BA and IAA in 2 mg/l for both plant growth regulators resulted in higher number of somatic embryos initiated from Al- Choorouk and GS-12 callus; it was 6.5 and 2.1 embryos respectively. However, BA + 2,4-D in 2 mg/l from both compounds gave 9.5 embryos for Al- Choorouk hybrid and 9.7 embryos for GS-12 hybrid.

المقدمة:

تعد الطماطة من محاصيل الخضر المهمة والشائعة في العالم إذ يأتي أنتاجها ثانيا" بعد محصول البطاطا والذي بلغ في عام 2006، 1.3 بليون طن متري في حين بلغت المساحة المزروعة 4.6 مليون هكتار(1). تزرع الطماطة في الحقول المكشوفة والبيوت المحمية وهي تتبع العائلة الباذنجانية Solanaceae التي تضم 90 جنسا" و3000 نوعا" من النباتات (2، 3). لا تنحصر قابلية النباتات المزهرة على تكوين الأجنة من البيضة المخصبة فقط بل يمكن للخلايا الجسمية المفصولة من أجزاء نباتية مختلفة أن تكون أجنة جسمية عند زراعتها تحت ظروف مناسبة من المغذيات ومنظمات النمو النباتية نظرا" لما تملكه هذه الخلايا من قابلية وراثية تمكنها من تكوين نبات كامل (4). نفذ كل من (5) و (6) العديد من التجارب البحثية على نبات البنج Henbane (*Hyoscyamus* muticus L.) الذي يعود للعائلة الباذنجانية وتوصلا إلى استحثاث الكالس العقدي ذي التراكيب الجنينية من زراعة الأوراق الفلقية المستأصلة من بادرات هذا النبات على وسط MS (Murashige and Skoog)(7) المجهز بالـ BA (Benzyl adenine) وNAA (Naphthalene acetic acid) بالتركيز 0.5 ملغم\لتر لكل منهما وأعطى هذا الوسط عند أعادة زراعة الكالس الجنيني عليه الأجنة الجسمية بكافة أطوارها، كما أجرت الباحثة Plevnes (8) دراسة كان الهدف منها تقييم الدور الذي تلعبه عدد من منظمات النمو النباتية في نشوء الأجنة الجسمية من كالس الطماطة الجنيني، إذ قامت باختيار أجزاء الكالس الذي تقل أوزانها عن 200 ملغم وزرعت على وسط MS المجهز بمعاملات مختلفة من BA وIAA (Indole acetic acid) وأخرى من الـ BA و 2,4-D (Dichlorophenoxy acetic acid) فضلا" عن معاملات أخرى احتوت على الـ IAA أو 2,4-D دون إضافة السايتوكاينينات. وهنا أثبت الـ BA دورا" في الاستحثاث الجنيني، إذ فشلت الأوساط الخالية منه بتكوين الأجنة في حين أعطت الأوساط ذات التوليفات الثنائية من إلـ BA وIAA والـ BA و2,4-D أعدادا" من الأجنة تراوحت بين 5-9 أجنة لكل جزء نباتي. تهدف هذه الدراسة الى تحديد نوع وتركيز بعض الأوكسينات المتداخلة مع السايتوكاينين BA في استحثاث الأجنة الجسمية من الكالس الجنيني المستحث من الأوراق الفلقية لهجيني الطماطة المستخدمة قيد الدراسة.

المواد وطرائق العمل:

عقمت بذور هجيني الشروق وGS-12 بمحلول القاصر التجاري بتركيز 4% مدة 10 دقائق ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات ثم زرعت في أطباق بتري (عقمت بوضعها في حاويات معدنية خاصة لهذا الغرض Canisters ووضعت في جهاز الموصدةAutoclave على درجة حرارة 121مْ وضغط 1.04كغم/سم² لمدة 45 دقيقة) تحتوي على أوراق ترشيح معقمة ومرطبة بالماء المقطر المعقم وأغلقت جيدا" باستخدام الـ Parafilm، حضنت البذور على درجة حرارة 25±2مْ وإضاءة 1000 لوكس مدة 16 ساعة ضوء و8 ساعات ظلام، ويلاحظ بأن هذه الظروف طبقت في جميع التجارب اللاحقة التي تستلزم التحضين ولجميع الأجزاء النباتية المزروعة (بذور، سويقات جنينية سفلى، أوراق فلقية، كالس)، بعد أسبوعين أخذت البادرات النامية واستؤصلت منها الأجزاء المطلوبة وهي السويقات الجنينية السفلى (بطول 5 ملم للسويقة) والأوراق الفلقية ولكلا هجيني الشروق وGS-12. لغرض استحثاث الكالس، زرع هذين الجزئين على انفراد على وسط MS المجهز بـ 80 غم\لتر من السكروز ودرس تأثير الـ BA بالتراكيز 0، 0.01، 0.1، 1 ملغم\لتر بالتداخل مع الأوكسين NAA بالتراكيز 0، 1، 2، 3 ملغم\لتر للمنظم الثاني ولكلا الهجينين المذكورين وأعيدت زراعتها بعد اسبوعين على نفس الوسط الغذائي وحسب الوزن الطري للكالس بعد شهر من الزراعة. زرعت الأجزاء النباتية المستأصلة من البادرات بعشر مكررات لكل معاملة ولكل جزء نباتي ولكل هجين. على ضوء النتائج المتحصل عليها من هذه التجربة، تم اختيار الكالس الجنيني الذي يقل وزنه الطري عن 200 ملغم ولكلا الهجينين لكونه نسيجا" حبيبيا" Nodular هشا" ذي سطح أملس أخضر اللون وزرع بعشر مكررات لكل معاملة (وزن كل مكرر 100 ملغم من الكالس الطري) على وسط MS المجهز بـ 80 غم\لتر من السكروز وتوليفة من الـ BA متداخلا" مع الأوكسين IAA بالتراكيز 0، 1، 2، 3 ملغم\لتر لكل منهما والـ BA متداخلا" مع 2,4-D بالتراكيز 0، 1، 2، 3 ملغم\لتر وأعيدت زراعتها بعد اسبوعين على نفس الوسط الغذائي وأخذت النتائج الخاصة بعدد الأجنة الجسمية بطورها الطوربيدي بطول تراوح بين 2-3 ملم المتكونة بعد شهر من الزراعة والتي حسبت تحت عدسة المجهر التشريحي بقوة تكبير 10مرات. نفذت التجربة بإتباع التجارب العاملية وفق التصميم العشوائي التام CRD بعشرة مكررات وقورنت المتوسطات باستعمال أقل فرق معنوي .L.S.D على مستوى احتمال 5% لبيان الفروقات الإحصائية بين متوسطات المعاملات (9).

النتائج والمناقشة:

1. تأثير إضافة تراكيز من BA وNAA الى وسط MS في الوزن الطري للكالس المستحث:

فيما يخص تأثير إضافة تراكيز مختلفة من الـ BA وNAA الى وسط MS على الوزن الطري للكالس المستحث من السويقات الجنينية السفلى أو الأوراق الفلقية لهجين الشروق، تبين نتائج جدول1 وجود فروقات معنوية بين تراكيز الـ BA المستخدمة لاستحثاث الكالس من السويقات الجنينية السفلى، أذ يلاحظ أن أعلى معدل للوزن الطري للكالس المتكون منها بلغ 1.606 غم عند التركيز 1 ملغم\لتر والذي اختلف معنويا" عن باقي التراكيز. وكذلك تفوق NAA بالتركيز 1 ملغم\لتر معنويا" عن باقي التراكيز وأعطى أعلى وزن طري بلغ 1.199غم، أما فيما يخص التداخل بين الـ BAA وNAA فيلاحظ من الجدول 1 أن أعلى وزن طري تم الحصول عليه من زراعة السويقات الجنينية على وسط MS المجهز بـ 1 ملغم\لتر من كل من BA وNAA والذي بلغ 2.146 غم واختلف معنويا" عن باقي معاملات التداخل.

جدول1: تأثير BA وNAA في الوزن الطري للكالس(غم) المستحث من السويقات الجنينية السفلى والأوراق الفلقية لهجين الشروق

تراكيز BA (ملغم\لتر)	تراكيز NAA (ملغم\لتر)				معدل تراكيز BA
	0.00	1.000	2.000	3.000	
0.00	0.000	0.753	0.526	0.281	0.390
	0.000	0.739	0.910	0.686	0.584
0.01	0.000	0.458	0.420	0.235	0.278
	0.000	0.901	1.318	0.911	0.782
0.10	0.000	1.440	1.060	0.899	0.850
	0.000	0.378	0.587	0.171	0.284
1.00	1.707	2.146	1.623	0.949	1.606
	0.884	1.333	1.113	0.880	1.053
معدل تراكيز NAA	0.427	1.199	0.907	0.591	
	0.221	0.838	0.982	2660.	
أ.ف.م. 0.05	تراكيزBA= 0.2124 تراكيز NAA= 0.2124 BA X NAA = 0.4247		تراكيزBA= 0.1510 تراكيز NAA= 0.1510 BA X NAA= 0.3021		

السويقات الجنينية السفلى الأوراق الفلقية

أما فيما يخص الأوزان الطرية للكالس الناشئ من الأوراق الفلقية لهجين الشروق، فقد أشارت النتائج الى إن لتركيز الـ BA المستخدم تأثيرا" في الوزن الطري للكالس حيث يظهر معدل التراكيز تفوق التركيز 1ملغم\لتر معنويا" على باقي تراكيز الـ BA بإعطائه أعلى وزنا" طريا" للكالس بلغ 1.053غم في حين تشابهت تراكيز الـ NAA البالغة 1 و 2 ملغم\لتر معنويا" فيما بينها وأعطت وزنا" طريا" بلغ 0.838، 0.982 غم على التوالي. أما بالنسبة للتداخل بين الـ BAA وNAA فيلاحظ تشابه المعاملتين المضافتين بالتراكيز 1،1 و 0.01، 2 ملغم\لتر من الـ BAA وNAA على التوالي معنويا" مع بعضها والتي أعطت كالسا" بأوزان طرية بلغت 1.333 و 1.318غم على التوالي.

أما بالنسبة للأوزان الطرية للكالس المستحث من السويقات الجنينية السفلى لهجين الـ GS-12، فيشير الجدول 2 الى تفوق الـ BA بتركيز1 ملغم\لتر معنويا" عن باقي التراكيز والذي أعطى أعلى وزنا" طريا" بلغ 1.195 غم، في حين لم يختلف تركيزي الـ NAA البالغة 1 و 2 ملغم\لتر معنويا" عن بعضهما وأعطت وزنا" طريا" بلغ 0.559 و 0.639 غم على التوالي. أما بالنسبة للتداخل بين الـ BA وNAA وتأثيرهما في وزن الكالس المستحث، فقد تشابهت المعاملات المضافة بالتراكيز 1، صفر و 1،1 و 1، 2 ملغم\لتر من الـ BA وNAA ولم تختلف معنويا" فيما بينها وأعطت كالسا" بأوزان طرية بلغت 1.205، 1.368، 1.390 غم على التوالي والتي اختلفت معنويا" عن باقي معاملات التداخل.

أما بالنسبة للأوزان الطرية للكالس المستحث من الأوراق الفلقية لهجين الـ GS-12، فقد دلت نتائج هذه التجربة على اختلاف استجابة الأوراق الفلقية تبعا" لتركيز الـ BA المضاف، أذ لوحظ تفوق التركيز 1 ملغم\لتر معنويا" عن بقية التراكيز في استجابتها لتكوين الكالس وأعطت أعلى وزنا" طريا" بلغ 1.282 غم في حين لم تختلف تراكيز الـ NAA البالغة 1 و 2 ملغم\لتر معنويا" فيما بينها وأعطت وزنا" طريا" بلغ 1.039، 1.118 غم على التوالي، كذلك أشارت النتائج الى تفوق معاملات التداخل بالتراكيز 1، 1 و 1، 2 و 0.01، 2 ملغم\لتر على التوالي من الـ BA وNAA معنويا" عن باقي معاملات التداخل وأعطت أوزانا" طرية للكالس بلغت 1.503، 1.741، 1.552 غم على التوالي.

جدول2 : تأثير BA وNAA في الوزن الطري للكالس (غم) المستحث من السويقات الجنينية السفلى والأوراق الفلقية لهجين الـ GS-12

معدل تراكيز BA	تراكيز NAA (ملغم/لتر)				تراكيز BA (ملغم/لتر)
	3	2	1	0	
0.124	0.118	0.204	0.173	0.000	0.00
0.745	0.647	0.735	0.845	0.751	
0.310	0.000	0.545	0.694	0.000	0.01
1.033	1.156	1.552	1.424	0.000	
0.157	0.208	0.418	0.000	0.000	0.10
0.249	0.168	0.445	0.384	0.000	
1.195	0.817	1.390	1.368	1.205	1.00
1.282	0.913	1.741	1.503	0.970	
	0.286	0.639	0.559	0.301	معدل تراكيز NAA
	0.721	1.118	1.039	0.430	
	تراكيزBA= 0.1541 تراكيز NAA= 0.1541 BA X NAA =0.3081		تراكيزBA= 0.1926 تراكيز NAA=0.1926 BA X NAA = 0.3853		أ.ف.م. 0.05

السويقات الجنينية السفلى **الأوراق الفلقية**

لاحظنا إن الكالس الناشئ على الأوراق الفلقية لكلا الهجينين المزروعة على وسط MS المجهز بـ 0.1 ملغم\لتر من الـ BA متداخلا" مع الـ NAA بالتراكيز 1 أو 2 أو 3 ملغم\لتر (جدولي 1 و 2) امتاز بكونه نسيجا" حبيبيا" Nodular هشا" ذي سطح أملس أخضر اللون فضلا" عن تراوح أوزانه بين 168-587 ملغم وبهذا فقد اعتمدنا الكالس الناشئ من الأوراق الفلقية لكلا هجيني الطماطة المزروعة في وسط MS المجهز بـ 80 غم\لتر من السكروز والـ BA وNAA بالتركيز 0.1 و3 ملغم\لتر على التوالي واللذين أعطيا كالسا" جنينيا" بوزن 0.171، 0.168 غم لهجيني الشروق و GS-12 على التوالي، أذ أعيدت زراعة هذا الكالس على وسط MS الصلب المجهز بتوليفات من منظمات النمو النباتية لتحفيزه على تكوين الأجنة الجسمية.

دلت نتائج هذه التجربة على أن استخدام الـ BA بتداخله مع الـ NAA يعطي كالسا" طريا" مفككا" يضم في نسجته العديد من المراكز المرستيمية الجنينية، وكما هو معروف فان فعالية السايتوكاينينات تزداد أذا ما احتوت السلسلة الجانبية على ثلاث

أواصر مزدوجة بعكس الأنواع التي تحتوي على آصرتين أو آصرة واحدة مزدوجة فضلا" عن احتواء الـ BA على حلقة البنزيل Benzyl وبذلك فهو يعد من أكثر السايتوكاينينات فعالية وأرخصها ثمنا" (10)، فضلا" عن فعالية الأوكسين NAA وتأثيره في استحثاث نسيج الكالس والذي يعزى الى دوره المباشر في زيادة انقسام وتوسع خلايا الجزء النباتي المزروع وحثه على تكوين الكالس الابتدائي فضلا" عن زيادة انقسام خلايا الكالس بوجود التركيز الأمثل للأوكسين (11).

2. تحفيز نشوء الأجنة الجسمية بزراعة الكالس على وسط MS الصلب:

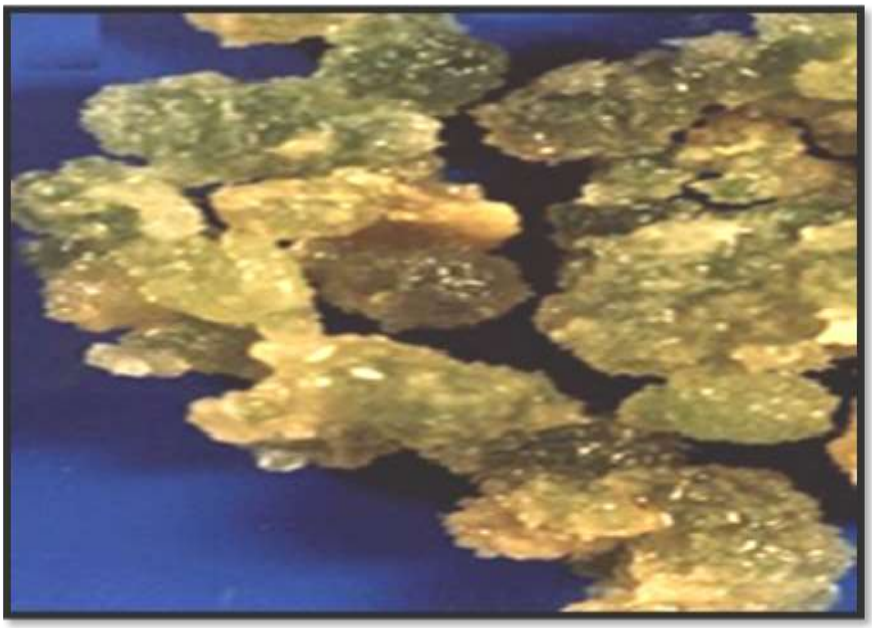
تشير نتائج جدول 3 الى تأثير تراكيز مختلفة من الـ BA وIAA في تحفيز نشوء الأجنة الجسمية لهجيني الطماطة قيد الدراسة، فبالنسبة لهجين الشروق، تفوق معدل تركيز الـ BA البالغ 2 ملغم\لتر والمضاف الى وسط MS الصلب معنويا" عن باقي التراكيز أذ أعطى أعلى معدل لعدد الأجنة بلغ 3.575 جنين جسمي وكذلك تفوق نفس التركيز من الـ IAA معنويا" عن باقي التراكيز وأعطى أعلى معدل لعدد الأجنة الجسمية المتكونة بلغ 2.400 جنين. أما بالنسبة للتداخل بين BA وIAA فقد كان له تأثيرا" واضحا" في معدل عدد الأجنة الجسمية المتكونة لهذا الهجين والذي أعطى 6.500 جنين عند التركيز 2 ملغم\لتر من كل من BA وIAA والذي اختلف معنويا" عن باقي تداخلات التجربة.

جدول 3 : تأثير BA وIAA في معدل عدد الأجنة الجسمية الناشة منالكالس الجنيني لهجيني الطماطة (تم زراعة 100 ملغم من الكالس/مكرر)

تراكيز BA (ملغم/لتر)	تراكيزIAA (ملغم/لتر)				معدل تراكيز BA
	0	1	2	3	
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
1	0.000	0.000	0.900	0.000	0.225
	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.000	3.600	6.500	4.200	3.575
	0.000	1.600	2.100	0.000	0.925
3	0.000	1.400	2.200	0.000	0.900
	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
معدل تراكيز IAA	0.000	1.250	2.400	1.050	
	0.000	0.400	0.525	0.000	
أ.ف.م. 0.05	تراكيزBA= 84.26 تراكيز IAA=84.26 168.52 = BA X IAA		تراكيزBA= 84.76 تراكيز IAA= 84.76 97.53 =BA X IAA		

هجين الشروق **هجين GS-12**

أما بالنسبة لهجين GS-12، يلاحظ أن معدل التركيز 2 ملغم\لتر من الـ BA حفز من تكوين الأجنة الجسمية بمعدل بلغ 0.925 جنين والذي تفوق معنويا" عن باقي التراكيز الأخرى التي فشلت في استحثاث الأجنة الجسمية من الكالس المزروع في وسط MS المجهز بهذه المعاملات. فيما يخص معدل تراكيز الـ IAA فلم يختلف التركيز 2 عن التركيز 1 ملغم\لتر معنويا" عن بعضهما واللذان أعطيا معدل عدد أجنة بلغ 0.595، 0.400 جنين على التوالي. أما بالنسبة للتداخل بين الـ BA وIAA فقد تفوق التداخلين بالتراكيز 2، 1 و 2، 2 ملغم\لتر من هذين المنظمين معنويا" على باقي التداخلات وأعطيا معدل عدد أجنة بلغ 1.600 و 2.100 جنين على التوالي (شكل 1).



شكل1: نشوء الأجنة الجسمية من الكالس الجنيني لهجين الـ GS-12 عند زراعته على وسط MS المجهز بالـ BA وIAA بالتراكيز 2، 1 ملغم\لتر على التوالي بعد شهر من الزراعة

يوضح الجدول 4 تأثير إضافة تراكيز مختلفة من BA و2,4-D الى وسط MS المجهز بـ 80 غم\لتر من السكروز على عدد الأجنة الجسمية المتكونة من كالس هجيني الطماطة المستخدمة. فبالنسبة لهجين الشروق، نلاحظ أن معدل تركيز الـ BA البالغ 2 ملغم\لتر تفوق معنويا" عن باقي التراكيز وأعطى معدل عدد أجنة بلغ 5.100 جنين جسمي وكذلك تفوقت معاملتي الـ 2,4-D بالتركيز 2 و 1 ملغم\لتر معنويا" عن معاملتي المقارنة و 3 ملغم\لتر. فيما يخص التداخل بين الـ BA و 2,4-D فيلاحظ إن كالس هجين الشروق المزروع في وسط MS المجهز بتركيز 2 ملغم\لتر من كل من هذين المنظمين قد حفزا من تكوين الأجنة الجسمية بمعدل بلغ 9.500 جنين متفوقا" عن باقي التداخلات المستخدمة في هذه التجربة باستثناء المعاملة المضافة بالتراكيز 2 و 1 من كل من الـ BA و 2,4-D على التوالي.

فيما يخص هجين الـ GS-12، تفوق معدل تركيز 2 ملغم\لتر من الـ BA معنويا" عن باقي تراكيز هذا السايتوكاينين وأعطى معدل عدد أجنة بلغ 6.025 جنين في حين لم تختلف معاملة التركيز 1 ملغم\لتر من الـ **2,4-D** عن التركيز 2 ملغم\لتر معنويا" عن بعضهما وأعطيا معدل عدد أجنة بلغ 3.625، 4.425 جنين جسمي على التوالي، أما بالنسبة للتداخل بين الـ BA و2,4-D فيلاحظ أن المعاملتين المجهزتين بالتراكيز 2، 1 و 2، 2 ملغم\لتر من هذين المنظمين قد حفزتا كالس هجين الـ GS-12 من تكوين الأجنة الجسمية بمعدل بلغ 8.900، 9.700 جنين جسمي على التوالي، ولم تختلف هاتين المعاملتين معنويا" عن بعضهما ولكنهما اختلفتا عن باقي التداخلات.

جدول 4: تأثير BA و2,4-D في معدل عدد الأجنة الجسمية الناشة من الكالس الجنيني لهجيني الطماطة (تم زراعة 100 ملغم من الكالس/مكرر)

تراكيز BA (ملغم/لتر)	تراكيز 2,4-D (ملغم/لتر)				معدل تراكيز BA
	0	1	2	3	
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
1	0.000	4.600	5.800	3.200	3.400
	0.000	2.900	3.100	1.600	1.900
2	0.000	6.700	9.500	4.200	5.100
	0.000	8.900	9.700	5.500	6.025
3	0.000	3.700	001.6	0.000	1.325
	0.000	2.700	4.900	0.000	1.900
معدل تراكيز 2,4-D	0.000	3.750	4.225	1.850	
	0.000	3.625	4.425	1.775	
أ.ف.م. 0.05	تراكيز BA= 141.61 تراكيز 2,4-D =141.61 BA X 2,4-D = 283.22		تراكيز BA= 117.67 تراكيز 2,4-D =117.67 BA X 2,4-D = 235.34		

هجين الشروق **هجين GS-12**

أن اتخاذ القرار باستخدام الـ 2,4-D أو الـ IAA في تكوين الأجنة الجسمية من الكالس المستحث يرتبط بطبيعة الهدف من البحث أو الدراسة، فإذا كان المطلوب كمية كبيرة من هذه الأجنة لأجراء تجارب معينة وان موضوع التغايرات غير ضروري، في هذه الحالة يمكن استخدام الـ 2,4-D الذي يمكن بواسطته الحصول على أكبر كمية ممكنة أما أذا كان المطلوب هو الإكثار السلالي وإنتاج نباتات مطابقة للنبات الأم فيفضل استخدام الـ IAA بالرغم من قلة عدد الأجنة الجسمية المنتجة.

يتضح من معاملات التداخل الواردة في نتائج التجربة الحالية عدم تكون الأجنة الجسمية من أنسجة الكالس المزروعة في وسط MS الخالي من منظمات النمو النباتية (معاملة المقارنة) أو يحتوي على تراكيز مختلفة من السايتوكاينين BA لوحده أو تراكيز مختلفة من الأوكسينين IAA و2,4-D لوحدهما ولهجيني الطماطة المستخدمة وهذا يعود الى أن تداخل كل من السايتوكاينين والأوكسين هو متطلب أساسي ومهم في نشوء الأجنة الجسمية من الأجزاء المزروعة مباشرة أو من أنسجة الكالس المستحث تكوينه وهذا يعزى الى الدور الذي يؤديه التوازن بين تراكيز هذين النوعين من منظمات النمو النباتية في تحديد نمط التمايز الخلوي وتكوين الأعضاء خارج الجسم الحي (12) و (13).

يؤكد (14) أنه على الرغم من امتلاك الخلايا الحية للطاقة التطورية الكامنة Totipotency التي تتيح لها الانقسام والنمو والتطور فيما لو وفرت لها الظروف الملائمة، فان عدد الأجنة الجسمية المتكونة من هذه الخلايا قليل مقارنة بأجمالي الخلايا الممتلكة لهذه الطاقة ويعزوها لعدة أسباب منها أن قابلية الخلايا على الاستحثاث الجنيني مرتبط بشكلها حيث تمتلك 85-90% من الخلايا الكروية الشكل هذه القابلية وتتناقص الى 10% مع الخلايا البيضوية الشكل، كذلك تلعب نسجة الكالس دورا" مهما" في الاستحثاث الجنيني فخلايا الكالس الحبيبي المفكك ذو السطح الأملس قادرة على إعطاء أجنة جسمية بعكس الكالس الصلب المتماسك ذو السطوح الخشنة (شكل2) والذي أثبتت العديد من البحوث فشله في تكوينها.

شكل 2: كالس صلب متماسك ذو سطح خشن خال من المراكز الجنينية والمستحث من السويقات الجنينية السفلى لهجين الشروق

تتفق نتائج هذه التجربة مع ما وجدته (8) التي قامت بتجزئة الكالس المستحث تكوينه من الأوراق الفلقية لبادرات الطماطة وإعادة زراعته على وسط MS المجهز بتراكيز من BA وIAA وأخرى من الـ BA و2,4-D وبعد اسبوعين من الزراعة لاحظت توسع قطر الكالس مع ظهور أنسجة خضراء منتظمة النمو كانت منطلقا" لتكون الأجنة الجسمية، كما أكد كل من (5) و (6) على أن الأجنة الجسمية يمكن الحصول عليها من كالس نبات البنج Henbane العائد للعائلة الباذنجانية وذلك عند نقل الكالس الجنيني المستحث من الأوراق الفلقية الى وسط MS المجهز بالـ BA وNAA حيث أعطى هذا الوسط عند أعادة زراعة الكالس الجنيني عليه الأجنة الجسمية بكل أطوارها.

تتفق نتائج هذا البحث بكون السايتوكاينينات عاملا" مهما" في نشوء الأجنة الجسمية مع ما توصل إليه (15)، إذ بينت النتائج نجاح كالس الخيار *Cucumis sativus* L. بإعطائه الأجنة الجسمية عند زراعته على وسط MS المجهز بالـ TDZ بتركيز 2 ملغم\لتر.

المصادر:

1. FAO Statistical Database. 2008. FAOSTAT Agriculture. Data. URL., http://faostat.fao.org. date of access 30 July.
2. مطلوب، عدنان ناصر; سلطان، عز الدين و عبدول، كريم صالح. 1980. إنتاج الخضر. مطابع مديرية دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق.
3. Stern, K.R.; Jansky, S. and Bidlack, J.E. 2003. Introductory Plant Biology. 4th. Edition , USA, pp. 461-485.
4. سلمان، محمد عباس. 1988. أساسيات زراعة الخلايا والأنسجة النباتية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة بغداد، العراق.
5. Chand, S.; Basu, P. and Maheshwari, N. 1994. Somatic embryogenesis and plant regeneration from tissue cultures of *Hyoscyamus muticus* L., J. plant bioch. Biotechnology, 3:53-54.
6. Pandey, A. and Chand, S. 2005. Efficient plant regeneration from encapsulated somatic embryos of *Hyoscyamus muticus* L., Indian J. of Biotechnology, 4:546-550.
7. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. Physiol. Plant, 15: 473-497.
8. Plevnes, D. R.; Kulpa, D. and Kurek, J. 2007. Somatic embryogenesis in callus cultures of tomato. Zeszyty problemowe postepow nauk rolniczych. 523:185-193.
9. الساهوكي، مدحت ووهيب، كريمة محمد. 1990. تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق.
10. Sudarmonowati, E.; H. F. Supatmi and N. Ardiyanti. 2009. Factors affecting friable embryogenic callus in several plant species. J. of Biotechnology Research in Tropical Region, 2(2):1-5.
11. Rao, P. V. L. and Singh, B. 1991. Plantlet regeneration from encapsulated somatic embryos of hybrid *Solanum melongena* L. Plant Cell Reports, 10:7-11.
12. Ramakrishnan, K.; Gnanam, R.; Sivakumar, P. and Manickam, A. 2005. *In vitro* somatic embryogenesis from cell suspension cultures of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). Plant Cell Reports. 24:449-461.
13. Neumann, H; Kumar, A. and Imani, J. 2009. Plant Cell and Tissue culture- A tool in Biotechnology. Basics and Applications. Germany, pp. 90-137.
14. Figueroa. F. R. Q.; Herrera, R. R.; Avalos, R. M. G. and Vargas, V. M. L. 2006. Embryo production through somatic embryogenesis can be used to study cell differentiation in plants. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 86:285-301.
15. El-Zeiny, O. A. H. 2007. The highest population of plantlets from somatic embryogenesis and economical evaluation of cucumber plant (*Cucumis sativus* L.) *In vitro*. J. of Applied Science Research, 3(11):1460-1471.