تحفيز الايض الثانوي في خلايا الطماطة النسيجية بالإجهاد

فرقد محمد كاظم الدباغ * حيدر عماد محمد** محمد شهاب حمد**

الملخص

اجريت دراسة تأثير كل من السكروز والكلوكوز والبولي اثيلين كلايكول (PEG6000) في كمية المركبات الثانوية المستخلصة من الكالس المستحدث من اوراق نبات هجينين من الطماطة الفلقية *Lycoperscion esculentum* Mill هما: شروق و GS-12. اظهرت النتائج إن إضافة السكروز بتركيز 60غم/لتر الى وسط MS اعطى اعلى قيمة من مركب phyton بلغتا 1438.13 و118.76 مايكروغرام/غرام من كالس الهجينين: شروق و-GS 12 على التوالي، كما حفز هذا التركيز من زيادة إنتاج مركبي Lycopene و β-carotene في كالس هجين الشروق بلغتا 849.78 و203.79مايكروغرام/غرام على التوالي، بينما ادى التركيز 90غم/لتر الى زيادة إنتاج Lycopene وβ-Carotene في كالس هجين GS-12 بلغتا 268.63 و204.68 مايكروغرام/غرام على التوالي. اما سكر الكلوكوز، فقد اعطى التركيز 60غم/لتر اعلى كمية من مركب phyton بلغت 96.88 مايكروغرام/غرام من *كالس* هجين الشروق، في حين اثرت إضافة هذا السكر بتركيز30غم/لتر في زيادة إنتاج phytonالتي بلغت 585.12 مايكروغرام/غم لكالس هجين GS-12، وادى التركيز 90غم/لتر الى إنتاج اعلى كمية من Lycopene بلغتا479.37 و 375.33 مايكروغرام/غرام من كالس هجيني الشروق وGS-12على التوالي، واعلى كمية من -β Carotene بلغتا302.63 و 271.96 مايكروغرام/غرام من كالس هذين الهجينين على التوالي. اشارت النتائج الى إنإضافة PEG 6000 بالتركيز 60غم/لتر كان الاكثر تاثيرا" في زيادة إنتاج مركباتphyton, Lycopene و -β Carotene لهجين الشروق، إذ بلغت 35.41، 499.62 و 167.30مايكروغرام/غرام على التوالي، وحفز من إنتاج β-Carotene في كالس هجين GS-12 بكمية بلغت 319.24مايكروغرام/غرام. بينما اثر التركيز 90غم/لتر من PEG 6000 في زيادة إنتاج مركبي phyton وLycopeneفي كالس الهجين نفسه التي بلغت 65.62 و 491.84 مايكروغرام/غرام على التوالي.

المقدمة

ينتمي نبات الطماطة *Lycoperscion esculentum* Mill الى العائلة الباذنجانية Solanaceae التي تضم 90 جنساً و3000نوعاً من النباتات(34)، وتعد واحدة من اهم محاصيل الخضروات التي تزرع في العالم (18)،وتحتل المرتبة الثانية بعد نبات البطاطا، إذ تزرع في مناطق العالم كله تقريبا".وفضلا" عن القيمة الغذائية للطماطة فإنلها قيمة طبية،إذتحتوي على مضاداة الاكسدة(24).

تحتوي ثمار الطماطة على صبغة اللايكوبين التي تعد اصل او مصدر الكاروتينويد Carotenoid وتعطي اللون الاحمر في الطماطة (32)، ويعد اللايكوبين مقويا"للاعصاب(14)،مضادا" للسرطان (13)، مضادا" للالتهابات (5) وعاملا" من العوامل التي تقلل الكولسترول في الدم (27).

تنتج النباتات العديد من مركبات الايض الثانوي التي تعد مركبات عضوية معقدة ليس لها وظيفة مباشرة في النمو و تنتج من مركبات الايض الاولي (الكربوهيدرات، البروتينات و الدهون)ذاتالاهمية الكبرى في عمليات نمو وتطور النبات(25)، ولكنها قد تستخدم كوسيلة دفاعية ضد المسببات المرضية او الحشرية(8)،فضلا" عن استعمالها في صناعة الادوية والعقاقير الطبية (37).

* دائرة فحص وتصديق البذور– وزارة الزراعة– بغداد، العراق.

** كلية الزراعة– جامعة بغداد– بغداد، العراق.

استخدمت تقنية زراعة الانسجة بشكل واسع في إنتاج مركبات الايض الثانوي وعلى مدار السنة، كزراعة النبات تحت ظروف الاجهاد واستعمال Elicitors وprecursors وBiotransformation والتغيير فيالظروف البيئية والتلاعب في مكونات الوسط الغذائي(23،31).

تعد الكاربوهيدرات ومنها السكريات من المكونات الرئيسة لاي وسط غذائي ، ويتحدد تأثيرها في الجزء النباتي المزروع في إنها مصدرا"للطاقة والكربون، فضلا" عن عملها في تنظيم ازموزية الوسط(12).تؤدي زيادة تركيز السكر المضاف الى الوسط عن الكمية المحددة اجهادا"في النسيج النباتي من نوع ما يسمى Abiotic stress (35)، وايضا يستعمل البولي اثيلين كلايكول ذو الوزن الجزيئي العالي لتحفيز الاجهاد المائي،ثم ينتج Abiotic stress(19)، ولقد اكدت الدراسات إمكان تحفيز الاجزاء النباتية المزروعة لإنتاج المركبات الثانوية عند تعرضها للاجهاد الذي يمكن ان يحدث بإضافة بعض المركبات الى الوسط الغذائي،إذ اشار كل من Kassem وJacquin (16) إن زيادة تركيز السكروز في الوسط الغذائي من 3–6% سبب زيادة في إنتاج قلويدات المورفين لنبات الخشخاش *Papaver somniferum*، فيما اكدEL-Naggarوآخرون (10) الى إن رفع نسبة السكروز من 2% الى 5% في وسط زراعة الكالس لنبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* ادى الى زيادة إنتاج Rosmarinic acid،في حين اثبت المرسومي (2) الى إن الزيادة بتركيز السكروز وصولا" الى التركيز 80غم/لتر كان الأكثر تأثيراً في إنتاج مركب Camphor في كالس نبات المريمية *Salvia officinalis*.

يهدف هذا البحث الى دراسة تأثير إضافة السكريات و6000 PEG في تحفيز إنتاج بعض المركبات الثانوية في كالس الاوراق الفلقية لهجينين من نبات الطماطة.

المواد وطرائق البحث

نفذ هذا البحث في مختبر زراعة الانسجة التابع لقسم البستنة – كلية الزراعة – جامعة بغداد للمدة منشهر اذار 2010لغاية شهر نيسان 2011، فيما اجريت التحليلات المختبرية المتضمنة تقدير المواد الفعالة في شركة الحقول البيضاء للدراسات والاستشارات الكيميائية والهندسية/الوزيرية/بغداد.

عقمت بذور هجيني الطماطة:شروق وGS-12 (اشتريت من الاسواق المحلية) بعد نقعها في القاصر التجاري (فاس) تركيز 7% الذي يحتوي على 6% من هايبوكلورات الصوديوم NaOCl لمدة سبع دقائق، ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات لازالة اي اثر للمادة المعقة. زرعت البذور على وسطMS(22) الصلب والخالي من منظمات النمو وبربع قوة الاملاح(2). حضنت البذور في غرفة النمو على شدة اضاءة 1000 لوكس ومدة 16 ساعة ضوء وعلى درجة حرارة 25 ± 2مْ. بعد اسبوعين من إنبات البذور، استؤصلت الاوراق الفلقية وزرعت في انابيب الزراعة قياس 25 × 150 ملم، المحتوية على 10مل من الوسط MS المجهز بـ0.1ملغم/لتر من BA(Benzyl Adenine) و3 ملغم/لتر منNAA(Naphthalene Acetic Acid) فضلاً عن إضافة السكروز او الكلوكوز او مركب 6000 PEG وبالتراكيز 30 او 60 او 90غم/لتر من كل منها، كلا على حدة. وأجريت عملية اعادة الزراعة على اوساط جديدة كل ثلاثة اسابيع (3 مرات) لحين الوصول الى وزن الكالس المطلوب (1غم وزن جاف).

الاستخلاص والتقدير الكمي والنوعي للمواد الفعالة:

جفف الكالس على درجة حرارة 40مْ لمدة 24 ساعة ثم طحن واخذ من المسحوق 1غم. أضيف له 5 مل من ethanol مع 0.1% butylated hydroxytoluene (BHT)، وضع المحلول في أنبوبة جهاز الطرد المركزي سعة 35 مل، وضعت بعدها على جهاز الهزاز على المستوى 8 (Vortex ,model G560; Scientific

Industries, Bohemia,NY)، بعد ذلك جونست homogenized على المستوى 7 لمدة دقيقتين(Homogenizer, shimadzu, koyota) ثم أضيف لها 0.5مل من saturated KOH solution immersed in a 60 c° water bath. أضيف بعدها 2 مل من الماء الخالي من الايونات مع 7مل من hexane ووضعت العينة على الهزاز على المستوى الثامن لمدة دقيقة. أجريت عليها عملية الطرد المركزي لمدة 10 دقائق(1000دورة/دقيقة).أعيد إضافة الهكسان، mixing وcentrifugation ثلاث مرات، جمع المستخلص وجفف في speedvac evaporator (Buchi ,germany) ومسح باستعمال argon وحضن في (-20°c) مدة 22 ساعة لكي يستعمل في جهازMass HPLC. قدرت المواد الفعالة phyton وLycopene وβ.carotene باستعمال Mass HPLC، حقن كل من المحلول القياسي والعينة في جهاز HPLC ذو النوع Shimadzu al Chromatography LC-10Av system equipped with Reodyine 7125 injection with 20 µl injection loop، لغرض تحديد زمن الاحتجاز Rotation timeوارتفاع حزمة العينة Area لكل من المحلول القياسي والعينة، حقن المستخلص في عمود من نوع C30, 50×2.1 m i.d, (3µm ,racticle size)،يتكون المذيب الاول من(83% methanol, 15% methyl-tert-butyl ether (MTBE) and 2% ammonium acetate aqueous solution (1.5%)) والمذيب الثاني من 8% methanol, 90% MTBE, 2% ammonium acetate aqueous solution (1.5%) واجري الإنحدار الخطي من 50A-100B في 5 دقائق واستعملت على سرعة جريان 1ml/min وقيست القراءات على طول موجي مقداره 472nm وبدرجة حرارة الغرفة (2).

تم حساب تركيز كل مركب في كل عينة، حسب المعادلة التالية:

تركيز الأنموذج = (مساحة الأنموذج / مساحة المحلول القياسي) × تركيز المحلول القياسي × عدد مرات التخفيف

استخدم التصميم التام التعشية (CRD) Completely Randomized Desiginبعشرة مكررات لكل مراحل البحث ولهجيني الطماطة عدا مرحلة الاستخلاص، وتمثل كل انبوبة اختبار مكرر واحد. وقورنت المتوسطات باستعمال فحص(x^2) لبيان الفروق الاحصائية بين المعاملات وعلى مستوى احتمال 0.05(1).

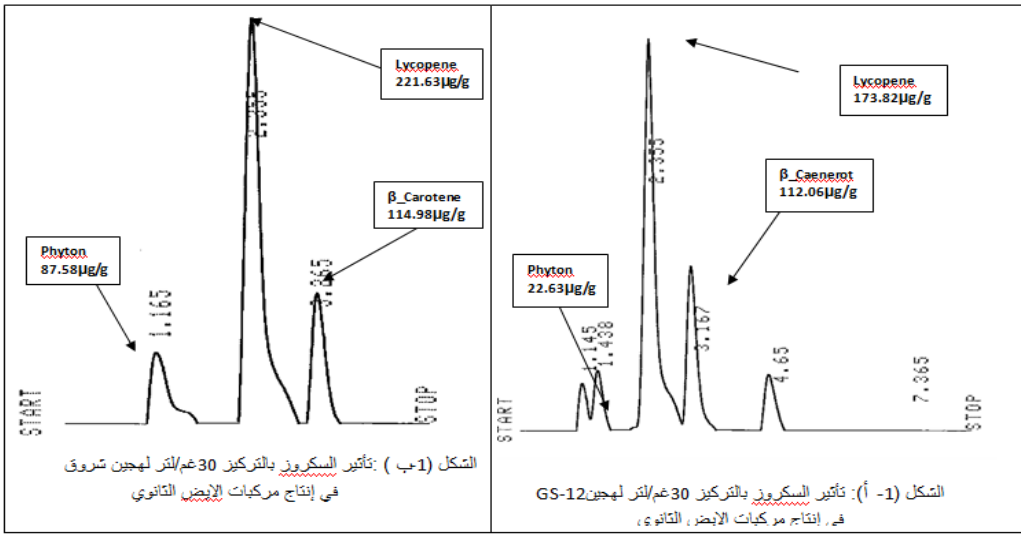
النتائج والمناقشة

تأثير السكروز في إنتاج المركبات الثانوية:

لوحظ من نتائج جدول (1) إن هنالك فروق معنوية في تركيز المركبات الثانوية المدروسة باختلاف تراكيز السكروز المضافة الى الوسط الغذائي، الاشكال (1–أ، ب، ج، د، هـ، و). أعطى التركيز 60غم/لتر من السكروز اعلى كمية من الـ Phyton بلغتا 1438.13 و118.76 مايكروغرام/غرام للهجينين شروق و GS-12 على التوالي واعلى كمية من الـLycopene وβ-Carotene بلغتا 849.78 و203.79 مايكروغرام/غرام على التوالي للهجين شروق، إلا إن التركيز العالي من السكروز 90غم/لتر كان الاكثر تأثيرا" في تحفيز الكالس على إنتاج مركبي الـ Lycopene و β-Carotene إذ بلغتا 268.63 و204.68 مايكروغرام/غرام وزن جاف كالس للهجين-GS 12 على التوالي.

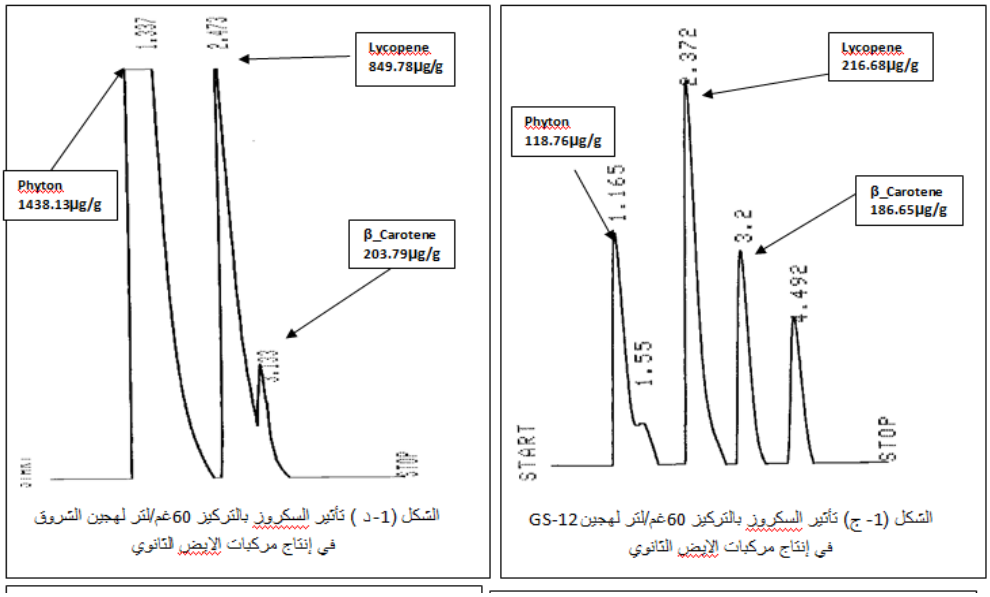
جدول 1: تأثير مستويات السكروز في إنتاج المركبات الثانوية من كالس أوراق نبات هجيني الطماطة الفلقية المزروعين خارج الجسم الحي

المركبات (µg/g)	الهجين	تراكيز السكروز			قيمة مربع كاي (χ^2)
		30	60	90	
Phyton	شروق	87.58	1438.13	49.89	128.49
	GS-12	22.63	118.76	56.34	14.72
Lycopene	شروق	221.63	849.78	255.46	67.38
	GS-12	173.82	216.68	268.63	9.33
β-arotene	شروق	114.98	203.79	175.36	17.82
	GS-12	112.06	186.65	204.68	12.47
قيمة مربع كاي (χ^2)	شروق	16.38	117.42	12.60	
	GS-12	11.85	9.37	18.42	



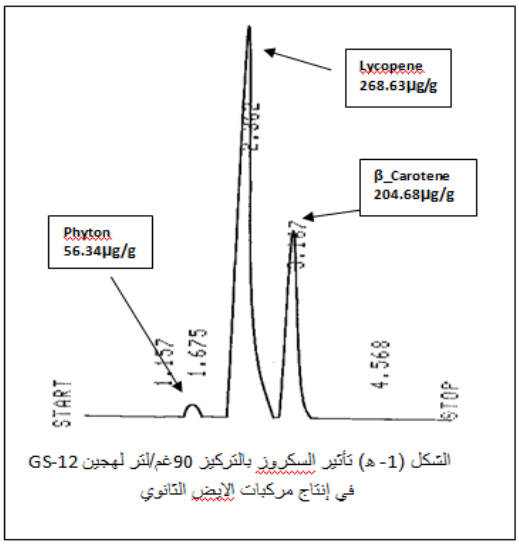
الشكل (1-ب) :تأثير السكروز بالتركيز 30غم/لتر لهجين شروق في إنتاج مركبات الإيض الثانوي

الشكل (1- أ): تأثير السكروز بالتركيز 30غم/لتر لهجين GS-12 في إنتاج مركبات الإيض الثانوي

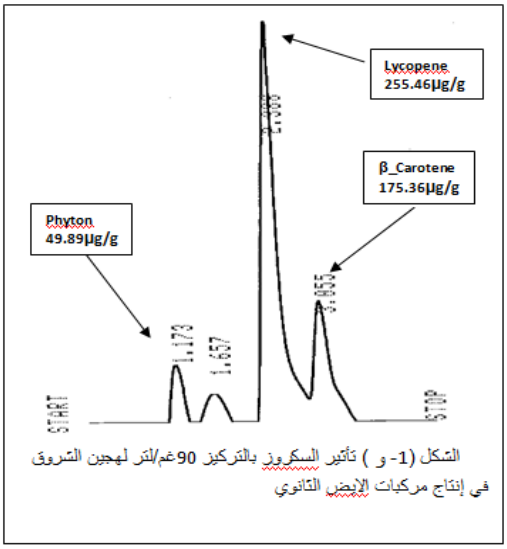


الشكل (1-د) تأثير السكروز بالتركيز 60غم/لتر لهجين الشروق في إنتاج مركبات الإيض الثانوي

الشكل (1- ج) تأثير السكروز بالتركيز 60غم/لتر لهجين GS-12 في إنتاج مركبات الإيض الثانوي



الشكل (1- هـ) تأثير السكروز بالتركيز 90غم/لتر لهجين GS-12 في إنتاج مركبات الإيض الثانوي



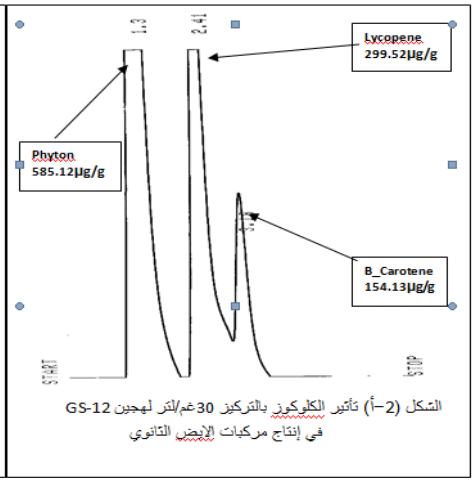
الشكل (1- و) تأثير السكروز بالتركيز 90غم/لتر لهجين الشروق في إنتاج مركبات الإيض الثانوي

تأثير الكلوكوز في إنتاج المركبات الثانوية :

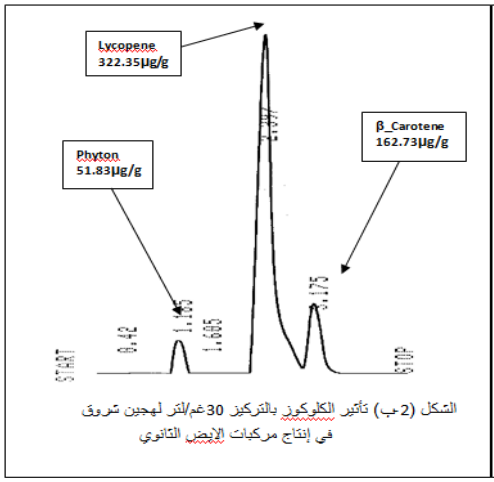
يتضح من نتائج جدول (2) والإشكال(2–أ، ب، ج، د، هـ، و) إن استجابة الكالس لإنتاج المركبات الثانوية قد ازدادت بزيادة تركيز الكلوكوز المضاف الى الوسط الغذائي عدا مركب الphyton للهجينين شروق و GS-12 الذي اظهر استجابة عكسية،إذ بزيادة تراكيز الكلوكوز إنخفض تركيزهذا المركب إذ اعطى التركيز 60غم/لتر من الكلوكوز اعلى كمية منه لهجينالشروق بلغت 96.88 مايكروغرام/لتر، اما التركيز 30 غم/لتر من الكلوكوز فقد اعطى اعلى كمية من Phyton بلغت 585.12 مايكروغرام/لتر في كالس GS-12.فيما يخص التركيز 90غم/لتر من الكلوكوز اعطى اعلى كمية من الـ Lycopene بلغتا 479.37 و375.33مايكروغرام/غم للهجينين شروق و-GS 12على التوالي، واعلى كمية من β-Caroteneبلغتا 302.63 و271.96 مايكروغرام/غم للهجينين شروق و-GS 12 على التوالي.

جدول 2: تأثير مستويات الكلوكوز في إنتاج المركبات الثانوية من كالس اوراق نبات هجيني الطماطة المزروعين خارج الجسم الحي

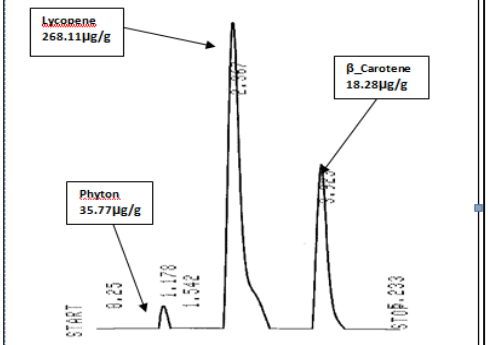
المركبات (µg/g)	الهجين	تراكيز الكلوكوز			قيمة مربع كاي (χ^2)
		30	60	90	
Phyton	شروق	51.83	96.88	20.61	7.84
	GS-12	585.12	35.77	36.73	62.94
Lycopene	شروق	322.35	342.64	479.37	13.82
	GS-12	299.52	268.11	375.33	9.53
β –Carotene	شروق	162.73	154.56	302.63	21.77
	GS-12	154.13	18.28	271.96	16.39
قيمة مربع كاي (χ^2)	شروق	18.22	16.73	21.48	
	GS-12	36.71	24.88	31.64	



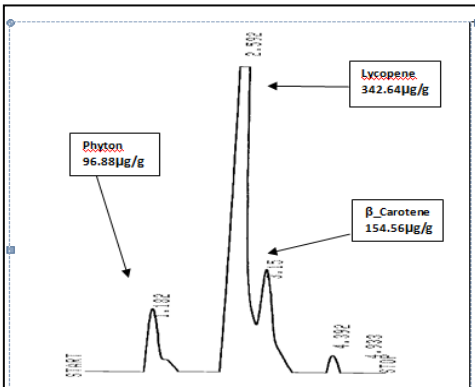
الشكل (2–أ) تأثير الكلوكوز بالتركيز 30غم/لتر لهجين GS-12
في إنتاج مركبات الإيض الثانوي



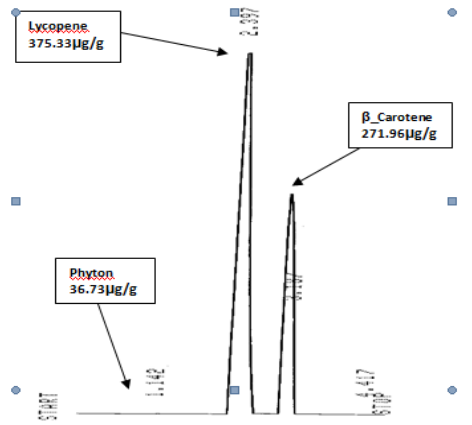
الشكل (2-ب) تأثير الكلوكوز بالتركيز 30غم/لتر لهجين شروق
في إنتاج مركبات الإيض الثانوي



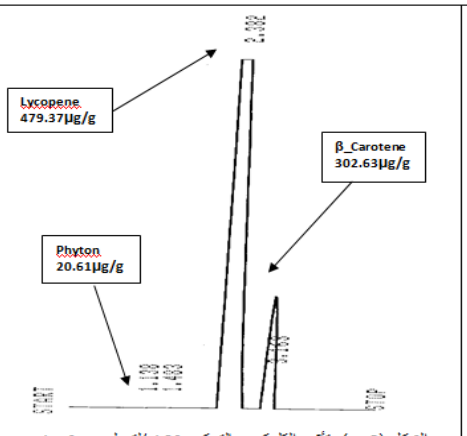
الشكل (2- ج) تأثير الكلوكوز بالتركيز 60غم/لتر لهجين GS-12
في إنتاج مركبات الأيض الثانوي



الشكل (2- د) تأثير الكلوكوز بالتركيز 60غم/لتر لهجين شروق
في إنتاج مركبات الأيض الثانوي



الشكل (2- ه) :تأثير الكلوكوز بالتركيز 90غم/لتر لهجين GS-12
في إنتاج مركبات الايض الثانوي



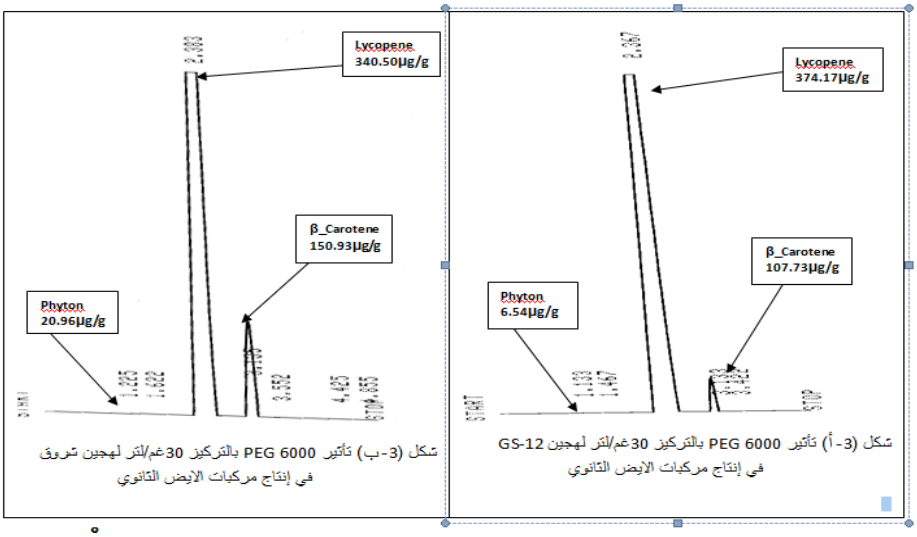
الشكل (2- و) :تأثير الكلوكوز بالتركيز 90غم/لتر لهجين شروق
في إنتاج مركبات الايض الثانوي

تأثير PEG 6000 في إنتاج المركبات الثانوية:

تبين نتائج جدول (3) والإشكال (3-أ، ب، ج، د، هـ، و) إن إضافة 60 غم/لتر من PEG 6000 كان الاكثر تأثيرا" في تحفيز الكالس على إنتاج مركبي Phyton وLycopene للهجين شروق،إذ بلغتا 35.41 و499.62 مايكروغرام/غم على التوالي، والاكثر تأثيراً في تحفيز الكالس على إنتاج β-Carotene للهجين GS-12،إذ بلغت 319.24مايكروغرام/غم، في حين إن التركيز 90غم/لتر من PEG 6000 كان الافضل في زيادة إنتاج المركبينPhyton وLycopene وبلغتا 65.62 و 491.84 مايكروغرام/غم على التوالي للهجينGS-12، في حين زاد هذا التركيز من إنتاج β-Carotene في كالس هجين الشروق الجاف وبلغ 192.05 مايكروغرام/غرام.

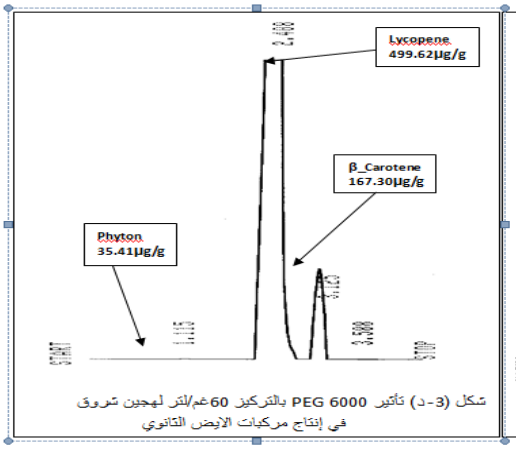
جدول3: تأثير مستويات البولي اثلين كلايكول PEG 6000في إنتاج المركبات الثانوية من كالس اوراق هجيني نبات الطماطة الفلقية المزروعين خارج الجسم الحي

المركبات	الهجين	تراكيز PEG 6000			قيمة مربع كاي (χ^2)
		30	60	90	
Phyton	شروق	6.54	35.41	0.00	6.02
	GS-12	340.50	24.03	65.62	6.83
Lycopene	شروق	374.17	499.62	247.15	21.39
	GS-12	150.93	304.49	491.84	10.55
β-Carotene	شروق	107.73	167.30	129.05	6.45
	GS-12	22.83	319.24	72.99	17.99
قيمة مربع كاي (χ^2)	شروق	28.91	26.10	33.41	
	GS-12	6.54	32.54	41.63	

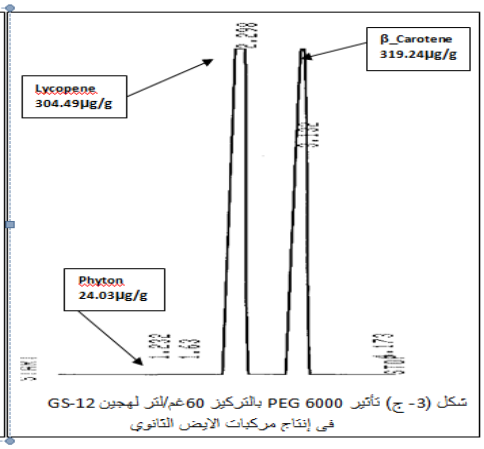


شكل (3-أ) تأثير PEG 6000 بالتركيز 30غم/لتر لهجين GS-12 في إنتاج مركبات الايض الثانوي

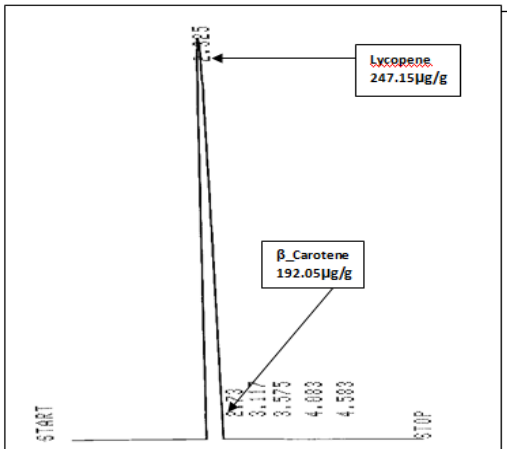
شكل (3-ب) تأثير PEG 6000 بالتركيز 30غم/لتر لهجين شروق في إنتاج مركبات الايض الثانوي



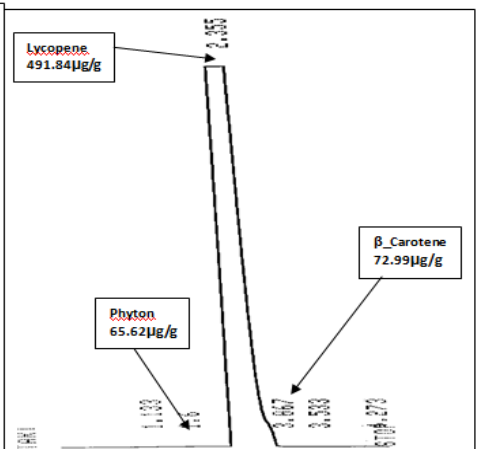
شكل (3-د) تأثير PEG 6000 بالتركيز 60غم/لتر لهجين تروق في إنتاج مركبات الايض الثانوي



شكل (3- ج) تأثير PEG 6000 بالتركيز 60غم/لتر لهجين GS-12 في إنتاج مركبات الايض الثانوي



شكل (3-و) تأثير PEG 6000 بالتركيز 90غم/لتر لهجين تروق في إنتاج مركبات الايض الثانوي



شكل (3- ه) تأثير PEG 6000 بالتركيز 90غم/لتر لهجين GS-12 في إنتاج مركبات الايض الثانوي

نستنتج بشكل عام من الجدول (1) والاشكال (1–أ، ب، ج، د، ه، و) إن بزيادة تركيز السكروز المضاف الى الوسط الغذائي يزيد إنتاج الكالس لمركبات الايض الثانوية وصولا" الى التركيز الذي اعطى اعلى إنتاجية من مركبات الايض الثانوي المدروسة عدا مركبي **Lycopene** و **β-Carotene**للهجين**GS-12**،اللذين اظهرا نتيجة مغايرة، إذ ازداد تركيزهما بزيادة كمية السكروز المضاف، وقد يعود السبب في ذلك الى إن السكروز هو المصدر الرئيسالذي يزود النباتات المزروعة نسيجيا" بالطاقة، لان هذه النباتات ليس لها القدرة الكافية على صنع غذائها بنفسها (رمية التغذية)(**25**)،وللسكروز وظيفة اخرى، إذ يسهم في التنظيم الازموزي للوسط وعامل معنوي في ايض خلايا النبات(**15**)، سببت زيادة التركيز المضاف من السكروز تغييرات في العلاقات المائية للخلايا بسبب الجهد المسلط على الخلايا الذي يتطلب إعادة تنظيم جهدها الازموزي بشكل يؤمن لها التأقلم مع الظروف الجديدة التي تتعرض لها وتسبب إنخفاضا" في جاهزية الماء،ثم المواد الغذائية في الوسط الذي تنمو فيه هذه الخلايا(**40**).تتفق هذه النتائج مع **EL-Bakry** وجماعته(**9**) الذين اشاروالى إن زيادة تركيز السكروز وصولا" الى التركيز **7.5%** كان الاكثر تأثيرا" في زيادة إنتاج **Cardiac glycosides**باستعمال الخلايا المعلقة لنبات***Calotropis procera***، ومع **Schohael** وجماعته(**29**) الذين اثبتوا الى إن التراكيز العالية من السكروز المضاف الى الوسط الغذائي وصولا" الى التركيز **90** غم/لتر كان الاكثر تأثيرا" في إنتاج مركبات الايض الثانوي **Eleutherosides , Phenol, Flavonides** من

الخلايا الجنينية لنبات *Eleutherococcus sessiliflorus*، ومع كل من Kassem وJacquin (16) الذين اوضحاإن زيادة تركيز السكروز في الوسط الغذائي من 3% الى 6% سبب زيادة في إنتاج قلويدات المورفين لنبات الخشخاش *Papaver somniferum*، ومعEL-Naggar وجماعته (10)الذين اكدواإن رفع نسبة السكروز من 2% الى 5% في وسط زراعة الكالس لنبات اكليل الجبل*Rosmarinus officinalis*،ومعMisawa(21)الذي توصل الى إن زيادة تركيز السكروز من 5% الى 7% اعطى 3.3لتر/غم من Rosmarinic acid من نبات *Coleus blumeii*.

نستنتج من جدول (2) والاشكال (2–أ، ب، ج، د، هـ، و) إن زيادة تراكيز الكلوكوز تسبب زيادة في تراكيز المركبات عدا مركب الPhyton للهجين12-GS،الذي اظهر استجابة معاكسة لبقية المركبات،إذ بزيادة تراكيز الكلوكوز عن 30غم/لتر إنخفضت كميته. وقد يعزى ذلك الى إنإضافة السكر الى الوسط مهمة جدا" لان النبات ينتج الطاقة من خلال السكر المضاف الى الوسط (3)، وقد اكد كل من Chattopadhyay (7)على إنإضافة 60غم/لتر من الكلوكوز كان افضل مصدرا"للكاربون مقارنة مع السكروز في إنتاج Podophyllotoxin من الخلايا المعلقة suspension culture لنبات*Podophyllumhexandrum*.تتفق هذه النتائج معFrancoise (11) الذين اشاروا الى إن استعمال 90غم/لتر من الكلوكوز في وسط زراعة الكالس اعطى اعلى كمية من Rosmarinic acid بلغ 158.26 ملغم/غم لنبات *Zataria multiflora*،ومع Chattopadhyay (6) الذين اثبتواإن الكلوكوز كان افضل مصدر للكاربون فيإنتاج PodophyllotxinباستعمالBioreactorلنبات *Podophyllum hexandrum*، ومعSchlatmann (28) الذين توصلواالى إن افضل مصدر للطاقة كان الكلوكوز في إنتاج Ajmalicine من نبات *Catharanthus roseus*.

يوضح جدول(3) والاشكال (3–أ، ب، ج، د، هـ، و) ظهور استجابة واضحة للبولي اثيلين كلايكول PEG 6000في إنتاج المركبات الفعالة، إذ اعطى التركيز 60غم/لتر اعلى كمية من المركبات عدا مركبPhyton للهجين12-GS، وقد يعود السبب الى إن البولي اثلين كلايكول PEG 6000يستعمل او يضاف الى وسط الزراعة لتحفيز الاجهاد المائي (19)، ثم يخفض نسبة النمو ويزيد نسبة البرولين الجاف إستجابة الى الاجهاد المائي (4). يعد النقص المائي او العجز المائي اكثر عاملا" محددا" لنمو النبات، مع ذلك يمكن ان يؤدي الى تجمع مركبات الايض الثانوي(20).انتجتالنباتات مجموعة كبيرة من مركبات الايض الثانوي لحمايتها من abiotic stress مثل نقص الماء (39)، وقد اكد Selmar (30) إن النباتات المعرضة لظروف الاجهاد الجفافي تكون اكثر إنتاجا" لمركبات الايض الثانوي مقارنة مع النباتات النامية تحت الظروف المثالية.يستحث الاجهاد الجفافي جذورا" حرة تسبب اكسدة اللبيدات وتدهوراً او تلفا"للاغشية في النبات وايضا" تقود الى اختلال التوازن بين مضادات الاكسدة وكمية مجاميع الاوكسجين التفاعلية (36).إن مجاميع الاوكسجين التفاعلية مهمة جدا" كاشارات داخل او ضمن الخلية البروتوبلازمية، ولكن التراكيز العالية منها يمكن إن تسبب تلفا" في مختلف مستويات التنظيم بما في ذلك الكلوروبلاست (33) وبغض النظر عن مساهمة التراكيب المورفولوجية في مقاومة الاجهاد الجفافي، فقد طورت النباتات مجموعة متنوعة من العمليات الفسيولوجية والبيوكيميائية التي تعمل مكوناتا" لتحمل الجفاف (26 و 38)، إذ يعتقد إن النبات يجمع مركبات الايض الثانوي بسرعة كبيرة عند تعرضها للإجهاد(17).

المصادر

1- الساهوكي، مدحت وكريمة محمد وهيب(1990).تطبيقات في تصميصم وتحليل التجارب. جامعة بغداد– وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ،العراق.

2- المرسومي، حيدر عماد محمد (2010). تأثير مكونات الوسط الغذائي والجزء النباتي المزروع في تكوين الكالس وإنتاج بعض المركبات ذات الاستعمالات الطبية في نبات المريمية ***Salvia officinalis***. كلية الزراعة –رسالة ماجستير– كلية لزراعة– جامعة بغداد.

3- فهمي ،فكري جلال محمد (2003).زراعة الانسجة.دار الكتب العلمية للنشر والتوزيع/جمهورية مصر العربية .

4- **Aazami, M. A.; M. Torabi and E. Jalili (2010). In vitro response of promising tomato genotypes for tolerance to osmotic stress. African Journal of Biotechnology, 9(26):4014-4017.**

5- **Akboraly, N.T; H. Faure; V. Gourlet; A. Favier and C. Berr (2007). Plasma carotenoid levels and cognitive performance in an elderly population: results of the EVA Study. J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci., 62: 308-316.**

6- **Chattopadhyay, S.; A. K. Srivastava; S. S. Bhojwani and V. S. Bisaria (2002). Production of podophyllotoxin by plant cell cultures of *Podophyllum hexandrum* in bioreactor. Journal of Bioscience and Bioengineering,93(2): 215-220.**

7- **Chattopadhyay, S.; R.S. Mehra; A.K. Seivastava; S.S. Bhojwani and V.S. Bisaria (2003). Effect of major nutrients of major nutrients on podophyllotoxin production in *Podophyllum hexandrum* suspension culture . Appl. Microbiol. Biotechnol,60:541-546.**

8- **Cisneros-Zevallos, L. (2003).The use of controlled post-harvest abiotic stresses as tool for enhancing the nutraceutical content and adding value to fresh fruits and vegetables. J. Food Sci., 68:1560-1565.**

9- **EL-Bakry, A. A.; S. M. Ghazi and H. A. Abdrabou (2011). Production of cardiac glycosides from *Calotropis procera* by cell suspension cultures. J. Applied Sci.Res.,7(9):1375-1385.**

10- **El-Naggar, H.H.; P.E. Read and S.L. Cuppett (2006). The effect of darkness and sucrose concentration on the production of rosmarinic acid in the callus of five Rosemary genotyps. J. American Society For Hort. Sci., 41. Abst. 1078.**

11- **Francoise, B.; S. Hossein; H. Halimch and N.F. Zahra (2007). Growth otimisation of *Zataria multiflora* Boiss tissue culture and rosemorinic acid production improvement. Pakistan Journal of Biotechnol. Sci., 10(19):3395-3399.**

12- **George, E.F.; M.A. Hall and G.D. Klerk (2008). Plant Propagation by Tissue Culture 3rd edition . Published by springer,pp:1-479.**

13- **Gunasekera, R. S.; K. Sewgobind; S. Desai; L. Dunn; H. Black and W. McKeehan (2007).Lycopene and lutein inhibit proliferation in rat prostate carcinoma cells. Nutr. Cancer., 58:171-177.**

14- **Hisao, G.; T. Fong; N. Tzu; K. Lin; D. Chou and J. Sheu (2004). A potent antioxidant, lycopene, affords neuroprotection against micro-glia activation and focal cerebral ischemia in rats. In Vivo.,18: 351-356.**

15- **Huang, W.L. and L.F. Liu (2002). Carbohydrate metabolism in rice during callus induction and shoot regeneration induced by osmotic stress. Bot. Bull. Acad. Sience., 43: 107-113.**

16- **Kassem, A. and A. Jacquin (2001). Somatic embryogenesis, rhizogenesis, and morphinan alkaloids production in two species of *opium poppy*. J. of Biomedicine and Biot., 1(2):70-78.**

17- **Kuc, J. (1995). Phytoalexins, stress metabolism and disease resistance in plants. Annu. Rev. Phytopathol., 33:275-297.**

18- **Kulkarni, M. and U. Deshpande (2007). In vitro screening of tomato genotypes for drought resistance using polyethylene glycol. Afr. J. Biotechnol., 5(16):1488-1493.**

19- **Larher, F.; L. Leport; M. Petrivalsky and M. Chappart (1993). Effectors for the osmoinduced proline response in higher plants. Plant Physiol. Biochem., 31(6): 911-922.**

20- **Marchese, J.; J. Ferreira; V. Rehder and O. Rodrigues (2010). Water deficit effect on the accumulation of biomass and artemisinin in annual wormwood (*Artemisia annuaL.*, Asteraceae). Braz. J. Plant Physiol.,22(1):1-9.**

21- **Misawa, M. (1985).Production of useful plant metabolites In Fietcher ,A.(EDS.), Advance in Biochemical engineering and biotechnology, springer-Verlag, Berlin. pp: 59-88.**

22- **Murashige, T. and F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant,15:473-797.**

23- **Park, S. U.; M. R. Uddian; H. Xu; Y. K. Kim and S. Y. lee. (2008). Biotechnological applications for rosmarinic acid production in plant. Afr. J. Biot.,7(25): 4954-4965.**

24- **Pohar, K. S.; M. C. Gong; R. Bahnson; E. Miller and S. Clinton (2003). Tomatoes, Lycopene and prostate cancer: a clinician's guide for counseling those at risk for prostate cancer. World J. Urol.,21:9-14.**

25- **Ramawat, K. G. (2004). Plant biotechnology. printed in India,pp:1-265.**

26- **Ren, J.; W. Dai; Z. Xuan; Y. Yao; H. Korpelainen and C. Li (2007). The effect of drought and enhanced UV-B radiation on the growth and physiological traits of two contrasting poplar species. Forest Ecol. Manage., 239: 112-119.**

27- **Riso, P.; F. Visioli; S. Grande; S. Guarnieri; C. Gardana and P. Simonetti (2006). Effect of a tomato-based drink on markers of inflammation, immunomodulation and oxidative stress. J. Agric.Food Chem., 54:2563-2566.**

28- **Schlatmann, J. E.; C. M. Koolhas; J. L. Vinke. H. J. Tenhoopen and J. J. Heijnen (1985). The role of glucose in ajmalicine production by plant cell cultures of *Catharanthus roseus* cell culture. Biotechnology and Bioengineering., 41:525-534.**

29- **Schohael, A. M.; D. Chakrabarty; M. B. Ali; K.W. Yu; E.J. Hahn; H.L. Lee and K. Y. Paek (2006). Enhancement of eleutherosides production in embryogenic culture of *Eleutherococcus sessiliflorus* in response to sucrose induced osmatic stress. Process Biochemistry, 41(3):512-518**

30- **Selmar, D. (2008). Potential of salt and drought stress to increase pharmaceutical significant secondary compounds in plants. Landbauforschung - vTI Agriculture and Forestry Research., 58 (2008), Issue 1-2:139-144.**

31- **Sharma, M.; A. Sharma; A. Kumar and S. Basu (2011). Enhancement of secondary metabolites in cultured plant cells through stress stimulus. American J. Plant Physiology., 6(2): 50-71.**

32- Shi, J. and M. Le Magier (2000). Lycopene in tomatoes: Chemical and physical properties affected by food processing. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 40(1):1-42.

33- Smirnoff, N. (1993). The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytol.,125(1): 27-58.

34- Stern, K. R.; S. Jansky and J. E. Bidlack (2003). Introductory Plant Biology. 4th .Edition, USA, 461-485.

35- Taiz and E. Zeiger (2002).Planta Physiology. Sinaure Assciates, Inc. Publishers. Sunderland.

36- Van Breusegem, F.; E. Vranov; J. Dat and D. Inz (2001). The role of active oxygen species in plant signal transduction. Plant Sci.,161:405-414.

37- Vanisree, M.; L. Chen-Yue; S.-F. Lo; S. M. Nalawade; C. Y. Lin and H.-S. Tasay (2004). Studies on the production of some important secondary metabolites from medicinal plant by plant tissue culture. Bot. Bul. Acad. Sin., 45:1-22.

38- Wang, T.; X. Zhang and C. Li (2007).Growth, abscisic acid content and carbon isotope composition in wheat cultivars grown under different soil moisture. Biol. Plant., 51:181-184.

39- Wittstock, U. and J. Ghershenzon (2002). Constitutive plant toxins and their role in defense against herbivores and pathogens. Curr. Opin. Plant. Biol., 5:1-8.

40- Yao, Z.Z. (2003). Effect of factors on callus biomass and synthetic mass of hypericin in *Hypericum perforatum*. National Library of Medicine, 18(10):921-3.

ENHANCEMENT OF SECONDARY METABOLITES IN CULTURED PLANT CELLS OF TOMATO THROUGH STRESS STIMULUS

F. M. K. Al-Dabbagh* **H. I. Mohamed**** **M. S. Hamad****

ABSTRACT

An experiment was conducted to study the effect ofsucrose, glucose, polyethylene glycol 6000in the amount of secondary metabolites extracted from the callus induced from cotyledenous leaves for bothtomato hybrids: Shorouk and GS-12. The results showed that the addition of sucrose at concentration of 60 g/l to the MS medium gave the highest value of phyton amounted to 1438.13 and 118.76 µg/gcallus dry weighof hybrids: Shorouk and GS-12, respectively, also it increased production of Lycopene and β-carotene in Shorouk callus reached 849.78 and 203.79 µg/g respectively, while the concentration 90 g/l increased the production of Lycopene and β-Carotene in callus ofGS-12 was 268.63 and 204.68 µg/g,respectively. As for the glucose, 60 g/l has given the higher amount of phyton amounted to 98.88 µg/gcallus dry weigh of Shorouk, while influenced the addition of30 g/l in the production of phyton, which amounted 585.12 µg/g for GS-12 hybrid. Adding of 90 g/l of glucose to the medium was more effect onLycopene productionreached 479.37 and 375.33 µg/gfor Shorouk and GS-12 hybrids, respectively, and the highest amount of β-Carotene reached 302.63 and 271.96 µg/g callus dry weighof both hybrids, respectively. The results indicate that the addition of 60 g/l PEG 6000 was the most influential in increasing the production of phyton, Lycopene and β-carotenein callus dry weigh of Shorouk, it was 35.41, 499.62 and 167.30 µg/g, respectively, and it stimulated the production of β-carotenein callus of GS-12which amounted to 319.24 µg/g, while MS media containing 90 g/l of PEG 6000increased the production quantity of phyton and Lycopenein callus dry weigh of GS-12 which amounted to 65.62 and 491.84 µg/g respectively.

*** Directorate of seed testing and certification-Ministry of Agric.-Baghdad, Iraq.**
****College of Agric. - Baghdad Univ.- Baghdad, Iraq.**